

PHÒNG XÉT NGHIỆM 4.0: PHÒNG XÉT NGHIỆM THÔNG MINH TRONG KỶ NGUYÊN CÔNG NGHIỆP 4.0

Nguyễn Nghiêm Luật*

TÓM TẮT

1. Công nghiệp 1.0 (1784) là kỷ nguyên của máy hơi nước, Công nghiệp 2.0 (1870) là kỷ nguyên của động cơ điện, Công nghiệp 3.0 (1969) là kỷ nguyên của tự động hóa, và Công nghiệp 4.0 (2013) là kỷ nguyên của kỹ thuật số. Y học cũng trải qua 4 cuộc cách mạng: Y học 1.0 (trước 1950) là kỷ nguyên của X quang và siêu âm, Y học 2.0 (1970) là kỷ nguyên của CT và MRI, Y học 3.0 (2013) là kỷ nguyên của internet, và Y học 4.0 (2016) là kỷ nguyên của số hóa. Phòng Xét nghiệm 4.0 là phòng xét nghiệm thông minh của kỷ nguyên Công nghiệp 4.0.

2. Các công nghệ của Công nghiệp 4.0 được áp dụng trong Phòng Xét nghiệm 4.0 gồm: số hóa hoàn toàn, tự động hóa, hệ thống người máy, internet vạn vật, môi trường làm việc linh hoạt, modul hóa, các vật liệu thông minh và bề mặt chức năng.

3. Những ưu điểm của Phòng xét nghiệm 4.0: cho kết quả chính xác hơn, nhanh hơn, làm giảm chi phí, tăng sự hài lòng của nhân viên, có tính linh hoạt và liên ngành, có tính bảo mật cao hơn.

4. Những điều cần cân nhắc khi tạo phòng thí nghiệm thông minh: phòng thí nghiệm thông minh phức tạp, khó sử dụng cho các quy trình không có cấu trúc, khó thể hiện giá trị, cần pháp lý và quản lý tài sản trí tuệ, một số kỹ thuật viên

không lành nghề ngại sử dụng công nghệ mới và cần duy trì tính toàn vẹn của dữ liệu.

5. Phòng xét nghiệm Y học 4.0 ở Việt Nam: hiện nay, những công nghệ của Công nghiệp 4.0 như số hóa, tự động hóa, người máy, ... , đã bắt đầu được áp dụng từng phần tại một số phòng xét nghiệm ở Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh.

SUMMARY

LABORATORY 4.0: THE SMART LABORATORY IN THE INDUSTRY 4.0 ERA

1. Industry 1.0 (1784) was the era of steam engines, Industry 2.0 (1870) was the era of electric motors, Industry 3.0 (1969) was the era of automation, and Industry 4.0 (2013) was the era of digital. Medicine has also undergone four revolutions: Medicine 1.0 (before 1950) was the era of radiology and ultrasound, Medicine 2.0 (1970) was the era of CT and MRI, Medicine 3.0 (2013) was the era of the internet, and Medicine 4.0 (2016) is the era of digitalization. Laboratory 4.0 is the smart laboratory of Industry 4.0 era.

2. Industry 4.0 technologies applied in Laboratory 4.0 include: full digitalization, automation, robotic systems, internet of things, a flexible, modular work environment, smart materials and functional surfaces.

3. Advantages of Laboratory 4.0: more accurate results, faster results, reduction in costs, increased employee satisfaction, flexibility and interdisciplinary, and higher security.

4. Things to consider when creating a smart laboratory: a smart laboratory is complex, challenging use for unstructured processes, difficult to show the value, legal implications and intellectual property management, some

*Hội Hóa sinh Y học Việt Nam

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nghiêm Luật

Email: luatnn@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 25.10.2020

underskilled technicians do not want to use new technologies, and need to maintain data integrity.

5. Medical Laboratory 4.0 in Vietnam: currently, Industry 4.0 technologies such as digitization, automation, robotics, ..., have been partially applied in Hanoi and Ho Chi Minh City.

Ngày nay, cuộc Cách mạng Công nghiệp 4.0 (Industrial Revolution 4.0) hay gọi tắt là Công nghiệp 4.0 (Industry 4.0) và cuộc Cách mạng Y học 4.0 (Medical Revolution 4.0) hay gọi tắt là Y học 4.0 (Medicine 4.0) đang diễn ra nhanh chóng và mạnh mẽ trên toàn thế giới. Trong bài tổng quan này, cập nhật về các ứng dụng của Công nghiệp 4.0 trong Phòng xét nghiệm Y học 4.0, việc xây dựng phòng xét nghiệm 4.0, phòng xét nghiệm 4.0 trong tương lai, cũng như phòng xét nghiệm 4.0 ở Việt Nam hiện nay sẽ được trình bày.

1. Các cuộc Cách mạng Công nghiệp, Y học và phòng Xét nghiệm Y học

Cuộc Cách mạng Công nghiệp 1.0 (Industry 1.0) diễn ra ở cuối thế kỷ 18 (1784), là kỷ nguyên của cơ khí hóa, động cơ hơi nước và máy dệt, với sự gia tăng về hiệu quả và quy mô sản xuất. Công nghiệp 2.0 (1870), là kỷ nguyên của năng lượng điện và sản xuất lớn, đã mang lại các dây chuyền lắp ráp và điện khí hóa. Công nghiệp 3.0 (1969), là kỷ nguyên của tự động hóa, máy vi tính và người máy,... cho phép nâng cao chất lượng quản lý, vận chuyển, giúp tăng năng suất, giảm chi phí. Công nghiệp 4.0 (2013), là kỷ nguyên kỹ thuật số (digital), hệ thống vật lý không gian mạng (CPS), Internet Vạn vật (IoT), Dữ liệu lớn (Big Data) và Trí tuệ nhân tạo (AI), ... [5].

Vì sự phát triển Y học dựa trên các thành tựu công nghệ của các cuộc Cách mạng Công nghiệp nên các cuộc Cách mạng Y học thường xảy ra sau. Y học 1.0 (trước 1950) là kỷ

nguyên của tia X, siêu âm, kháng sinh Penicillin. Y học 2.0 (1970) là kỷ nguyên của cộng hưởng từ (MRI), chụp cắt lớp (CT), ..., [7]. Y học 3.0 (2013), là kỷ nguyên của Internet, Hình ảnh 3D, Y học từ xa, sức khỏe điện tử (e-Health), trình tự bộ gen [4], ... Y học 4.0 (2016) là kỷ nguyên của Số hóa (Digitization), Hệ thống Vật lý Không gian mạng Y học (MCPS), Internet Vạn vật Y học (IoMT), Trí tuệ Nhân tạo (AI), Dữ liệu Y học lớn (Medical Big Data), ... [2, 3].

Phòng xét nghiệm Y học 4.0 là phòng xét nghiệm thông minh (Smart Laboratory hoặc Intelligent Laboratory) trong kỷ nguyên Công nghiệp 4.0.

2. Những áp dụng của Công nghiệp 4.0 trong Phòng xét nghiệm Y học 4.0.

Các công nghệ của Công nghiệp 4.0 được áp dụng trong Phòng Xét nghiệm 4.0 gồm: số hóa hoàn toàn, tự động hóa, hệ thống người máy, internet vạn vật, môi trường làm việc linh hoạt, modul hóa, các vật liệu thông minh và bề mặt chức năng.

2.1. Số hóa hoàn toàn (full digitalization)

Sự chuyển đổi kỹ thuật số toàn cầu đang tràn ngập toàn xã hội và ảnh hưởng đến tất cả các mặt của cuộc sống, kể cả y học. Chẩn đoán phòng xét nghiệm cung cấp cho các bác sĩ tới 70% thông tin cần thiết để xác định bệnh. Số hóa là một trong những chuyên ngành phát triển nhanh nhất trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe. Số hóa cho phép xây dựng và kiểm tra các quy trình xét nghiệm được tối ưu hóa [6].

2.2. Vai trò của tự động hóa (automation) trong phòng xét nghiệm 4.0

Tự động hóa là công nghệ mà quy trình được thực hiện với sự hỗ trợ tối thiểu của con người. Các lợi ích của tự động hóa trong phòng xét nghiệm 4.0 gồm:

- Cho kết quả chính xác hơn (more accurate results): việc nhập số liệu thủ công là nơi phần lớn các lỗi xảy ra. Hệ thống tự động là những công cụ tốt nhất để loại bỏ lỗi của con người. Bằng cách sử dụng hệ thống tự động, kỹ thuật viên có thể chuẩn bị mẫu, theo dõi từng mẫu và giảm nguy cơ mất hoặc thất lạc mẫu.

- Cho kết quả nhanh hơn (faster results): với tự động hóa, nhân viên có thể thiết lập, thực hiện và phân tích kết quả của các xét nghiệm trong một thời gian ngắn hơn. Điều này đặc biệt có liên quan với các phòng xét nghiệm phải xử lý một số lượng lớn xét nghiệm trong ngày và cần trả kết quả nhanh hơn.

- Làm giảm chi phí (reduction in costs): phòng xét nghiệm tự động có thể làm giảm số lượng kỹ thuật viên, làm được nhiều việc hơn, phát hiện sai sót nhanh hơn, tiết kiệm thời gian và tiền bạc hơn.

- Tăng sự hài lòng của nhân viên (increased employee satisfaction): nhân viên có thể làm việc một cách hiệu quả hơn, có thời gian dành cho phân tích dữ liệu, nghiên cứu kỹ thuật mới hoặc các phương pháp tiếp cận mới.

- Có tính linh hoạt và tính liên ngành (flexibility and interdisciplinary): xu hướng toàn cầu hóa đòi hỏi có sự hợp tác của nhiều cơ sở xét nghiệm trong và ngoài nước. Điều này đòi hỏi sự trao đổi thông tin và chia sẻ kết quả một cách chuẩn hóa.

2.3. Vai trò của người máy (robots) trong phòng xét nghiệm 4.0

Vai trò của người máy trong phòng xét nghiệm 4.0 gồm:

- Người máy giúp giảm tải công việc và tối ưu hóa quy trình làm việc: hàng ngàn mẫu được chuyển đến phòng xét nghiệm mỗi ngày cần được phân loại theo yêu cầu của xét

nghiệm. Để giải phóng các kỹ thuật viên khỏi công việc đơn điệu và nhàm chán này, người máy có thể giúp phân loại các mẫu máu một cách chính xác.

- Người máy tạo điều kiện đảm bảo chất lượng xét nghiệm: để tối ưu hóa quy trình làm việc, người máy được sơn màu trắng phù hợp với môi trường vô trùng, được điều khiển tự động, hoạt động đảm bảo chất lượng xét nghiệm cao.

- Băng chuyền với các hộp vận chuyển: tính năng đặc biệt của người máy là có bộ ghi dữ liệu tích hợp, không chỉ giúp theo dõi lộ trình vận chuyển của từng hộp mẫu đơn lẻ, mà còn lưu nhiệt độ bên trong hộp để đảm bảo chất lượng của mẫu.

- Người máy tự động tách các mẫu máu không đủ tiêu chuẩn: trong quá trình vận chuyển mẫu, người máy có khả năng phát hiện các mẫu không bảo đảm nhiệt độ bảo quản để báo cho xét nghiệm viên để kịp thời xử lý.

- Người máy phân loại ống nghiệm: người máy có khả năng phân loại mẫu xét nghiệm, phát hiện mẫu không đủ tiêu chuẩn và sắp xếp các mẫu đủ tiêu chuẩn để đưa vào hệ thống phân tích.

- Người máy tối ưu hóa quy trình và cải thiện nơi làm việc: người máy có thể giúp tiết kiệm thời gian, làm giảm sai sót, đơn giản hóa quy trình làm việc và đảm bảo chất lượng cao, đặc biệt là trong điều kiện thiếu hụt nhân lực có kỹ năng.

2.4. Internet vạn vật y học IoMT (Internet of Medical Things: IoMT)

- Internet Vạn vật Y học (IoMT) là một hệ sinh thái bao gồm các đối tượng vật lý được kết nối có thể truy cập thông qua internet, sử dụng các cảm biến và thiết bị truyền động thông minh để nâng cao chất lượng xét nghiệm.

- IoMT có khả năng sử dụng sức mạnh của máy móc thông minh và phân tích thời gian thực để tận dụng các dữ liệu mà máy móc cổ điển tạo ra trong nhiều năm.

- IoMT là một mạng lưới các thiết bị thông minh được kết nối để tạo thành các hệ thống giám sát, thu thập, trao đổi và phân tích dữ liệu xét nghiệm.

- IoMT có thể giúp kỹ thuật viên xác định các vấn đề tiềm ẩn trong kết quả xét nghiệm trước khi chúng trở thành vấn đề lớn, cho phép kỹ thuật viên khắc phục sự cố trước khi chúng gây bất tiện cho bệnh nhân [1].

2.5. Tính linh hoạt (flexible)

Các phòng xét nghiệm có nhiệm vụ và hoạt động khác nhau, đó là tính linh hoạt. Điều này dẫn đến yêu cầu về số hóa hoàn toàn của các phòng xét nghiệm. Các bác sĩ cộng tác trong chẩn đoán thường ở các địa điểm khác nhau, nhưng họ cần phải trao đổi dữ liệu một cách thường xuyên và theo cách được chuẩn hóa. Điều này đòi hỏi các xét nghiệm ở các phòng xét nghiệm khác nhau phải được thực hiện với các thiết bị phù hợp, được tiêu chuẩn hóa, để các kết quả có thể được chia sẻ.

2.6. Modul hóa (modular work enviroment)

Các thiết kế modul cho phép quy trình làm việc, thiết lập và quy trình linh hoạt. Cả hệ thống máy móc trong phòng xét nghiệm và nơi thực hiện xét nghiệm đều nên tự sắp xếp lại nơi làm việc theo yêu cầu. Vì vậy, khi xây dựng một dự án mới, phòng xét nghiệm có thể được cấu hình lại cho phù hợp và các thiết bị có thể được sắp xếp lại và có thể được thay đổi vị trí khi cần thiết.

2.7. Các chất liệu thông minh (smart materials)

Vật liệu thông minh với các cảm biến và thiết bị truyền động (ví dụ: làm mát) giúp có thể được giám sát bằng kỹ thuật số và điều khiển tự động liên tục, do đó đảm bảo an toàn được cải thiện khi có các quá trình nguy hiểm tiềm ẩn. Nội thất phòng xét nghiệm với các bề mặt chức năng, các dụng cụ và thiết bị tích hợp làm cho các quy trình tiêu chuẩn trở nên dễ dàng hơn, trong khi nội thất modul có thể dễ dàng được cấu hình lại để tạo chuỗi quy trình mới.

2.8. Các bề mặt chức năng (functional surfaces)

Các bề mặt chức năng với các thiết bị tích hợp như cân, máy khuấy, tấm gia nhiệt và làm mát, mang đến một bề mặt làm việc lý tưởng. Việc chuẩn bị một giải pháp được hướng dẫn, giám sát và ghi lại thông qua một giao thức kỹ thuật số, và dữ liệu sau đó được lưu trữ trong hệ thống máy vi tính phòng xét nghiệm.

3. Những ưu điểm của Phòng Xét nghiệm 4.0:

So với các phòng xét nghiệm trước đây và hiện nay, phòng Xét nghiệm 4.0 cho kết quả chính xác hơn, nhanh hơn, giảm chi phí, tăng sự hài lòng của nhân viên, có tính linh hoạt và liên ngành và có tính bảo mật cao hơn.

4. Các vấn đề cần xem xét khi xây dựng Phòng xét nghiệm 4.0

Việc xây dựng một phòng xét nghiệm 4.0 là rất cần thiết. Tuy nhiên, để xây dựng một phòng xét nghiệm 4.0 đòi hỏi nhiều yếu tố như cập nhật thiết bị khoa học, tối ưu hóa các quy trình hiện có, số hóa, thời gian, công sức, và đặc biệt là tiền của. Các phòng xét

nghiệm có thể được số hóa ở các mức độ khác nhau.

4.1. Phòng xét nghiệm 4.0 là một phức hợp

- Hệ thống quản lý dữ liệu số hóa (digital data management): việc sử dụng các công cụ phần mềm có thể giúp ghi chép, lưu trữ, phân tích, chia sẻ và quản lý dữ liệu xét nghiệm ở dạng số hóa. Các giải pháp phần mềm được sử dụng trong số hóa là Sổ Ghi chép Phòng xét nghiệm Điện tử (Electronic Laboratory Notebook: ELN), Hệ thống Quản lý Thông tin Phòng xét nghiệm (Laboratory Information Management System: LIMS), Hệ thống Thông tin Phòng xét nghiệm (Laboratory Information System: LIS), Hệ thống Quản lý Dữ liệu Phòng xét nghiệm (Laboratory Data Management System: LDMS), Hệ thống Quản lý Tài liệu (Document Management Systems: DMS), ...

- Hệ thống tích hợp dữ liệu (Integration of data): mục tiêu của tích hợp dữ liệu là kết nối các thiết bị phòng xét nghiệm với mạng. Sự tích hợp số liệu có thể được thực hiện bằng cách sử dụng giao diện lập trình ứng dụng (Application Programming Interface: API), là phương thức kết nối dữ liệu phòng xét nghiệm với các bác sĩ và bệnh nhân. Số hóa có thể giúp ngăn ngừa sai sót trong quá trình truyền dữ liệu, cải thiện độ nhất quán của dữ liệu và làm giảm thời gian truyền dữ liệu.

- Hệ thống tự động hóa (automation): tự động hóa là mức độ tiếp theo của số hóa và mang lại giá trị cao nhất cho phòng xét nghiệm. Vai trò của tự động hóa là loại bỏ sự tương tác của con người trong quá trình xét nghiệm và cho phép kiểm soát lỗi ở mức rất cao. Hiện nay, việc sử dụng tự động hóa

thường là tự động hóa một phần.

- Hệ thống ngoài tự động hóa (beyond automation): một khía cạnh khác của tự động hóa là khả năng kiểm soát chất lượng, ra quyết định, báo cáo, phân tích và dự đoán xu hướng hoặc tạo ra các giả thuyết khoa học với sự tham gia của trí tuệ nhân tạo (artificial intelligence: AI). Trí tuệ nhân tạo làm giảm thời gian phân tích kết quả xét nghiệm, giúp nhân viên dành thời gian cho các lĩnh vực khác có giá trị lớn hơn.

4.2. Những thách thức về sử dụng các quy trình phi cấu trúc

Chiến lược được áp dụng công nghệ 4.0 trong phòng xét nghiệm là số hóa các quy trình theo nhiều bước. Trước tiên là cài đặt Sổ ghi chép phòng xét nghiệm điện tử (ELN) cho phòng xét nghiệm. Các nhân viên cần được đào tạo về các quy trình phòng thí nghiệm, đồng bộ hóa các kỹ thuật và giao thức. ELN giải quyết điều này bằng cách cung cấp một kho lưu trữ dữ liệu duy nhất các quy trình phân tích, các kết quả xét nghiệm, các mẫu và các dữ liệu bệnh nhân.

4.3. Khó thể hiện giá trị

Việc xây dựng một phòng xét nghiệm 4.0 có thể cần một khoản đầu tư tài chính đáng kể. Các công nghệ phòng xét nghiệm thông minh khó có thể được đánh giá trong thời gian ngắn. Giá trị thực của một phòng xét nghiệm thông minh chỉ có thể được thấy sau khi số hóa hoàn toàn và cần được đánh giá ở nhiều mức độ.

4.4. Ý nghĩa pháp lý và quản lý tài sản trí tuệ

Việc số hóa các quy trình xét nghiệm có thể làm giảm lỗi của con người. Việc áp dụng các công nghệ của công nghiệp 4.0 đòi

hỏi các nhà quản lý phát triển khung pháp lý để đảm bảo phần mềm có chất lượng cao nhất và khẳng định giá trị khoa học của công nghệ mới bằng các nghiên cứu khoa học và các bằng sáng chế.

4.5. Vấn đề về nhân lực

Việc triển khai các công nghệ mới vào quy trình xét nghiệm đòi hỏi nhân viên phải thường xuyên học tập, trau dồi chuyên môn. Một số nhân viên không muốn thay đổi thói quen cũ, ngại học tập, ngại sử dụng công nghệ mới, có nguy cơ mất việc.

4.6. Sự bảo toàn dữ liệu

Khi tất cả các thiết bị được kết nối với internet và được điều khiển từ xa, cần thiết lập hệ thống bảo toàn dữ liệu, ngăn chặn sự truy cập trái phép và lấy cắp dữ liệu.

5. Phòng xét nghiệm 4.0 ở Việt Nam hiện nay.

Phòng xét nghiệm Y học 4.0 ở Việt Nam: hiện nay, những công nghệ của Công nghiệp 4.0 như số hóa, tự động hóa, người máy, ... , đã bắt đầu được ứng dụng từng phần tại một số phòng xét nghiệm ở Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh.

KẾT LUẬN

Phòng Xét nghiệm 4.0 là phòng xét nghiệm thông minh của kỷ nguyên Công nghiệp 4.0. Các công nghệ của Công nghiệp 4.0 được áp dụng trong Phòng Xét nghiệm 4.0 gồm: số hóa hoàn toàn, tự động hóa, hệ thống người máy, internet vạn vật, môi trường làm việc linh hoạt, modul hóa, ... Những ưu điểm của Phòng thí nghiệm 4.0 là: chính xác hơn, nhanh hơn, giảm chi phí, tăng

sự hài lòng của nhân viên, có tính linh hoạt và liên ngành, tính bảo mật cao hơn. Một số điều cần cân nhắc khi xây dựng một Phòng xét nghiệm 4.0 là: phòng thí nghiệm 4.0 phức tạp, khó sử dụng cho các quy trình phi cấu trúc, khó thể hiện giá trị, cần tác động pháp lý và quản lý tài sản trí tuệ, ngại sử dụng, và cần duy trì tính toàn vẹn của dữ liệu. Phòng xét nghiệm 4.0 ở Việt Nam: một số công nghệ của Công nghiệp 4.0 đã bắt đầu được ứng dụng từng phần ở Hà Nội và thành phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Adhav D, Pagar R, Sonawane R, Tawade S.** Smart Laboratory. *Int J Trend Sci Res Dev* 2019 Apr; 3(3): 504-509.
2. **Davenport T and Kalakota R.** The potential for artificial intelligence in healthcare. *Future Healthcare Journal* 2019; 6(2), 94-98.
3. **Javaid M and Haleem A.** Industry 4.0 applications in medical field: A brief review. *Curr Med Res Prac* 2019 Apr; 9(3): 102-109.
4. **Labuda N, Lepa T, Labuda M and Kozak K.** Medical 4.0: Medical Data Ready for Deep and Machine Learning. *J Bioanal Biomed* 2017; 9(6): 283-287.
5. **Lasi H, Kemper HG, Fettke P, Feld T, Hoffmann M.** Industry 4.0. *Bus Inf Syst Eng* 2014; 6: 239-242.
6. **Tao F, Cheng J, Qi Q, Zhang M, Zhang H, Sui F.** Digital twin-driven product design, manufacturing and service with big data. *Int J Adv Manuf Technol* 2018; 94: 3563-3576.
7. **Wolf B and Scholze C.** "Medicine 4.0". The role of electronics, information technology and microsystems in modern medicine. *Current Directions in Biomedical Engineering* 2017; 3(2): 183-186.

VAI TRÒ HỖ TRỢ LÂM SÀNG CỦA PHÒNG XÉT NGHIỆM

Hoàng Thị Bích Ngọc*

TÓM TẮT

Lĩnh vực chăm sóc sức khỏe toàn cầu ngày nay thay đổi với tốc độ đáng kể. Cốt lõi của sự thay đổi trong lĩnh vực chăm sóc sức khỏe là mục tiêu lấy "bệnh nhân làm trung tâm". Làm thế nào để tối ưu hóa việc chăm sóc lâm sàng của bệnh nhân và câu hỏi đặt ra là hệ thống phòng thí nghiệm đã và sẽ làm gì, khi 70% các quyết định lâm sàng được đưa ra dựa trên kết quả và phân tích của phòng xét nghiệm.

Với sự tiến bộ của khoa học kỹ thuật nói chung, ngành xét nghiệm hóa sinh lâm sàng và kỹ thuật sinh học phân tử đã giải quyết được nhiều nội dung công việc trong việc chẩn đoán và điều trị người bệnh.

Trong lĩnh vực các bệnh không lây nhiễm, các phòng xét nghiệm hóa sinh lâm sàng và sinh học phân tử đã giúp các nhà lâm sàng về các khía cạnh tiên đoán bệnh, chẩn đoán sớm, chẩn đoán xác định, chẩn đoán phân tầng chi tiết để các nhà lâm sàng định hướng điều trị. Trong quá trình điều trị các phòng xét nghiệm cung cấp các thông tin để theo dõi, tiên lượng và đánh giá kết quả điều trị.

SUMMARY

THE LABORATORY ROLE IN CLINICAL SUPPORT

Nowadays global healthcare is changing rapidly. The core of the change is "patient

centricity". How to optimize the clinical care for the patient? And the question is what the laboratory system did and will do while 70% clinical decisions are based on the laboratory analysis and results.

With the innovation of the general science and technology, the clinical biochemistry and molecular biology technology have solved many tasks in patient diagnostics and treatment.

To the non-infectious diseases, the laboratories of clinical biochemistry and molecular biology help the clinicians with prognosis, early detection, determined diagnosis, stratification diagnosis to the right treatment direction. During the treatment, the laboratories provide the further information to monitor, prognosis and evaluate the treatment outcome.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lĩnh vực chăm sóc sức khỏe trên toàn cầu nói chung thay đổi liên tục do tình hình dịch tễ bệnh, do dân số già đi, do bệnh lý mạn tính gia tăng, do kỳ vọng của bệnh nhân với dịch vụ chăm sóc sức khỏe ngày càng cao, do xu hướng phòng bệnh được nâng cao, do sự bùng nổ của công nghệ thông tin (Ví dụ như ở Việt Nam, thông tư 46/2018/TT-BYT của BYT Việt Nam về quy định về hồ sơ bệnh án điện tử từ ngày 1/3/2019) và cuối cùng là áp lực thắt chặt chi phí. Cốt lõi của những thay đổi đó là lấy bệnh nhân làm trung tâm. Mục tiêu của ngành y tế toàn cầu nói chung và Việt Nam nói riêng là làm sao tối ưu để ưu hóa việc chăm sóc lâm sàng cho bệnh nhân. Vậy câu hỏi đặt ra là hệ thống xét

*Hội Hóa sinh Y học Việt Nam

Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Thị Bích Ngọc

Email: hoanbichngoc.hs@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 25.10.2020

nghiệm giữ vai trò như thế nào trong sứ mệnh này?

Thực tế trong nghiên cứu khảo sát hơn 72000 bệnh nhân, cho thấy nhìn chung 35% tổng số bệnh nhân thực hiện ít nhất một xét nghiệm, đặc biệt là bệnh nhân nội trú, 98% cần phải thực hiện xét nghiệm. Vì vậy, để đạt mục tiêu tối ưu hóa chăm sóc cho bệnh nhân, bên cạnh lâm sàng, phải kể đến là vai trò then chốt của xét nghiệm trong việc hỗ trợ tầm soát, chẩn đoán, và theo dõi điều trị cho bệnh nhân. IFCC Task Force 2015 cũng đã đưa ra nhận định rằng: Tầm nhìn tương lai của y học xét nghiệm nhằm tối ưu hóa hỗ trợ chăm sóc bệnh nhân, tăng cường sự an toàn trong chăm sóc và cải thiện hiệu quả điều trị. Vì vậy không thể tách rời vai trò thiết yếu của hệ thống xét nghiệm trong chăm sóc lâm sàng. Hơn hết, chúng ta đều biết rằng, 70% quyết định của lâm sàng dựa vào kết quả và phân tích của phòng xét nghiệm (XN). Chính vì vậy, để thực hiện tốt nhất việc tối ưu hóa chăm sóc bệnh nhân, hệ thống phòng XN phải đảm bảo các kết quả xét nghiệm phải thật chính xác và có sự kết nối chặt chẽ với lâm sàng.

Phòng XN đã hỗ trợ lâm sàng được những gì? (Trong nội dung bài này tôi chỉ xin đề cập giới hạn đến vai trò của các xét nghiệm hóa sinh và sinh học phân tử đối với các bệnh không lây nhiễm.)

Đối với các bệnh không lây nhiễm, các xét nghiệm hóa sinh và sinh học phân tử có thể đóng góp vào việc dự báo bệnh lý, chẩn đoán sớm, chẩn đoán xác định, chẩn đoán phân tầng dưới nhóm...

II. VỀ HỖ TRỢ DỰ BÁO BỆNH LÝ

Một số xét nghiệm hóa sinh có thể hỗ trợ

cho việc dự báo bệnh lý như bệnh ung thư dạ dày, bệnh tim mạch...

2.1. Ung thư dạ dày

Ung thư dạ dày là một trong những ung thư thường gặp trên thế giới và tại Việt Nam. Theo GLOBOCAN 2018, tại Việt Nam, tỉ lệ mắc và tử vong do ung thư dạ dày đứng hàng thứ 4. Các yếu tố nguy cơ của K dạ dày: H. Pylori, thuốc lá và rượu, chế độ ăn (mặn, đồ chiên nướng, không rau và trái cây, thiếu vitamin A,C), viêm dạ dày mạn thể teo, di truyền

Viêm teo dạ dày (atrophic gastritis) và chuyển sản ruột (intestinal metaplasia) là các tổn thương tiền ung thư (precancerous lesions) của K dạ dày,

Sự giảm mức độ pepsinogen I (PGI) huyết thanh và tỷ lệ PGI/PGII có thể được sử dụng để đánh giá nguy cơ và phát hiện sớm viêm teo và ung thư dạ dày. Kết hợp giữa chẩn đoán H.Pylori và xét nghiệm PGI, tỉ lệ PGI/PGII giúp đánh giá rất tốt nguy cơ mắc ung thư dạ dày.

2.2 Bệnh tim mạch

Theo thống kê của tổ chức y tế thế giới năm 2015, trên toàn cầu có 422.7 triệu người mắc bệnh tim mạch (CVD), 17.7 trường hợp tử vong do CVD/năm, chiếm 31% tổng tử vong do mọi nguyên nhân trên toàn cầu. Tuy nhiên, 80% bệnh lý tim mạch có thể phòng ngừa được bằng cách kiểm soát yếu tố nguy cơ. Vì vậy, việc đánh giá sớm nguy cơ bệnh tim mạch của các cá thể là rất quan trọng.

Đối với những cá thể có nguy cơ tim mạch cao như tiền sử gia đình mắc bệnh lý tim mạch, tăng lipid máu có tính chất gia đình hay tiền sử tăng huyết áp (THA), đái tháo đường (ĐTĐ, rối loạn lipid máu (RLLM), hiện tại có nhiều công cụ khác

nhau nhằm đánh giá các biến cố tim mạch hay tử vong trong 10 năm. Tuy nhiên vẫn chưa có một chỉ số nào đặc hiệu để đánh giá biến cố liên quan đến cơ tim. Hiện tại đã có một số thang điểm sau đây: (1) Framingham 2008 – Tuổi, giới, tiền sử hút thuốc, Cholesterol toàn phần, HDL, huyết áp tâm thu, ĐTD, điều trị THA. (2) SCORE, ACC/AHA – Đánh giá dựa trên nhiều yếu tố tương tự (3) Lipid profile – Cholesterol, HDL, LDL. (4) hsCRP – High-sensitive C-Reactive (5) hsTnI

hsTnI được coi là công cụ mới dự đoán nguy cơ bệnh lý, biến cố tim mạch tương lai. Đã có một số công trình nghiên cứu chứng minh hiệu quả của hsTnI trong phân tầng nguy cơ biến cố tim mạch trong tương lai với hơn 130,000 đối tượng nghiên cứu, được theo dõi dài hạn trong nhiều năm, Nhiều kết quả nghiên cứu tin cậy mới công bố năm 2018, 2019 cho thấy hsTnI có thể trở thành marker giúp dự đoán biến cố tim mạch trong tương lai vì:

- hsTnI đặc hiệu cho tim hơn những công cụ truyền thống: là marker đặc hiệu tiết ra từ tế bào cơ tim khi stress,

- hsTnI có thể đo được trên dân số hoàn toàn không có triệu chứng vì hsTnI đo được ngưỡng Troponin chính xác ở nồng độ rất thấp trên những người bình thường vì thế nó là công cụ phân tầng nguy cơ.

- Mặt khác, hsTnI giúp phòng cấp cứu loại trừ chính xác nhồi máu cơ tim (NMCT) ngay tại thời điểm nhập viện chỉ với 1 lần xét nghiệm: (Loại trừ ở ngưỡng phát hiện 2 pg/ml với Giá trị tiên đoán âm lên tới: 100%. Loại trừ ở ngưỡng cắt lâm sàng 5 pg/ml với Giá trị tiên đoán âm: 99.6%

III. VỀ CHẨN ĐOÁN SỚM

Ung thư gan (HCC). Tỷ lệ mắc HCC ở Việt nam rất cao so với khu vực và thế giới. Để phát hiện sớm ung thư gan, hiện tại có nhiều khuyến cáo thực hiện các xét nghiệm như sau: (1) Hiệp hội Nghiên cứu bệnh Gan Hoa kỳ - American Association for the Study of Liver Diseases (AASLD): siêu âm (6 tháng); (2)- Hiệp hội Nghiên cứu bệnh Gan châu Âu - European Association for the Study of the Liver (EASL): Siêu âm (6 tháng); (3) Mạng lưới ung thư toàn diện quốc gia - National Comprehensive Cancer Network (NCCN): siêu âm + AFP (6-12 tháng); (4) Hiệp hội Nghiên cứu Gan Châu Á Thái Bình Dương - Asian Pacific Association for the Study of the Liver (APASL): Siêu âm + AFP + DCP (6 tháng hoặc thường xuyên hơn); (5) Hiệp hội gan mật Nhật Bản - Japan Society of Hepatology (JSH) : Siêu âm + AFP, AFP-L3, DCP (3-6 tháng)

DCP (Des-gamma carboxyprothrombin) tên gọi khác là protein induced by vitamin K absence/antagonist-II (**PIVKA-II**), là một protein đông máu bất thường, prothrombin. Bình thường, tiền chất của prothrombin sẽ trải qua quá trình (thêm một nhóm carboxylic acid) bởi gamma-glutamyl carboxylase tại gan trước khi đi vào huyết tương. DCP/PIVKA-II có thể xảy ra ở người thiếu vitamin K (do suy dinh dưỡng hoặc rối loạn tiêu hóa) và dùng waffarin hoặc các dược phẩm khác ức chế hoạt động của vitamin K. PIVKA-II được xem là một marker chẩn đoán ung thư tế bào gan vì: Nồng độ PIVKA-II gia tăng đáng kể trong

HCC (theo Lieberman, H.A. et al. Nồng độ PIVKA-II có giá trị độc lập với nồng độ AFP, (PIVKA-II không có mối tương quan với AFP), nồng độ PIVKA-II thay đổi theo kích thước khối u.

Kết hợp AFP+ PIVKA II cải thiện độ chính xác chẩn đoán với AUROC lên đến 0,902, đặc biệt phân biệt ở bệnh nhân xơ gan. AFP và PIVKA-II hỗ trợ chẩn đoán sớm và tiên lượng xâm lấn vi mạch máu trong HCC.

- PIVKA-II với độ nhạy 77%, đặc hiệu 82% trong chẩn đoán sớm HCC (ngưỡng cắt 42 mAU/mL)

- PIVKA-II >90 mAU/mL là yếu tố tiên lượng độc lập cho xâm lấn vi mạch máu

- PIVKA-II kết hợp AFP giúp tăng độ nhạy (70% lên 87%), và độ đặc hiệu (63% lên 90%) trong chẩn đoán xâm lấn vi mạch máu.

AFP-L3 là một đồng đẳng (Isoform) của AFP. Có ba dạng AFP được phân biệt bởi mức độ fucosyl hóa (fucosylation) của chuỗi đường gắn với N-acetylglucosamine. Các dạng này có khả năng gắn vào Lens culinaris agglutinin (LCA) với các ái lực khác nhau. AFP-L1 là loại không gắn LCA, là dạng chủ yếu được thấy ở những người bị bệnh gan lành tính như viêm gan B mạn hoặc xơ gan. AFP-L2 là có khả năng gắn LCA với ái lực vừa và là dạng chủ yếu được sản xuất bởi các khối u túi noãn hoàng. AFP-L3 được sản xuất bởi các tế bào gan ác tính, gắn vào LCA với ái lực cao và là dạng chủ yếu được thấy ở các bệnh nhân bị HCC. AFP-L3 được ghi nhận là tỉ lệ phần trăm của AFP-L3 so với tổng mức AFP. Giá trị cắt của AFP-L3 được xác định là 10% thì xét nghiệm có độ nhạy

56% và độ đặc hiệu 90% trong phát hiện HCC. Người có giá trị AFP-L3 cao hơn 10% thì tăng gấp 7 lần nguy cơ xuất hiện HCC trong vòng 21 tháng. Kết hợp AFP và PIVKAII

GALAD là một mô hình toán thống kê được sử dụng để đánh giá sự có mặt của HCC. GALAD được tính toán dựa trên 5 thông số, gồm ba dấu ấn khối u AFP, AFP-L3 và DCP cộng thêm với giới tính (Gender) và tuổi (Age), sử dụng phương trình: $Z = -10,08 + 0,09 \times \text{Tuổi} + 1,67 \times \text{Giới tính} + 2,34 \log_{10}(\text{AFP}) + 0,04 \times \text{AFP-L3} + 1,33 \times \log_{10}(\text{DCP})$,

Ở đây giới tính nam = 1 và giới tính nữ = 0. Lấy số mũ (exponential) của yếu tố dự báo tuyến tính (Z), dự đoán HCC $\text{Pr}(\text{HCC})$ ở bệnh nhân (xếp từ 0 đến 1) được đánh giá bằng phương trình: $\text{Pr}(\text{HCC}) = \exp(Z) / (1 + \exp[Z])$.

Khi sử dụng GALAD, các nghiên cứu ở Anh Quốc, Nhật, Đức đều cho thấy giá trị đường cong ROC của GALAD cao hơn một cách có ý nghĩa so với của các dấu ấn AFP, AFP-L3 và DCP trong HCC nói chung

Sinh thiết lỏng (Liquid biopsy)

Sinh thiết lỏng là một xét nghiệm ít xâm lấn có thể ứng dụng làm dấu ấn sinh học và tiên lượng trong HCC là các tế bào khối u lưu hành (CTCs), (ctDNA), do các tế bào khối u tiết ra lưu hành trong máu, các miRNA, mRNA phiên mã ngược cho Telomerase (hTERT-mRNA).

CTCs và ct DNA là những yếu tố cần thiết và được nhiều người cho là nền tảng của sinh thiết lỏng. Các phân tử này được giải phóng từ các tế bào HCC. Chúng chứa

các khiếm khuyết di truyền giống với các tế bào khối u ban đầu, chúng được coi là “hạt giống” của khối u và có thể dẫn đến một đợt di căn mới gây tử vong.

Các microRNA (miRNA),

Các microRNA (miRNA), là RNA nhỏ, không mã hóa, tham gia và điều hòa sự phát triển và tiến triển của HCC. Người ta đã định danh được các miRNA và xác định sự tăng giảm biểu hiện của chúng liên quan đến sự tăng sinh, apoptosis, xâm lấn, di căn, chuyển tiếp biểu mô-trung mô (EMT), hình thành mạch, kháng thuốc và tiến triển của HCC. Ngoài ra, một số miRNA cũng có thể là dấu hiệu chẩn đoán và dự đoán tiềm năng trong HCC. Một số miRNA cũng có thể là dấu hiệu chẩn đoán và dự đoán tiềm năng trong HCC.

Một số miRNA trong tuần hoàn có liên quan đến viêm nội mạch và kích hoạt tiểu cầu, được coi như biomarker chẩn đoán tim mạch, đặc biệt là động mạch vành như miRNA 126, miRNA 122, miRNA 223. Sự giảm miRNA 122,126 trong máu xuất hiện 2-3 ngày trước nhồi máu cơ tim và đột quỵ

hTERT- mRNA (RNA thông tin phiên mã ngược cho Telomerase)

Telomerase là một enzyme phiên mã ngược mang phân tử RNA của chính nó (ví dụ, với trình tự 3'-CCCAAUCCC-5' được sử dụng làm khuôn khi nó kéo dài telomere. Telomerase hoạt động trong các giao tử và hầu hết các tế bào ung thư, nhưng bình thường không có hoặc ở mức độ rất thấp. hTERT mRNA như một chất chỉ điểm khối u tiềm năng cho tế bào gan. Bằng kỹ thuật RT-PCR, nghiên cứu của El-Mazny và cộng sự

(2014), với giá trị cắt là (>144 copy/ml), xét nghiệm hTERT mRNA cao hơn điểm giới hạn (> 144 bản sao/ml) ở 27 bệnh nhân HCC với độ nhạy 77,14% và độ đặc hiệu là 100% và với giá trị dự đoán dương tính (PPV) là 100% và giá trị dự đoán âm tính (NPV) 65,2%, trong khi AFP cao hơn ngưỡng giới hạn (> 50 ng/ml) ở 23 bệnh nhân HCC với độ nhạy 65,71% và độ đặc hiệu là 96% và với PPV là 96,3% và NPV là 53,8%. Nghiên cứu cũng cho thấy mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa kích thước của khối u với AFP và hTERT ở bệnh nhân HCC nhưng rõ rệt hơn với hTERT. Như vậy hTERT mRNA trong huyết thanh nhạy và đặc hiệu hơn AFP trong việc phát hiện sớm HCC và mức độ của nó tương quan với kích thước của khối u.

IV. VỀ CHẨN ĐOÁN XÁC ĐỊNH VÀ PHÂN NHÓM.

Trong các bệnh lý khối u các xét nghiệm về hình thái học: X quang, MRI, CT scan, PET CT, xạ hình xương, các xét nghiệm mô học, hóa mô miễn dịch các xét nghiệm về hóa sinh: các dấu ấn sinh học giúp việc chẩn đoán xác định. Thí dụ trong ung thư phổi chẳng hạn, các dấu ấn ung thư CEA: Carcino Embryonic Antigen, CYFRA 21.1: Cytokeratin-19 Fragments, SCC: Squamous Cell Carcinoma Antigen, ProGRP: Prograstin Releasing Peptide, NSE: Neuron Specific Enolase. Trong đó **CYFRA 21.1** và **ProGRP** đã có thể tách biệt được ung thư phổi tế bào nhỏ và không tế bào nhỏ. Tuy nhiên để việc điều trị có hiệu quả với biện pháp dùng thuốc chống đích thì cần phải tách

biệt cụ thể hơn nữa. Các xét nghiệm sinh học phân tử tìm các loại đột biến để hướng tới cách điều trị chính xác, thích hợp hơn phù hợp với xu hướng phát triển của y học là tiến tới điều trị cá thể hóa và điều trị chính xác. Ví dụ với ung thư tế bào tuyến không vảy có đột biến EGFR (+) và với kỹ thuật hóa mô miễn dịch với test ALK (+) thì giai đoạn sớm điều trị Gefinitib và Erlotinib có hiệu quả. Nhưng nếu EGFR (-) test ALK (-) thì buộc phải điều trị hóa chất (Chemotherapy)

V. VỀ THEO DÕI ĐIỀU TRỊ ĐẠT TỚI LIỆU PHÁP ĐIỀU TRỊ CHÍNH XÁC

Trong quá trình điều trị ung thư cùng với việc theo dõi các tác dụng không mong muốn của các thuốc chống đích, cần theo dõi và phát hiện hiện tượng kháng thuốc do các tế bào ung thư thêm các đột biến mới như đột biến ROS1, đột biến RET và các đột biến thứ cấp của EGFR, đột biến thứ cấp của ALK hoặc phát hiện các oncogen mới. Các xét nghiệm sinh học phân tử giúp giải quyết các vấn đề này. Biện pháp cuối cùng hiện nay là liệu pháp miễn dịch

Liệu pháp miễn dịch là liệu pháp mang tính đột phá hiện nay, giải phóng “sự kìm hãm” hệ miễn dịch và giúp tế bào của cơ thể (các lympho T) nhận ra và tấn công các tế bào ung thư. Các loại thuốc miễn dịch chủ yếu hiện nay là kháng thể đơn dòng, chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch và vacin ung thư. Điều trị theo cơ chế dùng chất ức chế điểm kiểm soát miễn dịch PD-1 và PDL-1

Protein lập trình chết tế bào 1, (PD-1), là một loại protein trên bề mặt tế bào lympho T có vai trò điều chỉnh phản ứng của hệ thống

miễn dịch đối với các tế bào của cơ thể người, nhưng nó cũng có thể ngăn hệ thống miễn dịch tiêu diệt tế bào ung thư. Khi PD-1 của tế bào T lympho liên kết với protein lập trình chết của tế bào ung thư PDL-1 của tế bào ung thư thì lympho T không nhận diện và tấn công ung thư. Một số kháng thể đơn dòng (anti PD-1) ức chế PD1 giúp nhận diện ung thư như là tế bào lạ để tấn công. Pembrolizumab phong bế thụ thể PD-1 trên tế bào ngăn cản gắn kết giữa PD-L1 của tế bào ung thư và PD-1 trên lympho T, đáp ứng miễn dịch hoạt động tế bào ung thư sẽ bị tiêu diệt bằng cơ chế miễn dịch.

Trong quá trình điều trị các bệnh mạch vành thường dùng các thuốc chống đông máu, thí dụ Waffarin được sử dụng rộng rãi, thuốc này có cửa sổ rất hẹp. Tại Mỹ trong hơn 2 triệu bệnh nhân dùng Waffarin đơn độc lần đầu tiên, có khoảng 20% trong số đó phải nhập viện trong 6 tháng đầu vì chảy máu. Waffarin được chuyển hóa bởi CYP2P9. Ở những người có biến thể đa hình gen CYP2P9*2 và CYP2P9*3 chuyển hóa Waffarin kém gây sự ứ đọng trong cơ thể và hậu quả là chảy máu. Cơ chế tác dụng của Waffarin là làm giảm tổng hợp Vitamin K thông qua việc ức chế enzyme Vitamin K epoxid reductase (VKORC1). Bệnh nhân nào có sự biến đổi gen VKORC1 cần dùng liều Waffarin giảm 25%.

VI. KẾT LUẬN

70% quyết định lâm sàng dựa vào kết quả xét nghiệm, Xét nghiệm giúp dự báo bệnh, chẩn đoán sớm, chẩn đoán xác định, chẩn đoán phân tầng, theo dõi điều trị xác định

các diễn biến có thể xảy ra cấp thời.

Nâng cao chất lượng xét nghiệm làm chỗ dựa chắc chắn cho các nhận định của các nhà lâm sàng.

Trong thời đại công nghệ 4.0 với Trí tuệ Nhân tạo (Artificial Intelligence: AI), việc phân tích các dữ liệu y học lớn (medical big data) Phòng xét nghiệm sẽ có điều kiện hỗ trợ quản lý sức khỏe cộng đồng tốt hơn với tiêu chí hợp nhất cho mọi điều tốt đẹp hơn (UNIVANTS of healthcare excellence)

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Andy Ngo, Paras Gandhi, W Greg Miller** 2017, Frequency that Laboratory Tests Influence Medical Decisions; The Journal of Applied Laboratory Medicine, Volume 1, Issue 4, 1 January 2017, Pages 410-, 414
<https://doi.org/10.1373/jalm.2016.021634>
2. **Amal Abou El-Fadle, Naglaa Fathy Al Hussein, Adel F. Al-Kholy, Omnia Al-Said, Naglaa Al-Toukhy and M. Magdi Atta** (2011); Telomerase Reverse Transcriptase Gene Expression as a Tumor Marker for Hepatocellular Carcinoma; American Journal of Biochemistry and Biotechnology 7 (2): 55-62, 2011
3. **El-Mazny, A., et al. (2014).** "Human telomerase reverse transcriptase messenger RNA (TERT mRNA) as a tumour marker for early detection of hepatocellular carcinoma." Arab Journal of Gastroenterology 15(2): 68-71. DOI: 10.1016/j.ajg.2014.04.001
4. **Ertle, JM; Heider, D; Wichert, M; Keller, B; Kueper, R; Hilgard, P; Gerken, G; Schlaak, JF (2013).** "A combination of α -fetoprotein and des- γ -carboxy prothrombin is superior in detection of hepatocellular carcinoma". Digestion. 87(2):121-31. doi:10.1159/000346080. PMID 23406785
5. **Jong Young Choi, Seung Won Jung, Hee Yeon Kim, Myungshin Kim, Yonggoo Kim, Dong Goo Kim, and Eun-Jee Oh (2013);** Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP ; World J Gastroenterol 2013 Jan 21; 19(3): 339–346; Published online 2013 Jan 21. doi: 10.3748/wjg.v19.i3.339
6. **Ju Dong Yang, Benyam D et all (2019).** "GALAD score for hepatocellular carcinoma detection in comparison with liver ultrasound and proposal of GALADUS score." Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers 28(3): 531-538. DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-18-0281 Published March 2019
7. **Jun Ji, Hao Wang, Yan Li, Lei Zheng, Yuepeng Yin, Zhenzhen Zou, Feiguo Zhou, Weiping Zhou, Feng Shen, Chunfang Gao (2016)** Diagnostic Evaluation of Des-Gamma-Carboxy Prothrombin versus α -Fetoprotein for Hepatitis B Virus-Related Hepatocellular Carcinoma in China: A Large-Scale, Multicentre Study; Published online 2016 Apr 12. doi: 10.1371/journal.pone.0153227. PMC ID: PMC4829182; PMID: 27070780.

SÀNG LỌC, PHÁT HIỆN SỚM VÀ CHẨN ĐOÁN UNG THƯ GAN

Hoàng Văn Sơn*

TÓM TẮT

Trong những năm gần đây, nhiều chỉ dấu mới đã được công bố, nhằm sàng lọc, phát hiện sớm và chẩn đoán ung thư tế bào gan, góp phần nâng cao hiệu quả điều trị, kéo dài thời gian sống của bệnh nhân. AFP huyết thanh có giá trị và sử dụng nhiều nhất, kết hợp định lượng AFP với chẩn đoán hình ảnh có thể sàng lọc, phát hiện sớm ung thư gan ở những nhóm nguy cơ cao. Các chỉ dấu AFP-L3, DCP, GPC-3 có nhiều giá trị. Sinh thiết lỏng dùng kỹ thuật phân tử xét nghiệm tế bào ung thư lưu hành, ADN, acid nucleic do tế bào ung thư tiết ra, lưu hành trong máu hứa hẹn nhiều trong phát hiện sớm và chẩn đoán ung thư gan.

SUMMARY

SCREENING, EARLY DETECTION AND DIAGNOSIS OF LIVER CANCER

In recent years, many new tumor markers have been published in the effort of screening, early detection and diagnosis of liver cancer, contributing to the improvement of the treatment and longer survivals of the patients. The AFP in serum proved to be the most valuable and widely used, the combination of determination of AFP and imaging might screen and early detect hepatoma in high risk groups. Besides, AFP-L3, DCP and GPC-3 have high value. Liquid biopsy using molecular techniques for the

determinations of circulating tumor cells, DNA and nucleic acids secreted by tumor cells in blood has good promise in the early detection and diagnosis of liver cancer.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư gan gồm ung thư tế bào gan (hepatocellular carcinoma, hepatoma) chiếm trên 90%, và ung thư đường mật trong gan (cholangiocarcinoma, cholangiom) chỉ chiếm 5-7%. Ung thư gan là một trong các loại ung thư phổ biến trên thế giới và ở Việt Nam (đứng thứ ba về tỷ lệ mắc bệnh, sau ung thư phổi, dạ dày). Theo Hội ung thư Hoa Kỳ (ACS), khi chẩn đoán sớm, tỷ lệ sống thêm trên 5 năm là trên 50% tới trên 70%. Từ thế kỷ 21, trên thế giới đã có nhiều thành công trong phát hiện sớm, chẩn đoán ung thư gan ngay từ giai đoạn đầu, khiến cho tỷ lệ sống thêm tăng rõ rệt, có những trường hợp khỏi.

II. SÀNG LỌC VÀ PHÁT HIỆN SỚM UNG THƯ GAN

Các tiêu chuẩn của xét nghiệm sàng lọc : độ nhạy và độ đặc hiệu cao, dễ thực hiện, chi phí hợp lý. Sàng lọc ung thư gan tiến hành ở những nhóm nguy cơ cao: xơ gan do rượu, xơ gan do viêm gan B, C, xơ gan do mật, bệnh nhiễm huyết độc.

Sàng lọc ung thư gan dựa trên định lượng AFP trong máu và siêu âm gan. Năm 2003, Hội Tiêu hóa Anh (BRSGE) đã đưa ra Hướng dẫn sàng lọc ung thư gan cho những nhóm có nguy cơ cao bằng cách định lượng AFP huyết thanh và siêu âm bụng 6 tháng một lần. Năm 2009, Thượng đỉnh ung thư Á châu (AOS) đã đồng thuận về việc định

*Hội Họa sinh Y học Việt Nam

Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Văn Sơn

Email: vsonhoang@gmail.com

Ngày nhận bài: 21.9.2020

Ngày phản biện khoa học: 3.10.2020

Ngày duyệt bài: 25.10.2020

lượng AFP trong máu và siêu âm gan 3-6 tháng một lần cho tất cả các bệnh nhân xơ gan, nhất là xơ gan do viêm gan B để sàng lọc ung thư gan. Hội ung thư Âu châu (ESMO) (2009), Mạng lưới ung thư quốc gia Hoa Kỳ (NCCN) (2010) cũng khuyến cáo như vậy. Năm 2010, Viện Hàn lâm Hóa sinh lâm sàng quốc gia Hoa Kỳ (NACB) đã đưa ra khuyến cáo sàng lọc ung thư gan ở những nhóm nguy cơ cao, nhất là xơ gan do viêm gan B và C: định lượng AFP trong máu và siêu âm bụng 6 tháng một lần. Nếu AFP > 20 ng/ml và tăng lên thì phải theo dõi tiếp, ngay cả khi kết quả siêu âm bình thường.

Đa số tác giả đều cho rằng có thể phát hiện sớm ung thư gan khi định lượng AFP trong máu kết hợp siêu âm gan. Nếu không chắc về kết quả siêu âm thì chụp cắt lớp vi tính (CT), hoặc cộng hưởng-từ (MRI). MRI nhạy hơn siêu âm nhiều (gần 90% so với gần 30%). Nhưng MRI khó phổ biến vì chi phí và trang bị.

Năm 2010, Viện Hàn lâm Hóa sinh lâm sàng quốc gia Hoa Kỳ đưa ra khuyến cáo phát hiện sớm ung thư gan ở những nhóm nguy cơ cao: nếu AFP bất thường và siêu âm thấy nhân nhỏ hơn 1cm, cần theo dõi, xét nghiệm lại mỗi đợt 3 tháng. Khi nhân 1-2cm trên gan xơ, phải theo dõi bằng chụp CT và MRI. Nếu nhân có hình thái ung thư thì điều trị như một ung thư gan dù có sinh thiết hay không. Nếu nhân trên 2 cm với hình thái ung thư, AFP > 200 ng/ml, thì điều trị mà không cần sinh thiết. Hội gan mật Nhật (JSH) đã đưa ra Hướng dẫn chẩn đoán lâm sàng ung thư gan dựa trên các công trình nghiên cứu của Kudo và Okanoue (2007), Makuuchi và cộng sự (2008). Theo đó, để chẩn đoán sớm ung thư gan ở người nguy cơ cao, cần làm siêu âm bụng và định lượng ba chỉ dấu: AFP, AFP-L3, và DCP (Des- γ -carboxy-

prothrombin), từ 3 - 6 tháng một lần. Khi cần sẽ chụp CT hoặc MRI. Pote N, Cauchy F và CS ở Pháp (2015) cho rằng: dựa trên chẩn đoán hình ảnh, AFP, AFP-L3, DCP thì phát hiện sớm được ung thư gan, và DCP (với trị số cắt 42ng/ml) có độ nhạy cao 77%, độ đặc hiệu cao 82%. Best J và CS ở Berlin (Đức, 2016) nghiên cứu trên 6000 bệnh nhân cho thấy: dùng toán đồ GALAD (gồm AFP, AFP-L3, DCP, giới tính, tuổi) để phát hiện sớm hepatom, đạt độ nhạy 85,6%, độ đặc hiệu 93,3, rất cao, AUC > 0,9. Năm 2019, Partha Pratim Bose và CS ở Ấn Độ nêu rõ: để chẩn đoán sớm ung thư gan, làm các xét nghiệm AFP-L3, DCP và siêu âm gan phát hiện nhân u, theo dõi từng đợt 6 tháng, nếu nhân tăng kích thước hoặc kích thước không đổi thì chụp CT hay MRI.

AFP có 3 glycoform do gắn lectin: AFP-L1 (không gắn), AFP-L2 (gắn yếu), AFP-L3 (gắn mạnh). Chỉ có AFP-L3 nguồn gốc từ tế bào ung thư là tăng đặc hiệu trong hepatom. Năm 1993, Taketa và CS đưa ra kỹ thuật điện di ái lực lectin để xét nghiệm AFP gắn lectin chẩn đoán ung thư gan. Shiraki và CS (1995), Yamashita và CS (1996) đều cho rằng AFP-L3 có thể chẩn đoán sớm ung thư gan. Xét nghiệm này dùng nhiều ở Nhật. Theo Marrero JA và CS (2009), AFP-L3 đặc hiệu 92% ở bất cứ giai đoạn nào của hepatom, nhưng độ nhạy chỉ 37%, khi AFP < 20 ng/ml thì không phát hiện được AFP-L3. Do đó, đã có xét nghiệm hs-AFP-L3 nhạy hơn nhiều, khi nhân u chỉ dưới 2 cm, đã có độ nhạy 63,5%, độ đặc hiệu 81,1%.

DCP (Des-gamma-carboxy-prothrombin) hay PIVKA II (Prothrombin induced by vitamin K absence II) là 1 prothrombin bất thường. Trong quá trình ung thư hóa của tế bào gan, hệ thống carboxylase phụ thuộc prothrombin bị hư hại nên không làm được

nhệm vụ carboxy-hóa, dẫn đến sản xuất DCP, và DCP mất chức năng prothrombin, gây ra ung thư. Liebman và CS là những người đầu tiên đưa ra xét nghiệm DCP chẩn đoán sớm hepatom năm 1984. DCP nhạy và đặc hiệu hơn AFP trong phát hiện sớm ung thư gan tiên phát, phân biệt rõ ung thư với các bệnh gan mạn tính. Kết hợp xét nghiệm DCP với AFP tăng độ nhạy lên tới 74,2%, độ đặc hiệu tới 87,2%. Trong hepatom, nồng độ trung bình của DCP là 900ng/ml. Một số ít di căn ung thư gan có DCP < 300ng/ml.

GPC-3 (GLYPICAN-3) thuộc họ glypican, không thấy ở mô bình thường và bệnh gan không ung thư, nhưng thể hiện rõ trong mô ung thư nhất là ung thư do HCV. Đoạn NH2 của GPC-3, do Hippo Y và cộng sự tìm thấy trong máu năm 2004. Đó là 1 heparan sulfat proteoglycan, có thể phát hiện sớm ung thư gan từ người bị xơ gan, nhạy hơn AFP. Khi chẩn đoán sớm, độ nhạy 55,1%, đặc hiệu 97% (Tahon AM và CS, 2019). Kết hợp với AFP càng tăng độ nhạy trong chẩn đoán sớm (Jia X và CS, 2014; Sun B và CS, 2017).

Việc sàng lọc và phát hiện sớm ung thư gan đã có những kết quả cụ thể. Mc Mahon và cộng sự báo cáo giá trị của việc sàng lọc ung thư gan ở những người bản xứ Alaska bị viêm gan B với 2230 trường hợp (2000). Yuen và cộng sự ở Hồng Kong cũng nêu rõ giá trị của sàng lọc ung thư gan: tiết kiệm chi phí, tăng thời gian sống lên 35% (2000, 2003). Sangiovanni và cộng sự ở Ý cũng thấy rõ thời gian sống tăng lên ở những người bị ung thư gan đã được sàng lọc để chẩn đoán (2004). Zhang và cộng sự ở Hồng Kông (2004), Lin và cộng sự (2004), Thompson và cộng sự (2007) ở Mỹ đều đánh giá cao vai trò của sàng lọc ung thư gan ở những người có nguy cơ.

I. CHẨN ĐOÁN UNG THƯ GAN

Chẩn đoán ung thư gan dựa trên các chỉ dấu ung thư và chẩn đoán hình ảnh. Xét nghiệm tế bào là khẳng định. Hiện nay, ngoài sinh thiết lấy tế bào ở mô, mới có sinh thiết lỏng (liquid biopsy). Sinh thiết lỏng dùng kỹ thuật sinh học phân tử xét nghiệm acid nucleic lưu hành trong máu (cell-free nucleic acids, cfNAs), ADN lưu hành (circulating DNA, ctDNA), tế bào u lưu hành (circulating tumor cells, CTCs). Các kỹ thuật hình ảnh bao gồm: siêu âm, siêu âm đối quang tăng cường (contrast enhanced ultrasound, CEUS); chụp cắt lớp vi tính (computer tomography, CT), CT đối quang động tăng cường (dynamic contrast enhanced CT); cộng hưởng từ (MRI), MRI tăng cường; PET (Positron emission tomography).

1. AFP. AFP đứng đầu bảng trong các chỉ dấu ung thư gan, được thừa nhận và dùng phổ biến nhất. AFP trong máu người bình thường là: 0-10 ng/ml. Trevisani F và CS ở Italia (2001) báo cáo: nếu AFP trong khoảng 200-400 ng/ml, đó là ung thư gan với độ đặc hiệu 99,4%. Hội nghị cứu gan Âu châu (EASL) (2001) đưa ra Hướng dẫn: AFP > 400 ng/ml và nghi có 1 nhân u, kết luận là hepatom. Năm 2001, Hội nghị cứu bệnh gan Hoa Kỳ (AASLD), Hội gan mật Nhật bản (JSH) đều cho rằng: AFP > 200 ng/ml và nghi có nhân u: ung thư gan. Năm 2009, Thượng đỉnh Ung thư Á châu đồng thuận: khi AFP > 400 ng/ml, và chụp CT hoặc MRI thấy hình ảnh nhân u không kể kích cỡ, chẩn đoán ung thư gan mà không cần sinh thiết. Năm 2010, Viện Hàn lâm Hóa sinh lâm sàng quốc gia Hoa Kỳ đã khuyến cáo: chẩn đoán ung thư gan khi AFP > 200ng/ml. Nhìn chung, khi AFP > 200ng/ml, chẩn đoán ung thư tế bào gan.

Chú ý : AFP huyết thanh cũng tăng trong các trường hợp: thai nghén bình thường, phụ nữ có thai dị tật (khuyết tật ống thần kinh, vô não, spina bifida), viêm gan giai đoạn hồi phục, ung thư tế bào mầm như ung thư tinh hoàn, một số trường hợp viêm gan mạn tính, xơ gan do rượu, một số ung thư dạ dày, đường mật, tụy. Phụ nữ có thai từ tuổi thai (tuần lễ sau kỳ kinh cuối cùng) thứ 14 – 21 trở đi có nồng độ AFP tăng dần, từ 7-54,5 ng/ml (tuần thứ 14) lên 18-85 ng/ml (tuần thứ 16), 28-123 ng/ml (thứ 18), 20-155,7 ng/ml (thứ 19), 30,5-183,5 (thứ 21), rồi ngừng tăng. 20-40% trường hợp xơ gan, viêm gan có AFP > 10ng/ml. Nhưng AFP chỉ tăng nhẹ, nhất thời. Chỉ tăng cao trong ung thư tinh hoàn, không quá 200 ng/ml.

2. GPC-3. Gen GPC-3 mã hóa thành phần 3 của họ glypican, được Hsu HC và CS nêu lên năm 1997. Nó tăng cao trong 75% mẫu mô ung thư gan, trong khi chỉ có trong 3,2% gan lành. Năm 2004, Capurro M và CS phát hiện nồng độ GPC-3 tăng cao trong huyết thanh người ung thư gan với độ nhạy 88% (cao hơn AFP, chỉ có 55%) ngay cả khi u nhỏ hơn 3cm, đặc hiệu trên 90%, không tăng trong máu người bình thường và viêm gan cấp. Xét nghiệm đồng thời GPC-3 và AFP thì độ nhạy càng cao. Trị số cắt của GPC-3 trong huyết thanh là 2 ng/ml (Hippo Y và CS, 2004). Để chẩn đoán ung thư gan, xét nghiệm GPC-3 trong máu và ở mô u.

3. TRANSFORMING GROWTH FACTOR β 1 do Song và CS mô tả năm 2002, có giá trị chẩn đoán ung thư gan kích thước nhỏ.

4. INSULIN- LIKE GROWTH FACTOR II: Tsai và CS nêu năm 2003. Kết hợp với AFP sẽ nâng cao độ đặc hiệu và nhạy trong chẩn đoán ung thư gan.

5. GOLGI PROTEIN 73 (GP73): 1

protein típ II của tế bào Golgi, chủ yếu ở biểu mô đường mật, hiếm thấy ở tế bào gan, nhưng biểu hiện rõ ở gan ung thư. Witjes CD và CS (2013) cho rằng GP73 trong huyết thanh có giá trị chẩn đoán hepatom khi AFP không cao. Zhang Z và CS (2016) báo cáo: GP73 vượt AFP khi chẩn đoán sớm ung thư gan. NACB của Hoa kỳ cũng nêu lên: GP73 có thể chẩn đoán sớm hepatom. Nên kết hợp GP73 với AFP để tăng độ nhạy trong chẩn đoán sớm ung thư gan. Dai M và CS (2015) báo cáo: xét nghiệm đồng thời 2 chỉ dấu này có độ nhạy 87-94%, độ đặc hiệu 85-99%, rất cao.

6. OSTEOPONTIN (OPN). Là 1 glycoprotein phosphoryl-hóa do tế bào biểu mô sản xuất. Nabih MI và CS (2014) cho rằng OPN nhạy hơn AFP trong chẩn đoán ung thư gan ở người viêm gan C. Cabiati M và CS (2017), Abdel-Hafiz SM và CS (2018) nêu rõ giá trị chẩn đoán ung thư gan của OPN. Sun T và CS (2018) tổng quan 2100 trường hợp ung thư gan của 12 công trình, cho rằng: OPN nhạy hơn AFP trong chẩn đoán. Kết hợp OPN và AFP càng tăng độ nhạy để chẩn đoán sớm. Năm 2020, Bruha R và CS đã xác nhận giá trị chẩn đoán ung thư gan của OPN.

Các chỉ dấu mới đang được đánh giá trong lâm sàng. Nhiều hứa hẹn là các chỉ dấu DCP, AFP-L3, GPC-3.

7. SINH THIẾT LỎNG (LIQUID BIOPSY): khuynh hướng mới, dùng kỹ thuật sinh học phân tử để chẩn đoán ung thư, có ưu điểm:

- Trong khi sinh thiết mô thực hiện tại 1 điểm (có khi một vài điểm), không phản ánh được biến động và phát triển của ung thư, thì sinh thiết lỏng có thể làm nhiều lần, nên thể hiện được những điều này. Đó là xét nghiệm động học.

- Là xét nghiệm không xâm nhập, thuận tiện nhiều cho bệnh nhân.

Tế bào bình thường có thể tiết acid nucleic vào máu ngoại vi, tạo ra các acid nucleic lưu hành (cell-free nucleic acids, cfNAs). Theo Garcia V và CS (2008), Kaiser J và CS (2010), các acid nucleic lưu hành trong máu gồm: DNA, miRNAs đều là các chỉ dấu ung thư. Các DNA lưu hành (ctDNA) là tít cell-free DNA (cfDNA) biểu hiện ngoài tế bào, lưu hành trong máu ngoại vi. ctDNA khác cfDNA vì nó phản ánh các đột biến gen xảy ra trong quá trình phát triển ung thư. Lượng ctDNA rất nhỏ, chỉ chiếm dưới 0,01% của cfDNA, nên cần các kỹ thuật rất nhạy để xét nghiệm như digital PCR (dPCR). cfDNA trong máu ngoại vi khoảng 30 ng/ml (0-100 ng/ml) (Pathak A và CS, 2006). Máu ngoại vi giống như một “thư viện mẫu của sinh thiết lỏng”, chứa đựng lượng lớn thông tin di truyền. Theo Zhou J và CS (2012), Wang J và CS (2016), các tế bào ung thư, tế bào u hoại tử và đã chết là nguồn của các cfDNA trong máu người ung thư.

Để chẩn đoán ung thư gan, xét nghiệm tế bào ung thư lưu hành (CTCs), ctDNA, miRNAs do tế bào u tiết vào máu. Vì lượng của chúng rất nhỏ, phải dùng các kỹ thuật phân lập, tinh chế sinh học. Hay dùng kỹ thuật sinh học phân tử, tạo liên kết kháng nguyên-kháng thể, dùng kháng nguyên liên kết với kháng thể kháng phần đặc hiệu của u. Trong các kháng nguyên EpCAM, Her2, PSA, dùng nhiều nhất EpCAM để tinh chế và đếm CTCs. Sau khi tinh chế, xét nghiệm CTCs bằng các kỹ thuật như: FISH, vi-dây (microarray), miễn dịch-huỳnh quang, RT-PCR. Năm 2004, Vona G và CS nghiên cứu 44 người ung thư gan, phát hiện 52% trường hợp CTCs cao, mà không thấy ở người lành, xơ gan, viêm gan hoạt động. Guo W và CS (2014) dùng EpCAM xét nghiệm CTCs để chẩn đoán phân biệt ung thư gan với người

lành, xơ gan, viêm gan B, u lành. Kết quả: AUC là 0,697, độ đặc hiệu 96,7%. Kết hợp với AFP thì càng tốt hơn: AUC là 0,857, đặc hiệu 93,4%.

miRNAs (microRNAs) là những RNA điều hòa gen sau phiên mã. Một nhóm miRNAs lạc chỗ tìm thấy ở gen đích ung thư gan, tham gia vào quá trình sinh u, phát triển, xâm lấn, di căn (Schwarzenbach H và CS, 2014; Schutte K và CS, 2015). Năm 2016, Huang JT và CS tổng hợp 50 nghiên cứu, tìm thấy 19 miRNAs lưu hành có thể chẩn đoán sớm ung thư gan, trong đó miRNAs-21, miRNAs-122 hứa hẹn nhất, 2 chỉ dấu trên và miRNAs-192 có giá trị chẩn đoán cao ung thư từ viêm gan B, ngay cả khi AFP bình thường. Năm 2017, Elemeery MN và CS nêu vai trò chẩn đoán sớm ung thư gan ở bệnh nhân xơ gan do viêm gan C của miRNAs-214, miRNAs-375, miRNAs-1269, miRNAs-125b. Kết hợp với AFP thì càng tăng giá trị. Năm 2019, Peng C và CS tổng hợp 59 công trình nghiên cứu 5125 bệnh nhân ung thư gan với 6561 đối chứng, kết luận: miRNAs lưu hành có giá trị chẩn đoán sớm ung thư gan.

V. KẾT LUẬN

Tóm lại, đã có nhiều chỉ dấu mới nhằm sàng lọc, phát hiện sớm và chẩn đoán ung thư gan, đa số đang được nghiên cứu trong lâm sàng. AFP có giá trị nhất, kết hợp AFP với chẩn đoán hình ảnh giúp cho việc sàng lọc, phát hiện sớm ung thư ở những nhóm nguy cơ cao. Các chỉ dấu AFP-L3, DCP, GPC-3 có nhiều giá trị. Sinh thiết lỏng dùng kỹ thuật phân tử xét nghiệm ctDNA, ctCTCs, miRNAs trong máu ngoại vi rất nhiều hứa hẹn để phát hiện sớm và chẩn đoán xác định ung thư gan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bose PP, Chatterjee U.** Advances in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatoma Res* 2019 ; 5: 24.
2. **Chen H, Zhang Y, Li S et al.** Direct comparison of five serum biomarkers in early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Canc Manag Res* 2018 ; 10 : 1947 – 1958.
3. **Heimback JK, Kubk LM, Finn RS et al.** AASLD guidelines for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2018 ; 67 : 358 – 380.
4. **Luis Enrique CH, Zahra E, Klaus P et al.** Molecular and functional characterization of circulating tumor cells : from discovery to clinical application. *Clin Chem* 2020 ; 66 : 97 -104.
5. **Meredith E, Pittman N.** Population-specific screening for hepatocellular carcinoma. *Clin Chem* 2019; 65 : 1477 – 1478.
6. **Navin PJ, Venkatesh SK.** Hepatocellular carcinoma : state of the art imaging and recent advances. *J Clin Transl Hepatol* 2019 ; 7 : 72 – 85.
7. **Peng C, Ye Y, Wang Z et al.** Circulating microRNAs for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2019 ; 51 : 621 – 631.
8. **Tahon AM, El-Ghanam MZ, Zaky S et al.** Significance of Glypican-3 in early detection of hepatocellular carcinoma in cirrhotic patients. *J Gastrointest Canc* 2019; 50 : 434 - 441.
9. **Tan C, Cao J, Chen L et al.** Noncoding RNAs serve as diagnosis and prognosis biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Clin Chem* 2019 ; 65 : 905 -915.
10. **Wang W, Wei C.** Advances in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. <https://doi.org/10.1016/J.gendis.2020.01.014>.

KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM DỰA TRÊN QUẢN LÝ NGUY CƠ

Trần Thị Chi Mai¹

TÓM TẮT

Khái niệm về kiểm tra chất lượng xét nghiệm đã phát triển từ theo dõi độ ổn định của hệ thống xét nghiệm sang quản lý nguy cơ báo cáo các kết quả xét nghiệm không chính xác. Hướng dẫn EP23-A của CLSI cung cấp hướng dẫn giúp phòng xét nghiệm thực hiện kiểm tra chất lượng dựa trên quản lý nguy cơ. Phát triển kế hoạch kiểm tra chất lượng đòi hỏi thiết lập sơ đồ toàn

bộ quá trình xét nghiệm với việc xem xét các điểm yếu trong các giai đoạn trước, trong và sau xét nghiệm- những bước mà xác suất xảy ra lỗi cao. Các quy trình kiểm soát chất lượng giúp ngăn ngừa hoặc cải thiện khả năng phát hiện lỗi để tăng cường chất lượng. Thực hành quản lý nguy cơ để phát triển kế hoạch kiểm tra chất lượng nên tích hợp với thực hành đánh giá sai số của phương pháp để tạo ra công cụ quản lý hiệu quả chất lượng xét nghiệm. Thống kê QC vẫn là một bộ phận then chốt của bất cứ kế hoạch QC nào để đảm bảo phát hiện các sai số có ý nghĩa y khoa một cách hiệu quả. Kiểm tra chất lượng dựa trên nguy cơ có thể giúp quản lý nguy cơ báo cáo các kết quả xét nghiệm sai một cách hiệu quả về

*Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trần Thị Chi Mai

Email: tranchimai@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 1.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 10.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

chi phí và đáp ứng các yêu cầu, quy định của cơ quan quản lý, tổ chức công nhận.

Từ khóa: quản lý nguy cơ, kế hoạch kiểm tra chất lượng, kiểm tra chất lượng bằng thống kê, CLSI EP23A.

SUMMARY

LABORATORY QUALITY CONTROL BASED ON RISK MANAGEMENT

Concept of quality control have evolved from primarily monitoring measuring system stability to managing the risk of reporting incorrect results. Clinical and Laboratory Standards Institute document EP23-A provides guidance for risk-based quality control plan. Development of quality control plan requires a process map of the testing process with consideration for weak steps in the preanalytical, analytical and postanalytical phases of testing where there is an increased probability of errors. Control processes that either prevent or improve the detection of errors to enhance the overall quality of the test results. Risk management practice for developing quality control plan should be integrated with existing error management practices to provide an efficient and effective system for analytical quality management. Statistical quality control is still a critical part of any QC plan to assure effective detection of medical important errors. A risk-based quality control plan can cost-effectively manage risk of reporting incorrect results and meet regulatory requirements.

Key words: risk management, quality control plan, statistical quality control, CLSI EP23A.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thuật ngữ kiểm tra chất lượng (QC) trong phòng xét nghiệm lâm sàng thường được sử dụng để chỉ việc phân tích các mẫu kiểm tra chất lượng (mẫu QC) được thiết kế để bắt chước các đặc điểm của mẫu bệnh nhân và việc sử dụng các phương pháp thống kê để đánh giá kết quả QC, nhờ đó phát hiện sự thay đổi đáng kể trong hiệu năng của hệ

thống phân tích hoặc đo lường. Ví dụ, các quy định của Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) 1988 ở Hoa Kỳ chỉ định một quy trình QC mặc định được chấp nhận là: Ít nhất một lần mỗi ngày bệnh phẩm của bệnh nhân được xét nghiệm, với xét nghiệm định lượng, chạy ít nhất hai mẫu vật liệu kiểm tra với mức nồng độ khác nhau; với quy trình định tính, bao gồm QC âm tính và dương tính hoặc hiệu chuẩn hệ thống xét nghiệm.¹

Trong quá khứ, tần suất chạy các mẫu QC phần lớn được hướng dẫn dựa vào tính ổn định của hệ thống đo lường. Các mẫu QC được đưa vào mỗi khoảng phân tích để kiểm tra các thay đổi trong hệ thống đo tại khoảng thời gian đó, kết quả của các mẫu QC sẽ được kiểm tra trước khi công bố kết quả bệnh nhân. Công nghệ tự động hóa ngày càng phát triển, các mẫu bệnh phẩm được phân tích liên tục thay vì chạy theo mẻ. Trong những thập kỷ gần đây, người ta nhận thấy rằng các nguyên tắc đã được thiết lập trong quá khứ không còn là tối ưu nữa để đáp ứng nhu cầu về một quy trình QC toàn diện cho phòng xét nghiệm lâm sàng. Ngày nay, trọng tâm của việc kiểm tra các mẫu QC trong phòng xét nghiệm đã chuyển từ việc theo dõi độ ổn định vốn có của hệ thống đo lường sang việc phát hiện hai loại sự kiện cơ bản có thể là nguồn làm thay đổi hiệu năng của hệ thống. Tính ổn định của hệ thống đo, đối với nhiều hệ thống, không còn là yếu tố cần nhắc chính trong việc xác định tần số tối ưu để kiểm tra hiệu năng hệ thống. Thay vào đó, trọng tâm đã chuyển sang giảm nguy cơ tiềm ẩn của việc báo cáo một số lượng đáng kể kết quả xét nghiệm không chính xác: nguyên tắc là quản lý số lượng kết quả xét nghiệm không chính xác có thể được công bố trước khi lỗi ngẫu nhiên được phát hiện.²

Sau 6 năm nỗ lực, hướng dẫn EP23-A của CLSI về Kiểm soát Chất lượng xét nghiệm dựa trên quản lý nguy cơ đã được phê duyệt và xuất bản vào tháng 10 năm 2011. Mục đích của EP23-A là giúp các phòng xét nghiệm áp dụng các nguyên tắc quản lý nguy cơ cơ bản được sử dụng trong ngành IVD để phát triển kế hoạch kiểm tra chất lượng (QCP) giúp quản lý hiệu quả các nguy cơ của quá trình xét nghiệm.³

Thế nào là QC đúng? Định nghĩa về QC đúng theo tiêu chuẩn của CLIA là:

1. Phòng xét nghiệm chịu trách nhiệm thiết lập quy trình kiểm tra chất lượng để theo dõi độ chụm và độ chính xác của toàn bộ quá trình xét nghiệm.

2. Phòng xét nghiệm phải xác định số lượng, loại QC, tần suất chạy QC.

3. Quy trình kiểm tra chất lượng phải ngay lập tức phát hiện các sai sót do hệ thống xét nghiệm, điều kiện môi trường, năng lực của nhân viên.⁴

Theo tiêu chuẩn ISO 15189, phòng xét nghiệm phải thiết lập quy trình nội kiểm tra

chất lượng để kiểm tra liệu các kết quả xét nghiệm có đạt được chất lượng phù hợp với mục đích sử dụng. Mục đích sử dụng ở đây chính là mục tiêu chất lượng hay yêu cầu chất lượng của xét nghiệm.⁵ Nói cách khác, QC đúng là tất cả các hoạt động phòng xét nghiệm phải làm để đảm bảo kết quả xét nghiệm của bệnh nhân là chính xác và tin cậy, phù hợp với mục đích sử dụng.

Quản lý nguy cơ là gì?

Về nguyên tắc, quản lý nguy cơ là các biện pháp có tổ chức để đánh giá cái gì có thể gây sai sót và xác định cái gì có thể làm để giảm thiểu tác hại của các sai sót đó. Mặc dù quản lý nguy cơ là mới trong phòng xét nghiệm y khoa, nó đã được áp dụng từ lâu trong các ngành công nghiệp và sản xuất kit chẩn đoán (invitro diagnostics-IVD). Trong thực hành, quản lý nguy cơ bao gồm xác định nguy cơ hoặc nguồn tiềm ẩn gây sai sót, mức ảnh hưởng của nó và thực hiện các hành động để phòng ngừa và giảm nhẹ các ảnh hưởng của sai sót.

Bảng 1. Ma trận đánh giá mức độ chấp nhận được của nguy cơ

Ma trận nguy cơ	Mức độ nghiêm trọng				
	Không đáng kể	Nhẹ	Nặng	Nghiêm trọng	Thảm họa
Khả năng xảy ra					
Thường xuyên	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được
Có thể	Chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được
Thỉnh thoảng	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được
Không thường xuyên	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Không chấp nhận được	Không chấp nhận được
Hiếm khi	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Chấp nhận được	Chấp nhận được

Trong hoạt động của phòng xét nghiệm, có 5 khu vực chính hay xảy ra sai sót ảnh hưởng đến độ chính xác, tin cậy của kết quả xét nghiệm: Mẫu bệnh phẩm, Nhân viên xét nghiệm, Thuốc thử/ hóa chất, Môi trường làm việc của phòng xét nghiệm, Hệ thống máy xét nghiệm. Theo hướng dẫn EP23A của CLSI, mức độ nghiêm trọng của sai sót có thể xảy ra như sau: Thảm họa (bệnh nhân tử vong), Nghiêm trọng (gây ra thương tổn đe dọa tính mạng hoặc thương tật vĩnh viễn), Nặng (gây ra thương tổn đòi hỏi can thiệp y khoa), Nhẹ (gây ra ảnh hưởng nhất thời không đòi hỏi can thiệp y khoa); Không đáng kể. Khả năng xảy ra của sai sót được ước tính như sau: Thường xuyên (1 lần/ 1 tuần), Có thể (1 lần/ tháng), thỉnh thoảng (1 lần/ năm); Không thường xuyên (1 lần/ vài năm), Hiếm khi (1 lần trong thời gian sử dụng hệ thống máy). Nguy cơ được xác định là kết quả của phép nhân giữa mức độ nghiêm trọng và khả năng xảy ra sai sót. Nguy cơ thấp là nguy cơ có thể được chấp nhận, phòng xét nghiệm không bắt buộc phải tiến hành các hoạt động làm giảm nguy cơ. Với nguy cơ trung bình, phòng xét nghiệm cần điều tra nguyên nhân, xem xét sự cần thiết tiến hành các hành động khắc phục hoặc hành động phòng ngừa để giảm bớt ảnh hưởng của nguy cơ. Với nguy cơ cao, phòng xét nghiệm cần ngay lập tức cần tiến hành điều tra nguyên nhân, tiến hành các hành động khắc phục hoặc hành động phòng ngừa để giảm bớt ảnh hưởng của nguy cơ (bảng 1).

Kế hoạch kiểm tra chất lượng (Quality Control Plan-QCP) là gì?

QCP là một tài liệu mô tả các biện pháp thực hành, nguồn lực, chuỗi các hoạt động cụ thể để kiểm soát chất lượng của một hệ thống đo lường hoặc quá trình xét nghiệm cụ thể để đảm bảo chất lượng xét nghiệm đáp ứng với

mục đích sử dụng (CLSI EP23A). QCP đòi hỏi áp dụng hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm và cung cấp các biện pháp có tổ chức để kiểm soát toàn bộ quá trình xét nghiệm: trước, trong và sau xét nghiệm.

Thống kê QC (Statistical quality control) là quy trình trong đó các mẫu ổn định được đo lường và kết quả quan sát được so sánh với giới hạn mô tả sự biến thiên được trông đợi khi phương pháp đo lường vận hành đúng (CLSI C24-A3).⁶

Phát triển QCP dựa trên quản lý nguy cơ

EP23-A mô tả quá trình bao gồm các bước sau⁷:

1. Thu thập thông tin về quá trình xét nghiệm
2. Đánh giá nguy cơ trong quá trình xét nghiệm
3. Xây dựng QCP để giảm thiểu nguy cơ
4. Thực hiện và giám sát kế hoạch

Bước 1: Thu thập thông tin về quá trình xét nghiệm.

Thông tin về hệ thống đo lường là rất quan trọng để hiểu những lỗi có thể xảy ra trong hệ thống có thể dẫn đến báo cáo kết quả bệnh nhân không chính xác. Thông tin có thể đến từ một số nguồn bao gồm thông tin từ nhà sản xuất hệ thống, kinh nghiệm của chính phòng xét nghiệm với hệ thống đo lường hoặc các hệ thống tương tự và kinh nghiệm chia sẻ của các phòng xét nghiệm khác hoặc thông qua các bài báo đã xuất bản, dữ liệu của nhóm đồng nghiệp, v.v. Các đặc tính hoạt động của hệ thống đo lường trong môi trường phòng xét nghiệm cụ thể đó bao gồm: độ chụm, độ lệch, khoảng tuyến tính, khoảng báo cáo kết quả và khoảng tham chiếu; tất cả đều quan trọng trong việc lựa chọn và sử dụng hiệu quả các công cụ QC.

Vì môi trường xung quanh hệ thống đo và người vận hành sử dụng nó có thể ảnh hưởng

đến quá trình thử nghiệm, nên thông tin về phòng xét nghiệm cũng cần được đưa vào khi đánh giá quá trình xét nghiệm tổng thể. Tất cả các yêu cầu về môi trường được chỉ định trong hướng dẫn sử dụng của nhà sản xuất có được đáp ứng không? Có ở đó không bất kỳ thay đổi định kỳ nào đối với môi trường của phòng xét nghiệm, chẳng hạn như thay đổi nhiệt độ hoặc độ ẩm theo mùa? Tác động tiềm tàng của những thay đổi này đối với quá trình xét nghiệm là gì? Chất lượng nước có quan trọng đối với quá trình xét nghiệm không? Chất lượng nước được kiểm tra như thế nào và duy trì như thế nào? Thuốc thử và các vật tư khác được bảo quản như thế nào? Điều kiện bảo quản có đáp ứng tất cả các yêu cầu đối với hệ thống đo lường không?

Một yếu tố khác cần được đánh giá là nhân viên vận hành hệ thống đo lường. Sự đào tạo và năng lực của họ trên tất cả các khía cạnh trong vai trò của họ là gì? Người vận hành có thể biết cách kiểm tra mẫu bằng hệ thống đo lường, những kỹ năng / kiến thức của họ để phát hiện các vấn đề tiềm ẩn, để khắc phục sự cố, để nhận biết của các yếu tố có thể ảnh hưởng đến quá trình xét nghiệm? Họ có khả năng thực hiện bảo trì, hiệu chuẩn, v.v. không? Tất cả những cân nhắc này cần được tính đến khi xây dựng QCP.

Ngoài ra, tần suất xét nghiệm mẫu bệnh phẩm rất quan trọng để xây dựng QCP. Đặc biệt đối với các quy trình xét nghiệm bao gồm các bước thủ công như pha loãng, chiết tách, tính toán, xem xét kết quả, bảo trì hệ thống xét nghiệm, v.v., khối lượng xét nghiệm quá thấp có thể gây khó khăn cho việc duy trì kỹ năng cần thiết và khối lượng quá cao có thể tăng nguy cơ mắc sai lầm. Số lượng xét nghiệm cũng ảnh hưởng đến thiết kế QCP và cách sử dụng các công cụ QC. Ví

dụ, trong phòng xét nghiệm khối lượng lớn, các mẫu QC có thể được thử nghiệm nhiều lần trong khoảng thời gian 24 giờ để quản lý tối ưu rủi ro báo cáo kết quả bệnh nhân không chính xác. Trong môi trường khối lượng xét nghiệm thấp sử dụng cùng một hệ thống đo lường, tần suất kiểm tra các mẫu QC có thể là một lần trong 24 giờ.

Kết quả xét nghiệm sẽ được sử dụng như thế nào trên lâm sàng là một yếu tố quan trọng trong việc phát triển QCP. Kết quả có được sử dụng để sàng lọc không? Chẩn đoán? Theo dõi? Kết quả xét nghiệm sẽ được sử dụng kết hợp với các kết quả xét nghiệm khác hoặc thông tin lâm sàng để đưa ra các quyết định y tế hay một quyết định y tế chỉ dựa trên một kết quả xét nghiệm duy nhất? Làm sao kết quả xét nghiệm sẽ được sử dụng nhanh chóng sau khi báo cáo? Bác sĩ lâm sàng sẽ xem xét kết quả ngay lập tức khi nó có sẵn trong môi trường chăm sóc quan trọng hay kết quả là một phần của khối thông tin sẽ được sử dụng để đưa ra quyết định sau khi tất cả thông tin được tổng hợp và bác sĩ lâm sàng xem xét tất cả cùng nhau? Thông tin này giúp thiết lập nguy cơ của các sai sót và là hướng dẫn quan trọng trong việc phát triển QCP.

Bước 2: Đánh giá nguy cơ trong quá trình xét nghiệm. Sau khi thông tin được thu thập và sơ đồ quá trình hoàn tất, thì việc đánh giá nguy cơ có thể bắt đầu với việc xác định môi nguy hại. Sơ đồ quá trình được xem xét và xác định những vị trí trong quá trình có thể gây ra các kết quả không chính xác. Sau khi xác định được các nguy cơ tiềm ẩn, bất kỳ cách thức nào hiện có để giảm thiểu rủi ro đều phải được ghi lại cùng với mức độ hiệu quả của việc giảm thiểu dự kiến và liệu có rủi ro tồn tại hay không. Nếu rủi ro tồn đọng là không thể chấp nhận được, cần phải

xây dựng thêm một hành động trong QCP để giảm thiểu rủi ro hơn nữa.

Bước 3: Phát triển QCP để giảm thiểu nguy cơ. QCP được viết để kết hợp các hành động được xác định là cần thiết để vừa phát hiện các lỗi của quy trình vừa quản lý rủi ro, và đây là lúc hộp công cụ QC trở nên hữu ích. Hộp công cụ QC là tập hợp các công cụ hoặc các kỹ thuật sẵn có cho phòng xét nghiệm lâm sàng để theo dõi quá trình xét nghiệm và phát hiện lỗi tiềm ẩn. Việc sử dụng tối ưu các công cụ QC này liên quan đến việc xác định các điểm chính trong quá trình đo lường để theo dõi, chẳng hạn như sau khi hiệu chuẩn hoặc các quy trình bảo trì đã chọn, sau một số lượng xác định số giờ hoạt động hoặc một số lượng mẫu cụ thể được xét nghiệm, v.v., điều này tạo nên lợi ích của việc dựa trên tần suất kiểm tra hệ thống để giảm nguy cơ tiềm ẩn của việc báo cáo một số lượng đáng kể kết quả bệnh nhân không chính xác.

Ngoài các công cụ giám sát, các hành động khác được tích hợp trong QCP để chủ động quản lý các rủi ro đã xác định. Các bước này có thể bao gồm đào tạo, giám sát môi trường, theo dõi ngày hết hạn của thuốc thử và bảo trì hệ thống. QCP phải là bản phác thảo đầy đủ các công việc mà phòng xét nghiệm cần thực hiện liên tục để ngăn ngừa các lỗi quy trình của hệ thống đo lường ở mức độ phù hợp với thực tế, đồng thời phát hiện và theo dõi các lỗi xảy ra.

Bước 4: Thực hiện QCP và theo dõi.

Khi QCP hoàn tất và được lãnh đạo phòng xét nghiệm xem xét và phê duyệt, nó có thể được thực hiện. Sau khi QCP được thực hiện, việc giám sát kế hoạch về tính hiệu quả sẽ bắt đầu. Không có QCP nào hoàn hảo và tất cả các QCP cần phải thay đổi vì hệ thống xét nghiệm, môi trường phòng xét nghiệm

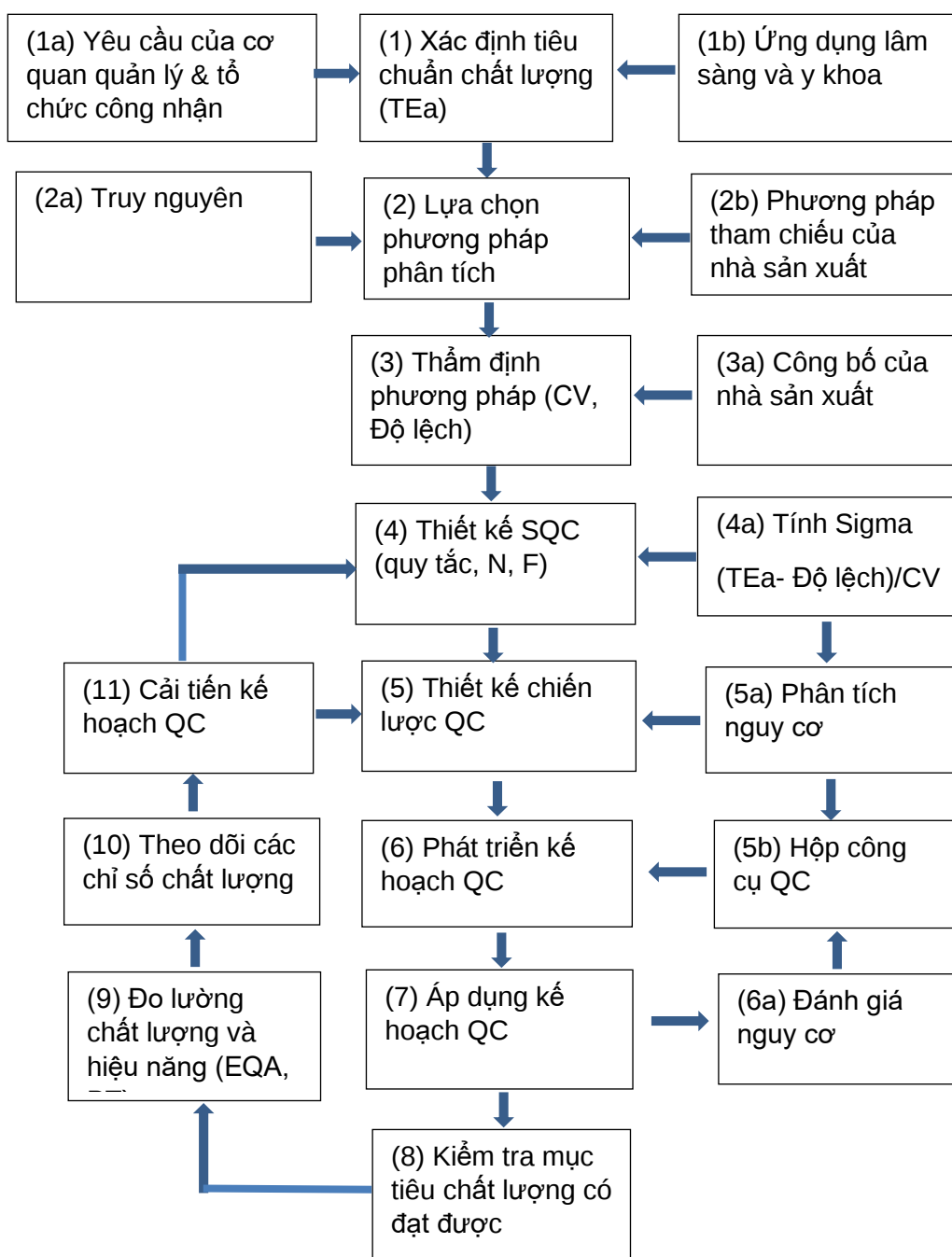
hoặc ứng dụng lâm sàng thay đổi. Để duy trì QCP hiện hành và hiệu quả, cần phải theo dõi và xem xét. Quy trình QC nên được đánh giá định kỳ để xem liệu các công cụ QC có hoạt động như mong đợi hay không. Phản nản từ các bác sĩ lâm sàng có thể là một nguồn thông tin tốt về việc thực hiện QCP. Phản nản về thời gian trả kết quả hoặc thông báo kết quả kịp thời có thể giúp xác định các bước trong quá trình có thể cần cải tiến. Phản nản về sự không phù hợp giữa kết quả xét nghiệm và các triệu chứng hoặc chẩn đoán của bệnh nhân có thể hữu ích trong việc phát hiện các vấn đề về hiệu năng. Tất cả các khiếu nại như vậy nên được điều tra càng nhiều càng tốt.

Tích hợp phân tích nguy cơ vào quản lý chất lượng xét nghiệm như thế nào?

Wesgard đã xây dựng khuyến cáo để tích hợp phân tích nguy cơ vào trong hệ thống quản lý chất lượng xét nghiệm (hình 1).⁸ Bước 1 là xác định mục tiêu chất lượng (quality goal) hoặc yêu cầu chất lượng phù hợp mục đích sử dụng cho các xét nghiệm; để chất lượng có thể đo lường được và quản lý được. Bước 2 là lựa chọn các quy trình đo lường hay phương pháp xét nghiệm mà độ chụm và độ chính xác của chúng có thể đáp ứng mục đích sử dụng và truy nguyên của chúng có thể giúp so sánh được kết quả giữa các phương pháp khác nhau. Bước 3 là thẩm định/ xác nhận phương pháp để đánh giá hiệu năng của chúng có đáp ứng mục đích sử dụng hay không. Với yêu cầu chất lượng đã xác định ở bước 1, độ chụm và độ chính xác có được ở bước 3, có thể tính toán giá trị Sigma và đánh giá hiệu năng phương pháp có chấp nhận được hay không. Bước 4 thiết kế thống kê QC dựa trên hiệu năng phương pháp được đánh giá trên thang Sigma. Phân tích nguy cơ có thể đưa vào giai đoạn này.

Bước 5 là thiết kế/ lựa chọn các quy trình thống kê QC, có thể áp dụng hướng dẫn CLSI 24A3. Bước 6 là tập hợp tất cả vào QCP. Bước 7 là áp dụng kế hoạch, bước này cần sự hỗ trợ của công nghệ thông tin để giúp vận hành hiệu quả. Bước 8 là kiểm tra

xem mục tiêu chất lượng có đạt được hay không. Các bước 9, 10, 11 là theo dõi chất lượng và đo lường hiệu năng, xác định các điểm yếu và các vấn đề để cải tiến và áp dụng các cải tiến.



Hình 1. Tích hợp phân tích nguy cơ vào quản lý chất lượng xét nghiệm

KẾT LUẬN

Khái niệm về kiểm tra chất lượng xét nghiệm đã phát triển từ theo dõi độ ổn định của hệ thống xét nghiệm sang quản lý nguy cơ báo cáo các kết quả xét nghiệm không chính xác. Các kỹ thuật quản lý nguy cơ có thể sử dụng để phát triển kế hoạch QC cho từng phòng xét nghiệm. Hướng dẫn EP23-A của CLSI cung cấp hướng dẫn giúp phòng xét nghiệm thực hiện kiểm tra chất lượng dựa trên quản lý nguy cơ. Phát triển kế hoạch kiểm tra chất lượng đòi hỏi thiết lập sơ đồ toàn bộ quá trình xét nghiệm với việc xem xét các điểm yếu trong các giai đoạn trước, trong và sau xét nghiệm- những bước mà xác suất xảy ra lỗi cao. Các quy trình kiểm soát chất lượng giúp ngăn ngừa hoặc cải thiện khả năng phát hiện lỗi để tăng cường chất lượng. Thực hành quản lý nguy cơ để phát triển kế hoạch QC nên tích hợp với thực hành đánh giá sai số của phương pháp để tạo ra công cụ quản lý hiệu quả chất lượng xét nghiệm. Thống kê QC vẫn là một bộ phận then chốt của bất cứ kế hoạch QC nào để đảm bảo phát hiện các sai số có ý nghĩa y khoa một cách hiệu quả. Kiểm tra chất lượng dựa trên nguy cơ có thể giúp quản lý nguy cơ báo cáo các kết quả xét nghiệm sai một cách hiệu quả về chi phí và đáp ứng các yêu cầu, quy định của cơ quan quản lý, tổ chức công nhận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **CMS- 2226-F:** 42 CFR 493 Medicare, Medicaid, and Clinical Laboratory Improvement Amendments (CLIA) Programs; laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications; section 493.1256 (d) (3), page 1038 Oct. 1 2004 edition. Code of Federal Regulations (CFR).
2. **Parvin CA.** Assessing the impact of the frequency of quality control testing on the quality of reported patient results. Clin Chem 2008;54(12):2049–54.
3. **CLSI.** Laboratory Quality Control Based on Risk Management; approved guideline. CLSI document EP23-A. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011.
4. **US Centers for Medicare and Medicaid Services (CMS).** Medicare, Medicaid, and CLIA programs. Laboratory requirements relating to quality systems and certain personnel qualifications. Final rule. Fed Regist 2003;16:3640–714.
5. **ISO 15189.** Medical laboratories—particular requirements for quality and competence. Geneva (Switzerland): ISO; 2012.
6. **CLSI.** Statistical Quality Control Based for Quantitative Measurement Procedure; approved guideline. CLSI document C24-A3. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2006.
7. **Person NB.** Developing risk-based quality control plans: an overview of CLSI EP23-A. Clin Lab Med 2013, 33:15-26.
8. **Wesgard JO.** Perspective on quality control, risk management and analytical quality management. Clin Lab Med 2013, 33: 1-14.

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ AFP, AFP-L3, DCP (PIVKA-II) TRONG CHẨN ĐOÁN VÀ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN

Tôn Thất Ngọc¹, Phạm Thiện Ngọc², Phạm Như Hiệp¹,
Nguyễn Thanh Xuân¹, Trần Hữu An¹

TÓM TẮT

Ung thư biểu mô tế bào gan là ung thư đứng thứ 5 trong các ung thư ác tính trên thế giới và đứng hàng thứ 3 trong các nguyên nhân liên quan đến tử vong. Các chỉ điểm ung thư gan mới đã cho thấy có giá trị và sự cần thiết trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan. **Mục tiêu:** Xác định độ nhạy, độ đặc hiệu và khảo sát sự biến đổi nồng độ của AFP, AFP-L3 và DCP (PIVKA-II) huyết thanh trước và sau điều trị. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang kết hợp tiền cứu, trên 70 bệnh nhân chẩn đoán xác định HCC, 70 bệnh nhân viêm gan mạn, xơ gan và 70 bệnh nhân là người bình thường khỏe mạnh. Số liệu được xử lý trên phần mềm Medcalc 11.0; **Kết quả:** các chỉ điểm có giá trị trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan với độ nhạy, độ đặc hiệu (Se, Sp, AUC): AFP (88,6%; 58,6%; 0,768); AFP-L3 (72,9%; 78,6%; 0,793); DCP (PIVKA II): (82,9%; 84,3%; 0,844). **Kết luận:** Độ nhạy, độ đặc hiệu của AFP, AFP-L3 và DCP (PIVKA-II) trong chẩn đoán HCC là cao và có thể sử dụng các chỉ điểm này để theo dõi điều trị.

Từ khóa: Ung thư gan, AFP, AFP-L3, DCP (PIVKAII).

SUMMARY

RESEARCH ON VALUE OF AFP, AFP-L3, DCP(PIVKA-II) IN THE DIAGNOSIS AND TREATMENT OF HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the 5th leading cancer among malignant cancers in the world and the 3rd cause of cancer-related death. The new markers of liver cancer have shown value and necessity in the diagnosis of HCC. **Objective:** Determine the sensitivity, specificity, investigation of variation in serum concentration of AFP, AFP-L3, DCP (PIVKA-II) before and after treatment. **Subjects and methods:** Cross-sectional descriptive study combined with prospective study, 70 patients with a definitive diagnosis of HCC, 70 patients with chronic hepatitis, cirrhosis and 70 normal healthy people. Data are processed on Medcalc 11.0 software; **Results:** markers have value in the diagnosis of HCC with sensitivity and specificity (Se, Sp, AUC): AFP (88.6%; 58.6%; 0.768); AFP-L3 (72.9%; 78.6%; 0.793); DCP (PIVKA II): (82.9%; 84.3%; 0.844). **Conclusion:** The sensitivity and specificity of AFP, AFP-L3, and DCP (PIVKA-II) in the diagnosis of HCC are high and these markers can be used for monitoring treatment.

Keywords: Liver cancer, AFP, AFP-L3, DCP (PIVKAII).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư gan là một trong các bệnh lý ác tính phổ biến trên thế giới. Bệnh gần như

¹Bệnh viện TW Huế

²Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Tôn Thất Ngọc

Email: ngoc08062002@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

không có triệu chứng rõ ràng trên lâm sàng, khó chẩn đoán ở giai đoạn sớm, bệnh thường được phát hiện muộn, tiên lượng xấu, do đó tỷ lệ tử vong rất cao và tử vong trong một thời gian ngắn kể từ khi phát hiện được bệnh. Theo dữ liệu Globocan 2018, ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) đứng vị thứ 6 trong các loại ung thư và nguyên nhân đứng thứ tư dẫn đến tử vong do ung thư, với khoảng 841.080 ca mới mắc chiếm tỉ lệ 4,7%. Hiện nay hầu hết bệnh nhân ung thư gan được phát hiện ở giai đoạn tiến triển nên hiệu quả điều trị không cao trong khi chi phí điều trị rất lớn. Gần đây các nhà khoa học Nhật bản đã tìm ra hai chỉ điểm HCC mới là Alpha-Fetoprotein Lens 3 (AFP-L3), Des-gamma-Carboxy Prothrombin (PIVKA-II) làm tăng độ nhạy, độ đặc hiệu trong chẩn đoán, tiên lượng HCC. AFP-L3 đặc hiệu hơn AFP vì chỉ điểm này được sản xuất từ những tế bào gan ác tính. DCP(PIVKA-II) được hình thành từ một dạng bất thường của prothrombin tăng trong huyết thanh bệnh nhân HCC. Các nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra việc định lượng các chỉ điểm này giúp ích trong chẩn đoán, theo dõi điều trị HCC. Để đánh giá vai trò của các chỉ điểm trên trong chẩn đoán, đặc biệt để theo dõi điều trị HCC [1],[2],[3]. Do đó để góp phần vào chẩn đoán và theo dõi điều trị HCC chúng tôi thực hiện đề tài: “Nghiên cứu giá trị AFP, AFP-L3 và DCP(PIVKA-II) trong chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan” nhằm mục tiêu: Xác định độ nhạy, độ đặc hiệu của AFP, AFP-L3% huyết thanh và DCP (PIVKA-II) trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan. Khảo sát sự biến đổi nồng độ AFP, AFP-L3 và DCP(PIVKA-II) trước và sau điều trị ung thư biểu mô tế bào gan.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

2.1.1 Nhóm bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan

Gồm 70 bệnh nhân được chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan.

Tiêu chuẩn chọn bệnh: Khi tổn thương ở gan có một trong ba tiêu chuẩn sau:

- Hình ảnh điển hình của UTBMTBG trên CT scan bụng có cản quang hoặc MRI bụng có tương phản từ + AFP ≥ 400 ng/mL.

- Hình ảnh điển hình của UTBMTBG trên CT scan bụng có cản quang hoặc MRI bụng có tương phản từ + AFP tăng cao hơn bình thường (nhưng < 400 ng/mL) + có nhiễm HBV và/hoặc HCV. Có thể làm sinh thiết gan để chẩn đoán xác định nếu bác sĩ lâm sàng thấy cần thiết.

- Bệnh nhân thực hiện xét nghiệm đầy đủ trong suốt quá trình nghiên cứu

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân điều trị: có chỉ định điều trị của Bác sĩ lâm sàng và thực tế được điều trị.

- Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân không theo hết quá trình nghiên cứu

2.1.2. Nhóm chứng là người bình thường khỏe mạnh

- Chọn 70 người đến khám sức khỏe tại phòng khám Bệnh viện Trung ương Huế.

- Độ tuổi, giới tương ứng với nhóm bệnh

- Các chỉ số về hóa sinh gan: AST, ALT, Albumin ở trong giới hạn bình thường, HBsAg âm tính, Anti HCV âm tính.

- Trên siêu âm không có u gan, đồng ý tham gia nghiên cứu

2.1.3. Nhóm bệnh nhân: viêm gan virus B, C mạn tính và xơ gan

- Chọn 70 bệnh nhân viêm gan virus B, C mạn tính và xơ gan

Tiêu chuẩn chọn bệnh

+ Viêm gan virus B mạn tính:

HBsAg (+) > 6 tháng hoặc HBsAg (+) và Anti HBC IgG (+)

AST, ALT tăng từng đợt hoặc liên tục trên 6 tháng

Có bằng chứng tổn thương mô bệnh học tiến triển, xơ gan (được xác định bằng chỉ số APRI) mà không do căn nguyên khác: APRI $\geq 1,45$

+ Viêm gan virus C mạn tính: Anti HCV (+), thời gian mắc bệnh > 6 tháng

- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu
- Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân không theo hết quá trình nghiên cứu

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang kết hợp tiền cứu

2.3. Các bước tiến hành nghiên cứu

- Những bệnh nhân khám và điều trị tại Bệnh viện TW Huế, được chẩn đoán HCC và viêm gan mạn hoặc xơ gan. Nhóm HCC được điều trị bằng các phương pháp cắt gan, RFA, TOCE. Sau 1 tháng điều trị HCC, bệnh nhân được thực hiện các xét nghiệm AFP, AFP-L3, DCP(PIVKA-II), siêu âm và một số xét nghiệm khác.

- Các xét nghiệm được lấy mẫu 2ml huyết thanh, và được thực hiện tại Khoa Hóa Sinh Bệnh viện TW Huế, trên máy hóa sinh miễn dịch tự động Cobas 6000-Roche và máy Tas Wako i30 Nhật Bản. Các dữ liệu thu được sẽ phân tích trên phần mềm Medcalc 11.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm tuổi nhóm nghiên cứu

Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm bệnh và nhóm chứng được chỉ ra ở Bảng 3.1.

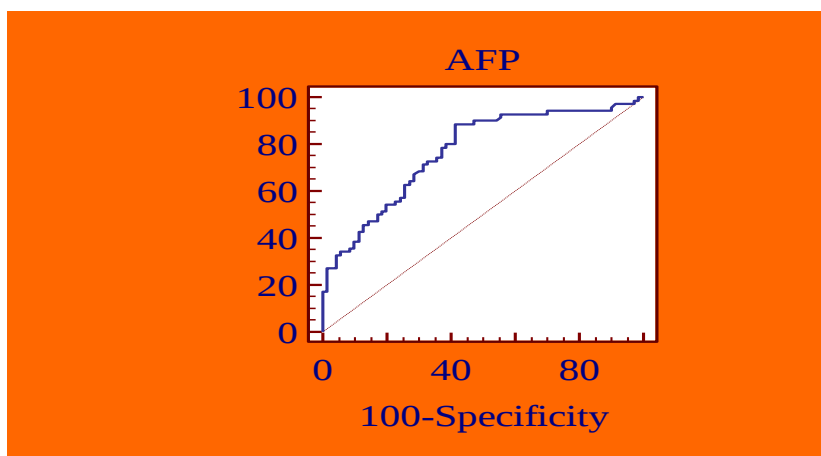
Bảng 3.1. Sự phân bố theo tuổi của nhóm bệnh và các nhóm chứng

Nhóm tuổi	Nhóm HCC (p ₀)		Nhóm người bình thường, khỏe mạnh (p ₁)		Nhóm viêm gan mạn, xơ gan (p ₂)	
	n	%	n	%	n	%
≤ 40	4	5,7	29	41,4	16	22,9
41 – 55	25	35,7	25	35,7	20	28,6
56 – 70	30	42,9	16	22,9	21	30,0
>70	11	15,7	0	0	13	18,5
Tổng	70	100	70	100	70	100
$\bar{X} \pm SD$	58,2 ± 10,7 Tuổi nhỏ nhất: 34 tuổi Tuổi lớn nhất: 78 tuổi		43,9±13,4 Tuổi nhỏ nhất: 20 tuổi Tuổi lớn nhất: 67 tuổi		54,7 ± 15,4 Tuổi nhỏ nhất: 19 tuổi Tuổi lớn nhất: 87 tuổi	
p	p ₍₀₋₁₎ <0,001; p ₍₀₋₂₎ > 0,05					

Bảng 3.1 cho thấy sự khác biệt về tuổi trung bình ở nhóm HCC với nhóm người bình thường, khỏe mạnh có ý nghĩa thống kê rất rõ rệt (p < 0,001).

3.2. Độ nhạy và độ đặc hiệu của chỉ điểm AFP trong chẩn đoán HCC

Độ nhạy và độ đặc hiệu của chỉ điểm AFP trong chẩn đoán HCC được chỉ ra ở Biểu đồ 3.1.



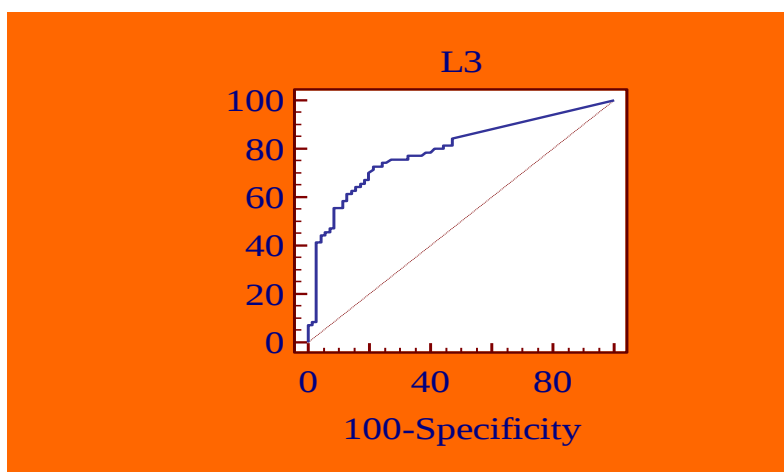
Độ nhạy: 88,6%; Độ đặc hiệu: 58,6%; Điểm cắt: >14,62 ng/mL; AUC: 0,768

Biểu đồ 3.1. Đường cong ROC biểu diễn độ nhạy, độ đặc hiệu của AFP chẩn đoán HCC

Như được chỉ ra ở Biểu đồ 3.1, ở điểm cắt AFP >14,62 ng/mL độ nhạy của AFP là 88,6%; độ đặc hiệu là 58,6%, diện tích dưới đường cong AUC= 0,768.

3.3. Độ nhạy, độ đặc hiệu của chỉ điểm AFP-L3 trong chẩn đoán HCC

Độ nhạy và độ đặc hiệu của chỉ điểm AFP-L3 trong chẩn đoán HCC được chỉ ra ở Biểu đồ 3.2.



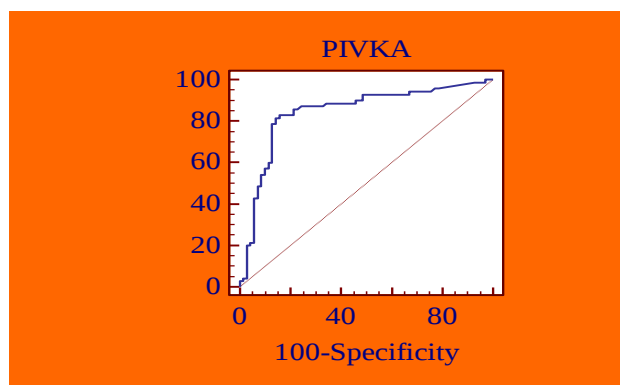
Độ nhạy: 72,9%; Độ đặc hiệu: 78,6%; Điểm cắt: >10,5%; AUC: 0,793

Biểu đồ 3.2. Đường cong ROC biểu diễn độ nhạy, độ đặc hiệu của AFP-L3 trong chẩn đoán ung thư gan

Như được chỉ ra ở biểu đồ 3.2, ở điểm cắt AFP-L3 >10,5% độ nhạy là 72,9%; độ đặc hiệu là 78,6%; diện tích dưới đường cong AUC= 0,793.

3.4. Độ nhạy, độ đặc hiệu của chỉ điểm DCP(PIVKA II) trong chẩn đoán HCC

Độ nhạy và độ đặc hiệu của chỉ điểm DCP(PIVKA II) trong chẩn đoán HCC được chỉ ra ở Biểu đồ 3.3.



Độ nhạy: 82,9%; Độ đặc hiệu: 84,3%; Điểm cắt: >45 mAU/mL; AUC: 0,844

Biểu đồ 3.3. Đường cong ROC biểu diễn độ nhạy, độ đặc hiệu của DCP(PIVKA II) chẩn đoán HCC

Biểu đồ 3.3 cho thấy ở điểm cắt DCP(PIVKA II) >45mAU/mL thì độ nhạy trong chẩn đoán HCC là 82,9%, độ đặc hiệu 84,3% và diện tích dưới đường cong AUC=0,844.

3.5. Sự biến đổi nồng độ AFP, AFPL-3, DCP(PIVKA II) huyết thanh trước và sau điều trị HCC một tháng

Sự thay đổi nồng độ AFP, AFPL-3, DCP(PIVKA II) huyết thanh trước và sau điều trị HCC được chỉ ra ở Bảng 3.2

Bảng 3.2. Sự biến đổi nồng độ AFP, AFPL-3, DCP(PIVKA II) huyết thanh trước và sau điều trị HCC

Xét nghiệm	Trước điều trị ($\bar{X} \pm SD$)	Sau điều trị ($\bar{X} \pm SD$)	P
AFP (ng/mL)	3977,1 $\pm$ 15501	1222,4 $\pm$ 2881,9	0,006
AFP-L3 (%)	32,16 $\pm$ 27,8	23,43 $\pm$ 24,5	0,0015
DCP (PIVKA II) (mAU/mL)	831,5 $\pm$ 1086,6	620,6 $\pm$ 910,3	0,0499

Như được chỉ ra ở Bảng 3.2, sự biến đổi (giảm) nồng độ trung bình trước và sau điều trị 1 tháng của các chỉ điểm AFP, AFP-L3, DCP (PIVKA II) huyết thanh có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.6. Nồng độ các chỉ điểm huyết thanh trước và sau điều trị của ba phương pháp

Sự thay đổi nồng độ các chỉ điểm AFP, AFP-L3, DCP (PIVKA II) được chỉ ra ở Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Nồng độ huyết thanh của các chỉ điểm trước và sau điều trị của ba phương pháp

Phương pháp điều trị	Xét nghiệm	Trước điều trị ($\bar{X} \pm SD$), Trung vị	Sau điều trị ($\bar{X} \pm SD$), Trung vị	P
RFA (n=29)	AFP (ng/mL)	1459,7 $\pm$ 2490 182,1	878,3 $\pm$ 1380,7 151,2	0,205
	AFP-L3 (%)	28,8 $\pm$ 28,7 17,2	17,7 $\pm$ 21,4 7,6	0,014

	DCP (PIVKAI) (mAU/mL)	665,2±758,9 412	674,6±1143,8 154	0,187
Cắt gan (n=25)	AFP (ng/mL)	6933,3±24898,8 71,4	670,3±1068,3 73,8	0,002
	AFP-L3 (%)	35,2±27,8 35,1	29,6±29,3 22,6	0,177
	DCP (PIVKAI) (mAU/mL)	1163,2±1499,2 717	388,9±555,1 120	0,008
TOCE (n=16)	AFP (ng/mL)	3920,6±8659,1 518,2	2708,7±5452,3 1582,5	0,175
	AFP-L3 (%)	33,2±27,1 35,3	23,9±20,1 24,8	0,083
	DCP (PIVKAI) (mAU/mL)	632,7±688,7 500	885±840,7 933	0,463

Kết quả ở Bảng 3.2 cho thấy:

+ Sự khác biệt của AFP-L3 % huyết thanh trước và sau điều trị RFA có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

+ Nồng độ AFP và DCP(PIVKA II) huyết thanh trước và sau điều trị có khác biệt tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

+ Sự biến đổi nồng độ trung bình của AFP huyết thanh và trước và sau điều trị của 2 chỉ điểm AFP, và DCP (PIVKA II) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

+ Nồng độ AFP và AFP-L3 % huyết thanh sau điều trị 1 tháng có giảm so với trước điều trị, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Phân bố theo tuổi ở nhóm bệnh và các nhóm chứng

Ung thư biểu mô tế bào gan có thể xảy ra ở mọi lứa tuổi, nhưng tỷ lệ càng tăng dần khi tuổi càng cao. Ở bảng 3.1 nghiên cứu của

chúng tôi tiến hành trên 70 bệnh nhân ung thư gan, nhóm tuổi bị ung thư gan chiếm tỉ lệ cao nhất là nhóm từ 56-70 tuổi, chiếm tỉ lệ 42,9%, tiếp theo là nhóm có độ tuổi từ 41-55 tuổi, chiếm tỷ lệ 35,7%; tuổi trung bình của nhóm HCC là $58,2 \pm 10,8$ tuổi. Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương tự như một số nghiên cứu của các tác giả trong nước và các tác giả nước ngoài, bệnh nhân có lứa tuổi khá đa dạng với những bệnh nhân lớn tuổi và bệnh nhân có độ tuổi khá trẻ chỉ 34 tuổi, như nghiên cứu của Lê Trọng Quý năm 2013 khi nghiên cứu trên 65 bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan tại Bệnh viện Thống Nhất Thành phố Hồ Chí Minh thì bệnh nhân ung thư gan có độ tuổi từ 56-70 tuổi, chiếm tỷ lệ cao nhất 46,2%; nhóm bệnh nhân có độ tuổi từ 40-55 và nhóm trên 70 tuổi có tỉ lệ thấp hơn, tương ứng 27,7% và 26,1%. Theo Thái Doãn Kỳ nghiên cứu 105 bệnh nhân HCC thì nhóm tuổi 51-70 có 58 trường hợp, chiếm tỷ lệ cao nhất (55,2%), tiếp đến là nhóm có độ tuổi từ 31-50 tuổi có 30 bệnh nhân, chiếm tỉ

lệ 28,6%, tuổi trung bình nhóm nghiên cứu là $56,4 \pm 11,7$ tuổi.

4.2. Độ nhạy và độ đặc hiệu của AFP, AFP-L3, DCP(PIVKA-II) huyết thanh trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan

Ở biểu đồ 3.1 với điểm cắt AFP $>14,62$ ng/mL thì độ nhạy của AFP trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan là 88,6%; độ đặc hiệu là 58,6%, diện tích dưới đường cong AUC = 0,768. Chỉ điểm AFP đã được biết đến từ lâu với ý nghĩa dùng để góp phần chẩn đoán ung thư gan, tuy nhiên độ nhạy của xét nghiệm này chưa cao, vì nó còn tăng trong một số bệnh lý khác như viêm gan mạn, xơ gan. Theo nghiên cứu của một số tác giả khác như theo nghiên cứu của Wang X. và cộng sự khi nghiên cứu 113 bệnh nhân HCC và 161 bệnh nhân viêm gan mạn thì độ nhạy của AFP là 64,6% và độ đặc hiệu là 73,3% ở điểm cắt là 17,56ng/mL. Nghiên cứu của Phan Hà Minh và cộng sự trên 248 người đến khám tại Bệnh viện Đại học Cát Lâm, thì độ nhạy của AFP trong chẩn đoán ung thư gan là 85,7% và độ đặc hiệu 72,9%; giá trị tiên đoán dương tính 74,5%; giá trị tiên đoán âm tính 84,7% [4]. Theo Berhane và cộng sự khi nghiên cứu 1278 bệnh nhân ở Đức trong đó 275 bệnh nhân HCC và 1003 bệnh nhân viêm gan mạn. Với điểm cắt của AFP là 20ng/mL thì độ nhạy trong chẩn đoán ung thư gan là 56,7%; độ đặc hiệu 93,9% và diện tích dưới đường cong AUC = 0,87. Khi nghiên cứu ở Nhật Bản trên 4476 bệnh nhân trong đó 1514 bệnh nhân HCC và 2962 bệnh nhân viêm gan mạn thì độ nhạy AFP trong chẩn đoán ung thư gan 51,3%; độ đặc hiệu 97,3% và diện tích dưới đường cong AUC là 0,89; Những kết quả nghiên cứu của các tác giả trong nước cũng như nước ngoài đều tương tự nghiên cứu của chúng tôi, tuy nhiên

độ nhạy và độ đặc hiệu trong chẩn đoán HCC của AFP chưa cao nên ít sử dụng trong sàng lọc ung thư gan. Ở biểu đồ 3.2 ở điểm cắt AFP-L3 $>10,5\%$ độ nhạy của AFP-L3 trong chẩn đoán ung thư gan là 72,9% và độ đặc hiệu là 78,6% và diện tích dưới đường cong AUC = 0,793. Theo tác giả Caviglia G. P. và cộng sự thì độ nhạy của AFP-L3% trong chẩn đoán ung thư gan là 84,9%; độ đặc hiệu là 88,6%; giá trị tiên đoán dương tính 90,0%; giá trị tiên đoán âm tính 83,0%; và diện tích dưới đường cong AUC là 0,867. Theo Phan Hà Minh và cộng sự thì độ nhạy của AFP-L3 trong chẩn đoán ung thư gan là thấp hơn (58%) tuy nhiên độ đặc hiệu lại cao hơn 84,2%. Theo nghiên cứu của Park S.J. và cộng sự thì độ nhạy của AFP-L3 là 50,63% và độ đặc hiệu là 83,12%; diện tích dưới đường cong là AUC = 0,669. Theo nghiên cứu của Choi J Y. và cộng sự thì trong chẩn đoán ung thư gan AFP có độ nhạy 67,8% và độ đặc hiệu 93,6% ở điểm cắt AFP-L3 $>10\%$ [5]. Ở biểu đồ 3.3 với điểm cắt DCP (PIVKA II) >45 mAU/mL huyết thanh cho độ nhạy chẩn đoán HCC của chỉ điểm là 82,9% và độ đặc hiệu là 84,3% và AUC = 0,844. Theo nghiên cứu của Choi J Y. và cộng sự thì ở điểm cắt DCP(PIVKA II) >40 AU/L độ nhạy, độ đặc hiệu của DCP (PIVKA II) trong chẩn đoán HCC là 62,2% và 94,9%. Theo nghiên cứu của Seo S.I. và cộng sự khi nghiên cứu 1255 bệnh nhân trong đó 879 bệnh nhân viêm gan mạn không xơ gan và 219 bệnh nhân xơ gan không HCC và 157 bệnh nhân HCC; với điểm cắt DCP (PIVKA II) >40 mAU/mL huyết thanh thì độ nhạy của DCP (PIVKA II) trong chẩn đoán ung thư gan là 73,9% và độ đặc hiệu là 89,7%. Một nghiên cứu khác của Caviglia G.P. và cộng sự trên 98 bệnh nhân, với điểm cắt DCP (PIVKA II) $>33,3$ mAU/mL huyết

thanh, thì cho độ nhạy 77,8%; độ đặc hiệu 90,9% và diện tích dưới đường cong là AUC = 0,870 [6].

4.3. Nồng độ các chỉ điểm máu trước và sau điều trị của ba phương pháp

Ở bảng 3.3 khi điều trị HCC bằng phương pháp RFA thì sự khác biệt về thành phần phần trăm của AFP-L3 trước điều trị và sau điều trị có ý nghĩa thống kê ($28,8 \pm 28,7\%$ và $17,7 \pm 21,4\%$; $p=0,014$). Và nồng độ trung bình của AFP và DCP (PIVKA II) huyết thanh trước và sau điều trị có khác biệt tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Đối với phương pháp điều trị HCC bằng cắt gan thì sự biến đổi nồng độ trung bình của AFP và trước và sau điều trị của hai chỉ điểm AFP, và DCP (PIVKA II) khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Theo nghiên cứu của Toyoda H., và cộng sự khi nghiên cứu sự thay đổi độ nhạy cao của AFP về hiệu quả dự đoán những bệnh nhân ung thư gan sau cắt gan được thực hiện trên 187 bệnh nhân. Những bệnh nhân này được thực hiện xét nghiệm AFP, AFP-L3, DCP (PIVKA II) trước và sau điều trị và khi so sánh sự thay đổi phần trăm với nồng độ chỉ điểm ung thư gan trước và sau khi cắt gan thì có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,0001$); giữa trước và sau khi cắt gan đối với chỉ điểm AFP $\geq 20\text{ng/mL}$ huyết thanh (AFP, 35,8% trước cắt gan và 16,6% AFP $\geq 20\text{ ng/mL}$ huyết thanh sau cắt gan). Khi DCP $\geq 40\text{mAU/mL}$ huyết thanh thì có 50,3% trường hợp trước cắt gan, và sau cắt gan DCP giảm còn 7% trường hợp, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Với AFP-L3 thì có 19,8% AFP-L3 $\geq 10\%$ trước cắt gan, sau cắt gan AFP-L3 còn 7% trường hợp AFP-L3 $>10\%$ ($p<0,001$). Theo tác giả Ma W. J., và cộng sự khi nghiên cứu 108 bệnh nhân HCC và các bệnh nhân này được xét nghiệm AFP trước và sau điều trị HCC một tháng bằng phương pháp cắt

gan, được chia làm 3 nhóm, nhóm âm tính khi nồng độ chỉ điểm AFP $\leq 20\text{ ng/mL}$ huyết thanh có 41 trường hợp; nhóm thấp khi nồng độ AFP từ 20-400ng/mL huyết thanh có 28 trường hợp. Và nhóm cao khi AFP $>400\text{ ng/mL}$ có 39 trường hợp. Thì mức độ khác biệt về tế bào và sự xâm lấn vi mạch ở cả ba nhóm có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$). Nhiều thuật toán hồi quy được sử dụng trong nghiên cứu chỉ ra rằng đường kính khối u lớn hơn 5cm và nồng độ AFP cao hơn 400ng/mL là tương quan chặt với tỉ lệ sống sót sau mổ HCC. Ngoài ra nghiên cứu chỉ ra rằng mức AFP huyết thanh trước phẫu thuật được xem là có giá trị dự đoán đặc điểm ác tính và tiên lượng ung thư gan. Ngoài ra những bệnh nhân HCC không có chống chỉ định phẫu thuật và AFP $<20\text{ ng/mL}$ huyết thanh có thể có lợi hầu hết các trường hợp ung thư gan nguyên phát được điều trị cắt gan. Trong khi các trường hợp bệnh nhân ung thư gan với AFP huyết thanh $>20\text{ ng/mL}$ thì cần thêm liệu pháp điều trị bên cạnh phẫu thuật cắt gan. Đối với phương pháp điều trị HCC bằng TOCE thì nồng độ AFP và thành phần phần trăm AFP-L3 sau điều trị 1 tháng có giảm so với trước điều trị, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$). Thành phần phần trăm AFP-L3 sau điều trị thấp hơn trước điều trị, tuy nhiên sự giảm chưa có ý nghĩa thống kê [7].

V. KẾT LUẬN

Chỉ điểm AFP, AFP-L3 và DCP(PIVKA-II) có độ nhạy và độ đặc hiệu cao trong chẩn đoán HCC và các chỉ điểm này có giá trị trong theo dõi điều trị HCC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F., et al (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in

- 185 countries. CA: a cancer journal for clinicians, 68(6), 394-424.
2. **Gomes M.A., et al (2013).** Hepatocellular carcinoma: epidemiology, biology, diagnosis, and therapies. Revista da Associação Médica Brasileira (English Edition), 59(5), 514-524.
 3. **Tsuchiya N., et al (2015).** Biomarkers for the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. World journal of gastroenterology: WJG, 21(37), 10573-10579.
 4. **Kumada T., et al (2014).** High-sensitivity Lens culinaris agglutinin-reactive alpha-fetoprotein assay predicts early detection of hepatocellular carcinoma. Journal of gastroenterology, 49(3), 555-563.
 5. **Caviglia G.P., et al (2016).** Highly sensitive alpha-fetoprotein, Lens culinaris agglutinin reactive fraction of alpha-fetoprotein and des gamma carboxyprothrombin for hepatocellular carcinoma detection. Hepatology Research, 46(3), 130-135.
 6. **Choi J.Y., et al (2013).** Diagnostic value of AFP-L3 and PIVKA-II in hepatocellular carcinoma according to total-AFP. World Journal of Gastroenterology, 19(3), 339-346.
 7. **Toyoda H., et al (2012).** Novel method to measure serum levels of desgamma-carboxy prothrombin for hepatocellular carcinoma in patients taking warfarin: A preliminary report. Cancer science, 103(5), 921-925.

GIÁ TRỊ CỦA XÉT NGHIỆM HUMAN TELOMERASE REVERSE TRANSCRIPTASE MESSENGER RNA (hTERT mRNA) VÀ CHỈ SỐ GALAD TRONG CHẨN ĐOÁN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN

Nguyễn Thị Băng Sương*/**, Nguyễn Hữu Huy**,
Võ Thanh Thanh**, Nguyễn Hoàng Bắc*/**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá giá trị lâm sàng của hTERT mRNA so với chỉ số GALAD trong chẩn đoán HCC.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 170 bệnh nhân bị HCC, 170 bệnh nhân bị viêm gan mạn tính, chúng tôi đã so sánh giá trị xét nghiệm hTERT mRNA và chỉ số GALAD để xác định bệnh nhân bị HCC bằng phương pháp phân tích

đường cong ROC và tính diện tích dưới đường cong.

Kết quả: Độ nhạy /độ đặc hiệu của hTERT mRNA và chỉ số GALAD trong chẩn đoán HCC là 88%/96% và 96%/70%. hTERT mRNA và chỉ số GALAD tỏ ra vượt trội so với AFP, AFP-L3% và DCP trong chẩn đoán HCC.

Kết luận: Vai trò của hTERT mRNA và chỉ số GALAD trong chẩn đoán HCC và sự vượt trội so với các chỉ dấu ung thư đơn lẻ đã được chứng minh. Do đó, định lượng hTERT mRNA huyết thanh và chỉ số GALAD là những chỉ dấu mới và sẵn có để chẩn đoán HCC.

Từ khóa: hTERT mRNA, chỉ số GALAD, AFP, AFP-L3%, DCP, HCC

*Đại học Y Dược TP. HCM.

**Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Băng Sương
Email: suongnguyenmd@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

SUMMARY

**HUMAN TELOMERASE REVERSE
TRANSCRIPTASE MESSENGER RNA
(hTERT mRNA) FOR
HEPATOCELLULAR CARCINOMA
DETECTION IN COMPARISON WITH
GALAD SCORE**

Objective: The goal of this study was to evaluate the clinical value of hTERT-mRNA for hepatocellular carcinoma detection in comparison with GALAD score.

Patients and Methods: In 170 patients with HCC, 170 patients with chronic hepatitis, we compared the performance of serum hTERT mRNA vs GALAD score to identify patients with HCC using receiver operating characteristic curves and corresponding area under the curve (AUC) analyses.

Results: The sensitivity/specificity of hTERT mRNA and GALAD score in HCC diagnosis was 88%/96% and 96%/70%.. hTERT mRNA and GALAD score proved to be superior to AFP, AFP-L3%, and des- γ -carboxy prothrombin in HCC diagnosis.

Conclusions: The usefulness of hTERT mRNA expression and GALAD score in HCC diagnosis and its superiority to single tumor markers were shown. Therefore, serum hTERT mRNA and GALAD score is novel and available markers for HCC diagnosis.

Keywords: hTERT mRNA, GALAD score, AFP, AFP-L3%, DCP, HCC

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư biểu mô tế bào gan (hepatocellular carcinoma: HCC) là loại ung thư chủ yếu của ung thư gan và là nguyên nhân dẫn đến 1/3 số ca tử vong do ung thư trên thế giới. Theo Globocan 2018, HCC là bệnh ung thư có tỷ lệ mới mắc và tử vong hàng đầu tại Việt Nam với số mới mắc: 25.335 (16,45%) và số tử vong: 25.404 (23,48%) [2]. Việt Nam ở vùng dịch tễ viêm

gan siêu vi B, C. Tỷ lệ tử vong do ung thư gan cao thường do được phát hiện muộn vì thể cải thiện dự phòng, chẩn đoán sớm ung thư gan là rất cần thiết để nâng cao hiệu quả điều trị. Trước đây, chiến lược sàng lọc nhằm phát hiện sớm HCC gồm việc đo mức độ α -fetoprotein (AFP) huyết thanh và siêu âm ổ bụng 3 - 6 tháng một lần. Tuy nhiên, do mức độ AFP huyết thanh có độ nhạy và độ đặc hiệu chẩn đoán ung thư gan thấp nên hiện nay, để phát hiện sớm, chẩn đoán phân biệt, theo dõi hiệu quả điều trị, tái phát và tiên lượng ung thư biểu mô tế bào gan, cần sử dụng bộ ba xét nghiệm gồm AFP, AFP-L3 và DCP.

GALAD là một mô hình toán phân tích đa biến (multivariate analyse model) dựa trên 5 thông số, gồm ba dấu ấn khối u AFP, AFP-L3 và DCP, cộng thêm với giới tính (Gender) và tuổi (Age), kết hợp với một phần mềm chuyên dụng, có thể được sử dụng để phát hiện ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) ở giai đoạn sớm. Từ số điểm GALAD (GALAD Score), xác suất ung thư biểu mô tế bào gan (probability of HCC) có thể được tính toán ở giai đoạn sớm với độ nhạy và độ đặc hiệu 91,6%/89,7% tại Anh, tương tự 81,4%/89,1% tại Nhật Bản cũng như 88,4%/88,2% tại Đức cao hơn hẳn khi chỉ sử dụng từng dấu ấn sinh học AFP, AFP-L3, DCP [1]. Bên cạnh các chỉ dấu sinh hóa, miễn dịch thì một nhóm các chỉ dấu ung thư mới có vai trò ngày càng quan trọng đó là nhóm DNA và mRNA xuất phát từ khối u hiện diện trong huyết thanh của bệnh nhân. Chính vì vậy sử dụng phương pháp real-time RT-PCR để định lượng hTERT mRNA trong máu được đánh giá là một phương pháp nhạy để phát hiện HCC ở bệnh nhân có lượng AFP thấp. Theo nghiên cứu của El-Mazny và cộng sự (2014), với giá trị cắt là (>144

copy/ml) thì xét nghiệm hTERT mRNA có độ nhạy là 77,14% và độ đặc hiệu là 100% trong chẩn đoán 27 bệnh nhân UTBMTBG [4]. Tại Việt Nam, đã có nhiều công trình nghiên cứu về ung thư gan, nhưng tập trung chủ yếu về khía cạnh dịch tễ học, chẩn đoán mô bệnh học và phương pháp điều trị. Nghiên cứu các chỉ dấu ung thư để tầm soát ung thư gan hiện chưa được nghiên cứu nhiều. Xuất phát từ thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “*Giá trị của xét nghiệm Human telomerase reverse transcriptase messenger rna (hTERT mRNA) và chỉ số GALAD trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan*”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang mô tả

Đối tượng nghiên cứu

Trong khoảng thời gian từ tháng 04 năm 2018 đến tháng 12 năm 2019, chúng tôi thu thập (khảo sát) được 340 trường hợp đưa vào 2 nhóm nghiên cứu gồm nhóm UTBMTBG (n = 170) và nhóm BGM (n = 170).

Chuẩn bị bệnh nhân: Thăm khám lâm sàng, cận lâm sàng

Bệnh nhân được điều tra một số yếu tố

dịch tễ học, làm các xét nghiệm cận lâm sàng. Bệnh nhân được chẩn đoán ung thư gan bằng chẩn đoán hình ảnh và kết quả tế bào học

Thực hiện xét nghiệm hTERT mRNA, AFP, AFP-L3% và DCP

Định lượng nồng độ hTERT mRNA bằng phương pháp Realtime RT-PCR. Định lượng AFP, AFP-L3% và DCP bằng hệ thống μ TASWako® i30 sử dụng phương pháp (Liquid-phase binding assay) điện di mao quản vi chip.

GALAD được tính toán dựa trên 5 thông số, gồm ba dấu ấn khối u AFP, AFP-L3 và DCP cộng thêm với giới tính (Gender) và tuổi (Age), sử dụng phương trình sau: $Z = -10,08 + 0,09 \times \text{Tuổi} + 1,67 \times \text{Giới tính} + 2,34 \log_{10}(\text{AFP}) + 0,04 \times \text{AFP-L3} + 1,33 \times \log_{10}(\text{DCP})$,

Ở đây giới tính nam = 1 và giới tính nữ = 0. Lấy số mũ (exponential) của yếu tố dự báo tuyến tính (Z), dự đoán HCC $\text{Pr}(\text{HCC})$ ở bệnh nhân (xếp từ 0 đến 1) được đánh giá bằng phương trình: $\text{Pr}(\text{HCC}) = \exp(Z) / (1 + \exp[Z])$.

Xử lý và phân tích số liệu. Sử dụng phần mềm SPSS version 20.0 cho các phân tích thống kê.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Đặc điểm nhân khẩu học nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Tuổi của bệnh nhân ở các nhóm nghiên cứu

	Nhóm UTBMTBG (n = 170)	Nhóm BGM (n = 170)	Giá trị p
Tuổi *	59.8 ± 11.3	46.5 ± 13.8	0,0001
Tuổi nhỏ nhất	26	22	
Tuổi lớn nhất	97	103	

Kiểm định t độc lập

* trung bình ± độ lệch chuẩn

Nhận xét: Kết quả cho thấy, nhóm UTBMTBG có độ tuổi trung bình là 59.8 ± 11.3 cao hơn so với nhóm BGM là 46.5 ± 13.8 , $p < 0,0001$. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân UTBMTBG có tuổi trung bình 59.8 ± 11.3 phù hợp với nghiên cứu Thái Doãn Kỳ và cộng sự (2015) có tuổi trung bình 56.4 ± 11.7 [6]; Hann HW. et al

(2014) là 59.1 ± 10.3 [5]. Nhóm BGM có tuổi trung bình là 46.5 ± 13.8 cũng phù hợp với nghiên cứu các tác giả trên. Chúng tôi nhận thấy tuổi trung bình ở hai nhóm nghiên cứu phù hợp với tiến trình diễn biến tự nhiên của bệnh từ viêm gan, xơ gan đến UTBMTBG khoảng 10 – 15 năm.

Bảng 1. Phân bố giới của bệnh nhân ở các nhóm nghiên cứu

	Nhóm UTBMTBG (n = 170) n (%)	Nhóm BGM (n = 170) n (%)	Giá trị p
Nam	136 (80.0)	90 (52.9)	<0.0001
Nữ	34 (20.0)	80 (47.1)	

Kiểm định Chi bình phương

Nhận xét: Kết quả cho thấy tỷ lệ giới nam chiếm đa số hơn giới nữ ở cả hai nhóm, tỷ lệ nam/nữ ở nhóm UTBMTBG và BGM lần lượt là $136/34 = 4$ và $90/80 = 1,12$. Sự khác biệt giữa hai nhóm về phân bố theo giới tính là có ý nghĩa thống kê ($p < 0.001$). Nhóm

UTBMTBG của nghiên cứu chúng tôi có tỷ lệ giới nam chiếm ưu thế hơn giới nữ khá tương đồng với nghiên cứu của Hann HW. et al (2014) thì tỷ lệ nam/nữ ở nhóm UTBMTBG và nhóm BGM lần lượt là $25(83\%)/5(17\%)$ và $69(65\%)/37(35\%)$ [5].

2. Đặc điểm khối u gan ở nhóm UTBMTBG

Bảng 3. Phân bố theo đặc điểm khối u gan ở nhóm UTBMTBG (n = 170)

Đặc điểm khối u	Số lượng	Tỷ lệ %
Vị trí		
Thùy phải	111	65,3
Thùy trái	21	12,3
Cả hai thùy	38	22,4
Số lượng u		
1 u	100	58,8
≥ 2 u	70	41,2
Kích thước (cm)		
< 2	44	25,9
2 – 5	70	41,2
> 5	56	32,9
Giai đoạn BCLC		
0 & A	92	54,1
B, C, D	78	45,9

Nhận xét: Qua bảng 3 về đặc điểm khối u gan ở bệnh nhân UTBMTBG, chúng tôi nhận thấy đa số bệnh nhân có khối u ở thùy phải (65,33%), một u (58,8%), kích thước chủ yếu ≤ 5 cm (67,1%) và giai đoạn BCLC 0&A (54,1%). Gần đây, có nhiều hệ thống phân chia giai đoạn UTTBG khác được đưa ra như: BCLC (Barcelona Clinic Liver Cancer) của Tây Ban Nha, JIS (Japan Integrated Staging Score) của Nhật Bản, CLIP (Cancer of the Liver Italian Program) của Ý. Chúng tôi lựa chọn hệ thống phân loại ung thư gan theo BCLC áp dụng trong nghiên cứu phân loại ung thư gan dựa vào 3 tiêu chí: đặc điểm khối u (kích thước, số lượng, xâm lấn xung quanh), chức năng gan (Child-Pugh); và thể trạng chung PTS (performance status) giúp liên kết

các giai đoạn bệnh với phương pháp điều trị thích hợp. Nghiên cứu của tác giả Đậu Quang Liêu (2017) với $n = 45$ cũng có các đặc điểm về khối u gan ở bệnh nhân UTBMTBG tương đồng với nghiên cứu chúng tôi như khối u chủ yếu ở thùy phải (82,22%), 1 ổ (75,55%), và kích thước khối u < 5 cm (62,22%) [7]. Tương tự, nghiên cứu của Thái Doãn Kỳ (2015) với $n = 105$ cũng có đặc điểm khối u đa số ở thùy phải (90,5%), 1 ổ (57,1%), kích thước u > 5 cm (87,6%) [6]. Chúng tôi nhận thấy việc phát hiện khối u gan ở giai đoạn sớm khi kích thước khối u < 5 cm ngày càng tăng, điều này cho thấy hiện nay nhận thức về ung thư gan của người dân đã có nhiều cải thiện, các biện pháp tầm soát đã được ứng dụng rộng rãi hơn nên tỷ lệ ung thư phát hiện ở giai đoạn trễ giảm đi.

3. Kết quả về nồng độ AFP, AFP-L3, DCP, hTERT mRNA và chỉ số GALAD ở các nhóm nghiên cứu

Bảng 4. Nồng độ AFP, AFP-L3, DCP, hTERT mRNA và chỉ số GALAD ở nhóm UTBMTBG và nhóm BGM

	Nhóm UTBMTBG (n = 170)	Nhóm BGM (n = 170)	Giá trị p
AFP* (ng/mL)	33 (5,60– 347,95)	1,95 (1,30 – 2,90)	$< 0,0001$
AFP-L3* (%)	7,5 (0,5– 39,8)	0,5 (0,5 – 05)	$< 0,0001$
DCP* (mAU/mL)	206,94 (42– 3790)	16 (12,75 – 20)	$< 0,0001$
hTERT mRNA* (bản sao/mL)	1610 (498,5– 3927,5)	0,0 (0,0 – 0,0)	$< 0,0001$
GALAD	-2.55 (-3.99 – -1.3.1)	4.09 (2.02 – 8.3)	$< 0,0001$

Kiểm định MannWhitney

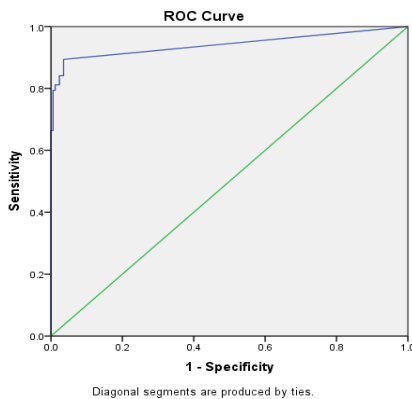
*trung vị (khoảng tứ phân vị)

Nhận xét: Bảng 4 cho thấy nồng độ trung vị AFP, AFP-L3, DCP, hTERT mRNA và chỉ số GALAD ở nhóm UTBMTBG cao hơn hẳn nhóm BGM. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Jan Best và cộng sự

(2019) trên 125 bệnh nhân có HCC và 231 bệnh nhân gan nhiễm mỡ không do rượu cũng ghi nhận chỉ số GALAD ở nhóm bệnh nhân HCC là 2.93 (0.77, 7.62) trong khi đó ở nhóm đối chứng là -3.96 (-5.22, -2.6) [1].

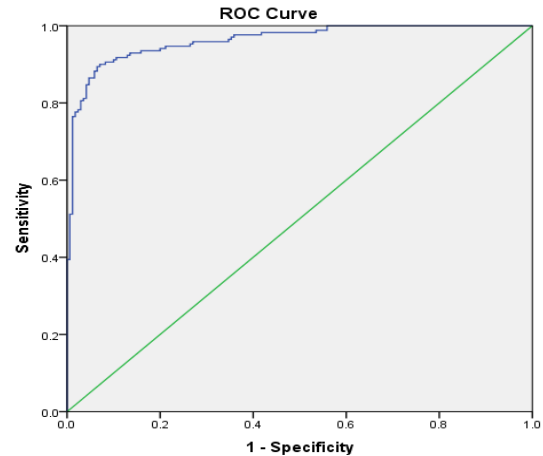
Nồng độ trung vị hTERT mRNA ở nhóm UTBMTBG cao hơn hẳn nhóm BGM ($p < 0,0001$) tương đồng với nghiên cứu của El-Mazny và cộng sự (2014), nồng độ hTERT mRNA có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm UTBMTBG ($200,03 \pm 35,3$ bản sao/mL) và nhóm BGM ($84,3 \pm 27,3$ bản sao/mL) [4]. Tuy nhiên kết quả của chúng tôi cho thấy hTERT hầu như chỉ dương tính ở nhóm nghiên cứu còn tác giả El-Mazny và cộng sự (2014) vẫn có ghi nhận tín hiệu ở nhóm BGM, điều này có thể giải thích do sự khác biệt về độ nhạy kỹ thuật của kit RealtimePCR giữa hai nghiên cứu.

4. Giá trị chẩn đoán UTBMTBG của chỉ số GALAD và hTERT mRNA



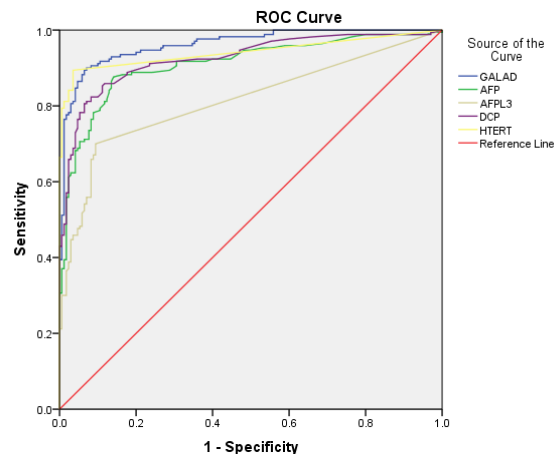
Hình 1. Đường cong ROC cho nồng độ hTERT mRNA để phân biệt giữa UTBMTBG và BGM với AUC = 0.942; $p < 0.05$

Nhận xét: Diện tích dưới đường cong ROC của hTERT mRNA là $0.942 > 0.5$ cho thấy xét nghiệm hTERT mRNA có giá trị trong việc phát hiện UTBMTBG trên bệnh nhân viêm gan mạn. Ngưỡng cắt tối ưu được xác định là 31.50 copies/mL của hTERT mRNA có độ nhạy (88%) và độ đặc hiệu (96%) tốt nhất cho chẩn đoán HCC. Giá trị ngưỡng cắt của chúng tôi thấp hơn so với ngưỡng cắt 144 copies/mL có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 77.14% và 100% của tác giả El-Mazny và cộng sự (2014)^[4].



Hình 2. Đường cong ROC cho chỉ số GALAD để phân biệt giữa UTBMTBG và BGM với AUC = 0.962; $p < 0.05$

Nhận xét: Diện tích dưới đường cong ROC của chỉ số GALAD là $0.962 > 0.5$ cho thấy chỉ số GALAD có giá trị trong việc phát hiện UTBMTBG trên bệnh nhân viêm gan mạn. Ngưỡng cắt tối ưu được xác định là của chỉ số GALAD là -1.92 có độ nhạy (96%) và độ đặc hiệu (70%) tốt nhất cho chẩn đoán HCC. Giá trị ngưỡng cắt của chúng tôi thấp hơn so với ngưỡng cắt -1.18 có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 92% và 79% của tác giả Ju Dong Yang và cộng sự (2019) [8].



Hình 3. Đường cong ROC cho AFP, AFP-L3, DCP, hTERT mRNA và chỉ số GALAD để phân biệt giữa UTBMTBG và BGM

Nhận xét: Khi so sánh với chỉ số AFP, AFP-L3, DCP riêng lẻ thì hTERT mRNA và chỉ số GALAD có giá trị trong việc phát hiện UTBMTBG cao hơn hẳn. Theo nghiên cứu của tác giả Caviglia và cộng sự (2016) cho thấy chỉ số GALAD có độ chính xác cao hơn AFP, AFP-L3, DCP hoặc sự kết hợp AFP, AFP-L3, DCP trong chẩn đoán sớm HCC [3].

V. KẾT LUẬN

Vai trò của hTERT mRNA và chỉ số GALAD trong chẩn đoán HCC và sự vượt trội so với các chỉ dấu ung thư đơn lẻ đã được chứng minh. Do đó, định lượng hTERT mRNA huyết thanh cùng chỉ số GALAD là những chỉ dấu mới và sẵn có để chẩn đoán HCC.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Best, J., et al. (2020).** "GALAD score detects early hepatocellular carcinoma in an international cohort of patients with nonalcoholic steatohepatitis." *Clinical Gastroenterology and Hepatology* 18(3): 728-735. e724.
2. **Bray, F., et al. (2018).** "Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries." *CA: a cancer journal for clinicians* 68(6): 394-424.
3. **Caviglia, G. P., et al. (2016).** "Highly sensitive alpha-fetoprotein, Lens culinaris agglutinin-reactive fraction of alpha-fetoprotein and des-gamma-carboxyprothrombin for hepatocellular carcinoma detection." *Hepatology Research* 46(3): E130-E135.
4. **El-Mazny, A., et al. (2014).** "Human telomerase reverse transcriptase messenger RNA (TERT mRNA) as a tumour marker for early detection of hepatocellular carcinoma." *Arab Journal of Gastroenterology* 15(2): 68-71.
5. **Hann, H.-W., et al. (2014).** "Usefulness of highly sensitive AFP-L3 and DCP in surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with a normal alpha-fetoprotein." *J Med Microb Diagn* 3(130): 2161-0703.1000130.
6. **Thái Doãn Kỳ (2015).** Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư biểu mô tế bào gan bằng phương pháp tắc mạch hóa chất sử dụng hạt vi cầu DC Beads Hà Nội, Viện nghiên cứu khoa học y dược lâm sàng 108.
7. **Đậu Quang Liêu (2017).** "Đánh giá kết quả của AFP-L3 và PIKVA II trong chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan." Luận văn thạc sỹ Y học Đại học Y Hà Nội.
8. **Yang, J. D., et al. (2019).** "GALAD score for hepatocellular carcinoma detection in comparison with liver ultrasound and proposal of GALADUS score." *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers* 28(3): 531-538.

ĐỘT BIẾN MỚI GEN LDLR Ở BỆNH NHÂN TĂNG CHOLESTEROL MÁU CÓ TÍNH CHẤT GIA ĐÌNH

Hoàng Thị Yên*, Lê Thị Yên*, Vũ Đức Anh*,
Vũ Chí Dũng*, Đặng Thị Ngọc Dung*

TÓM TẮT

Bệnh tăng cholesterol có tính chất gia đình (Familial Hypercholesterolemia - FH) là một bệnh di truyền trội nhiễm sắc thể thường đặc trưng bởi nồng độ LDL-cholesterol (LDL-C) trong máu tăng cao bất thường. Đột biến gây bệnh trên 80% do gen LDLR. Hiện nay bệnh FH còn chưa được quan tâm một cách thực sự, dẫn tới sự chậm trễ trong điều trị và có thể gây ra các biến cố tim mạch hoặc tử vong. **Mục tiêu:** Xác định đột biến mới trên exon 3, 4, 9, 13, 14 gen LDLR; **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 26 bệnh nhi FH theo tiêu chuẩn Simon Broome được phân tích gen, xác định đột biến mới trên exon 3, 4, 9, 13, 14 gen LDLR. **Kết quả:** Phát hiện được 2 đột biến mới, chưa từng được công bố: đột biến c.1335C>T trên exon 9 và đột biến c.1978C>T trên exon 13. **Kết luận:** Nghiên cứu phát hiện được 2 đột biến mới và dự đoán có khả năng gây bệnh. Kết quả nghiên cứu rất có ý nghĩa trong việc bổ sung thêm đột biến mới vào bản đồ đột biến gen LDLR gây bệnh FH ở người Việt Nam.

Từ khóa: tăng cholesterol máu có tính chất gia đình, exon 9, exon 13, đột biến gen LDLR

SUMMARY

NEW MUTATION OF LDLR GENE IN FAMILIAL

*Bệnh viện Tim Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Thị Yên

Email: yenhoangbvtim@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

HYPERCHOLESTEROLEMIA PATIENT

Familial hypercholesterolemia (FH) is an autosomal dominant disorder of lipoprotein metabolism characterized by high levels of LDL-cholesterol (LDL-C) in the blood. Over 80% of the mutations are caused by the LDLR gene. Nowadays, FH disease has not been paid much attention, leading to a delay in treatment and can cause cardiovascular complications or death.

Objectives: Identify new mutations in exon 3, 4, 9, 13, 14 of LDLR gene. **Subjects and Methods:** 26 FH children according to Simon Broome criteria were genetically analyzed, identified new mutations on exon 3, 4, 9, 13, 14 of LDLR gene.

Results: Detected 2 new mutations, never announced: mutation c.1335C>T on exon 9 and mutation c.1978C>T on exon 13 LDLR gene.

Conclusion: The study discovered 2 new mutations and predicted the ability to cause disease. The research results are very meaningful in adding new mutations to the LDLR gene mutation map that causes FH disease in Vietnamese people.

Keywords: familial hypercholesterolemia, exon 9, exon 13, LDLR gene mutation

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng cholesterol đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành, phát triển và nứt vỡ của mảng xơ vữa, làm tăng các nguy cơ mắc bệnh tim mạch (coronary heart disease: CHD) nguyên phát và tử vong. Bệnh mạch vành là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu

trong 10 năm trở lại đây [1]. Tăng cholesterol trong máu có thể do nhiều nguyên nhân và nguyên nhân vô cùng quan trọng là do đột biến gen gây nên.

Bệnh tăng cholesterol có tính chất gia đình (Familial Hypercholesterolemia - FH) là một bệnh di truyền trội nhiễm sắc thể thường đặc trưng bởi nồng độ LDL-cholesterol (LDL-C) trong máu tăng cao bất thường. Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy hơn 1.000 đột biến của gen LDLR đã được xác định ở bệnh nhân tăng cholesterol có tính chất gia đình. Tỷ lệ mắc bệnh ước tính trên toàn thế giới từ 1:500 đến 1: 300. Đây là bệnh di truyền đơn gen, nguyên nhân chủ yếu liên quan đến đột biến gen LDLR với tỷ lệ đột biến trên 80% [2]. Viện quốc gia về y tế và lâm sàng của Anh (NICE) đã đưa ra khuyến cáo về sàng lọc phân tầng đối với những người thân có quan hệ huyết thống gần với bệnh nhân đã được chẩn đoán lâm sàng FH, giúp giảm tỷ lệ bệnh tật và tử vong do bệnh tim mạch ở những người FH thông qua chẩn đoán bệnh sớm và quản lý bệnh hiệu quả [3].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định đột biến gen LDLR trên nhóm bệnh nhi FH bằng phương pháp giải trình tự Sanger và đã phát hiện được 2 đột biến mới.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

➤ 26 bệnh nhân được chẩn đoán FH theo tiêu chuẩn Simon Broome [3] và được phân tích xác định đột biến trên 5 exon gen LDLR: 3, 4, 9, 13, 14.

✚ Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhi đáp ứng tiêu chuẩn Simon Broome:

(1) TC máu > 6.7 mmol/L hoặc LDL-C >4.0 mmol/L ở trẻ em <16 tuổi.

(2) Triệu chứng kèm theo:

+ Xanthoma gân xuất hiện ở bệnh nhân hoặc có ở thể hệ có mối quan hệ huyết thống bậc 1 với bệnh nhân (cha mẹ, anh chị em ruột) hoặc có ở thể hệ có mối quan hệ huyết thống bậc 2 với bệnh nhân (ông bà, chú, dì).

- Bố, mẹ hoặc người bảo trợ và bệnh nhi FH đồng ý cho bệnh nhi tham gia nghiên cứu.

✚ Tiêu chuẩn loại trừ:

Bệnh nhi mắc hội chứng thận hư, bệnh nhân từ chối tham gia nghiên cứu.

2.2. Thiết kế nghiên cứu:

- Các bệnh nhi được khám và chẩn đoán FH tại bệnh viện nhi Trung Ương, sẽ được lấy máu xét nghiệm các chỉ số lipid máu và thực hiện các kỹ thuật: tách chiết DNA, kiểm tra độ tinh sạch DNA, thực hiện phản ứng PCR với các môi tự thiết kế và giải trình tự gen bằng phương pháp Sanger để xác định đột biến điểm trên 5 exon: 3, 4, 9, 13, 14 gen LDLR.

2.3. Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang

➤ Địa điểm và thời gian: từ 5/2017 – 10/2018 tại Bệnh viện nhi Trung Ương

➤ Xét nghiệm cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C (mmol/L) trên hệ thống Cobas e601 sử dụng kit của hãng Roche diagnostics.

➤ Kỹ thuật tách DNA: máu toàn phần chống đông EDTA được tách DNA theo phương pháp tách cột; nồng độ và độ tinh sạch DNA được xác định trên máy Nanodrop, những mẫu DNA đạt OD260/OD280 từ 1,8-2,0 sẽ được sử dụng phân tích.

➤ **Thiết kế môi:** Nghiên cứu sử dụng môi tự thiết kế, trình tự môi cho các đoạn exon trong nghiên cứu được thiết kế đặc hiệu với các vùng trình tự đích mong muốn.

Bảng 1. Trình tự mỗi khuếch đại exon 3, 4, 9, 13, 14 của gen LDLR

	Mũi	Trình tự	Kích thước (bp)
Exon 3	Mũi xuôi	CTCAGTGGGTCTTTTCCTTTG	400
	Mũi ngược	CCTGACTGTGCGTGACAA	
Exon 4	Mũi xuôi	TGTTGGGAGACTTCACACGG	529
	Mũi ngược	TCCACTTCGGCACCTAAATCA	
Exon 9	Mũi xuôi	CTCTTTTCTGGGTGCCTC	448
	Mũi ngược	CTGGATGTCTCTGCTGATGA	
Exon 13, 14	Mũi xuôi	TAGTTGTGGAGAGAGGGTGGC	638
	Mũi ngược	AAAGTATGTTATCCCGACTCA	

➤ **Kỹ thuật PCR:**

Thành phần phản ứng PCR (thể tích 25µl) gồm 12,5µl Taq2X; 0,5µl mũi xuôi; 0,5µl mũi ngược; 0,1µl DNA và 10,5µl H₂O freeDNA.

Bảng 2. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR khuếch đại exon 3

Chu trình	Biến tính	Bắt cặp	Tổng hợp
1	95°C - 5 phút		
2 - 34	95°C - 30 giây	T _m = 55°C (30 giây)	72°C - 30 giây
35	30 giây		72°C - 5 phút

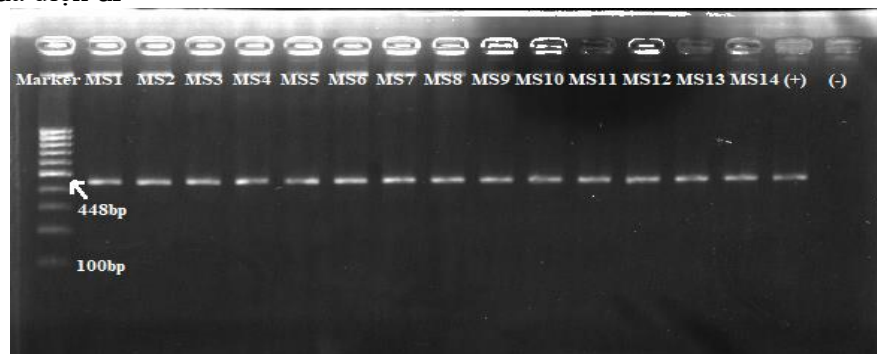
Tương tự tiến hành cùng chu kỳ nhiệt độ và số chu kỳ tương tự với exon 9, 13, 14 tại T_m = 55°C, exon 4 tại T_m = 57°C. Tiến hành điện di sản phẩm PCR trên gel agarose 1,5% với điện thế 120v, trong 30 phút.

➤ **Kỹ thuật giải trình tự gen:**

Sau khi khuếch đại, sản phẩm PCR được tinh sạch và được giải trình tự bằng phương pháp Sanger với hóa chất BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit trên máy giải trình tự tự động Prism 3730xl – ABI (Mỹ). Trình tự gen được đọc bằng phần mềm Sequence Scanner và đối chiếu với trình tự của gen LDLR trên GeneBank bằng ApE, sử dụng phần mềm MutationTaster dự đoán khả năng gây bệnh của đột biến.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả điện di

**Hình 1. Hình ảnh điện di sản phẩm PCR của exon 9 với mũi LDLR (448 bp)**

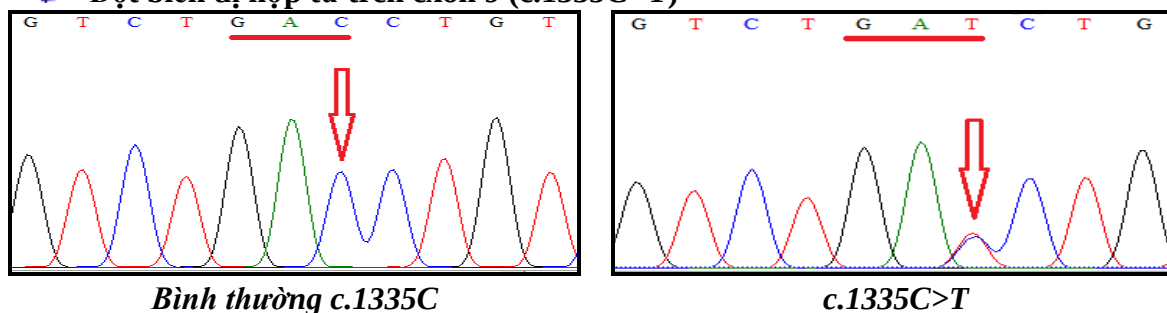
Marker: 100 bp; (-): Chứng âm; (+): Chứng dương; MS1-MS14: Mẫu bệnh nhi từ MS1 → MS14

Nhận xét: Mẫu đối chứng âm (-) không có sản phẩm khuếch đại PCR, chứng tỏ sản phẩm PCR không bị nhiễm sản phẩm ngoại lai. Các giếng của mẫu nghiên cứu đều xuất

hiện sản phẩm khuếch đại của các exon có kích thước tương ứng với mẫu chứng dương, điều này cho thấy khuếch đại đúng sản phẩm và không có hiện tượng biến đổi bất thường trên các exon của các mẫu nghiên cứu. Các sản phẩm PCR này đủ chất lượng để tiến hành giải trình tự gen để xác định đột biến.

3.2. Kết quả xác định đột biến

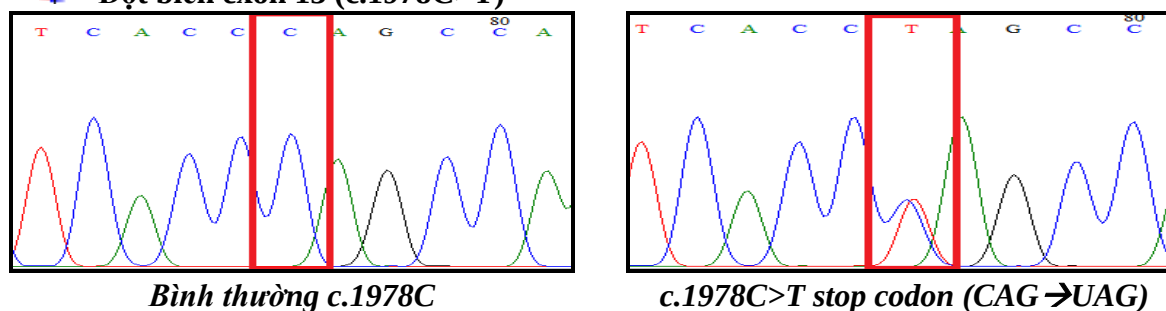
✚ Đột biến dị hợp tử trên exon 9 (c.1335C>T)



Hình 2. Hình ảnh đột biến c.1335C>T trên exon 9 gen LDLR

Hình 2 cho thấy kết quả giải trình tự mẫu MS19 thu được 2 đỉnh: màu đỏ và màu xanh da trời tương ứng với nucleotide Thymin và Cytosin của kiểu gen dị hợp tử TC tại vị trí nucleotide 1335 trên exon 9 gen LDLR. Đột biến c.1335C>T không gây ra sự thay đổi acid amin và là đột biến mới chưa từng được công bố trước đây. Đột biến này được tìm thấy trên bệnh nhi MS19 trong nhóm 26 đối tượng bệnh nhi FH.

✚ Đột biến exon 13 (c.1978C>T)



Hình 3. Hình ảnh đột biến c.1978C>T

Hình 3 cho thấy kết quả giải trình tự mẫu MS23 thu được 2 đỉnh: màu đỏ và màu xanh da trời tương ứng với nucleotide Thymin và Cytosin của kiểu gen dị hợp tử TC tại vị trí nucleotide 1978 trên exon 13 gen LDLR. Trong đột biến này có sự thay thế từ nucleotide Cytosin thành Thymin, từ đó gây ra sự thay đổi bộ 3 mã hóa ở vị trí acid amin

660, từ bộ ba CAG thay bằng UAG (UAG là 1 trong 3 bộ ba kết thúc). Đây là đột biến mới được phát hiện trong nghiên cứu có tên là c.1978C>T stop codon, là dạng đột biến vô nghĩa. Đột biến này được tìm thấy trên bệnh nhân MS23 trong nhóm 26 bệnh nhi FH.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đột biến dị hợp tử trên exon 9 (c.1335C>T)

Đột biến c.1335C>T: Đột biến trên exon 9 gen LDLR, đây là đột biến mới được phát hiện trong nghiên cứu và có 1 bệnh nhi FH mang đột biến này. Đột biến có sự thay thế nucleotide Cytosin thành Thymin tại vị trí c.1335 làm thay đổi bộ ba mã hóa GAC thành GAU. Tuy có sự thay đổi về nucleotide, nhưng 2 bộ ba mã hóa GAU và GAC đều mã hóa cho acid amin Aspartat.

Đa phần các đột biến không làm thay đổi acid amin đều là các dạng đột biến trung tính, tuy nhiên khi sử dụng phần mềm dự đoán khả năng đột biến MutationTaster cho thấy c.1335C>T là một đột biến có khả năng gây bệnh và được cho là gây bệnh tại vị trí

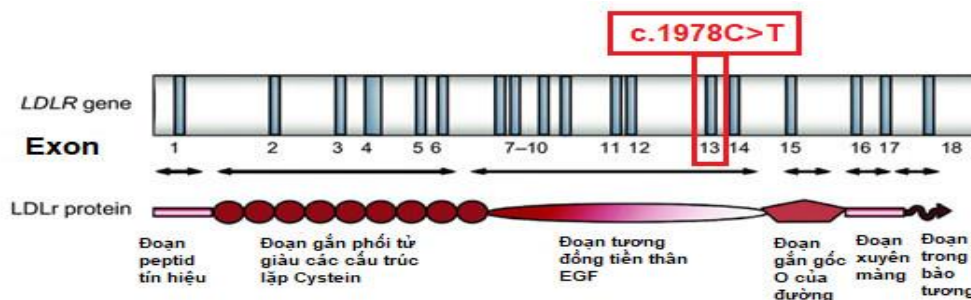
CM950764 đã được công bố trong ngân hàng dữ liệu đột biến gen ở người (The Human Gene Mutation Database - HGMD):

<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/gene.php?gene=LDLR&accession=CM950764>

Mặc dù các thuật toán dự đoán về khả năng gây bệnh có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, tuy nhiên vẫn cần các thí nghiệm in vivo và in vitro để khẳng định đột biến trên có phải gây bệnh hay không.

4.2. Đột biến dị hợp tử trên exon 13 (c.1978C>T)

Đột biến c.1978C>T: Đột biến trên exon 13 gen LDLR ở dạng dị hợp tử, đây là đột biến mới được phát hiện trên 01 bệnh nhi FH với biểu hiện u vàng và xét nghiệm lipid máu tăng cao điển hình.



Hình 4. Vị trí đột biến c.1978C>T tạo mã stop codon và vùng mã hóa cho protein LDLr tương ứng.

Ở người bình thường, tại vị trí nucleotide số 1978 trên exon 13 gen LDLR là nucleotide Cytosin, trong quá trình dịch mã để tổng hợp protein LDLr sẽ tạo ra bộ 3 mã hóa CAG tại vị trí a.a 660. Khi xuất hiện đột biến thay thế nucleotide Cytosin bằng Thymin tại vị trí nucleotide số 1978 thì quá trình dịch mã tại vị trí acid amin 660 sẽ bị thay đổi thành bộ 3 mã hóa UAG là một

trong ba bộ 3 kết thúc (UAG, UAA, UGA), ngay lập tức quá trình dịch mã bị dừng lại và kết thúc quá trình tổng hợp protein LDLr tại vị trí này. Việc dừng lại quá trình dịch mã khiến cho các cấu trúc phía sau vị trí đột biến của protein LDLr (bao gồm 1 phần của vùng giống EGF, vùng OLS, vùng xuyên màng TM và vùng trong bào tương) không được hình thành, tạo nên một protein bất thường

và gây đột biến vô nghĩa. Những đột biến dạng vô nghĩa thường được khẳng định là đột biến gây bệnh [4]. Các nghiên cứu cho thấy tình trạng phân rã mRNA qua trung gian đột biến vô nghĩa (Nonsense-mediated mRNA decay - NMD) là một trong nhiều cơ chế kiểm soát bởi các tế bào để ngăn chặn tác dụng độc hại của các peptid bị cắt cụt hoặc bị biến đổi so với protein được sinh ra bình thường [5]. Các đột biến vô nghĩa nằm ở vị trí dài hơn 50 - 55 bp so với vị trí nối chức năng exon-exon (hướng về phía vùng promoter và các exon, intron trước) thường gây ra tình trạng phân rã mRNA qua trung gian đột biến vô nghĩa (NMD) [6]. Nghiên cứu của Weiss (2000) và Dedoussis (2004) đã chứng minh nhóm bệnh nhân mang đột biến vô nghĩa dạng dị hợp tử ở gen LDLR đã loại bỏ hoàn toàn chức năng của thụ thể và TC, LDL-C khi chưa điều trị cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm khiếm khuyết thụ thể trong nhóm bệnh nhân FH có u vàng [7]. Đột biến vô nghĩa c.1978C>T trong nghiên cứu của chúng tôi nằm ở vị trí 133 bp so với vị trí nối chức năng exon-exon, do đó đột biến có khả năng gây ra tình trạng phân rã mRNA qua trung gian đột biến vô nghĩa và gây thiếu hụt protein LDLr có chức năng mặc dù là dạng đột biến dị hợp tử. Øystein Lunde Holla và cộng sự (2009) đã thực nghiệm với 4 loại đột biến vô nghĩa dị hợp tử trên gen LDLR trên tế bào cho thấy lượng thụ thể LDLr và tình trạng hấp thu LDL-C vào trong tế bào giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và $p < 0,005$ tương ứng [8].

Shu H và cộng sự (2017) đã chứng minh các ảnh hưởng tới LDLr bởi đột biến tạo mã kết thúc trên exon 13 bằng thực nghiệm trên

dòng tế bào Hep G2. Đột biến trên đã tạo ra protein đột biến có khối lượng 120 kDa do không được trải qua quá trình glycosyl hóa, do đó thụ thể được hình thành không thể vận chuyển từ lưới nội sinh chất tới bộ máy Golgi (thiếu hụt một phần – đột biến loại 2B). Khi được nhuộm đánh giá bằng miễn dịch huỳnh quang cho thấy lượng LDLr trên màng giảm đáng kể, quá trình vận chuyển LDL-C vào trong tế bào cũng giảm rõ rệt [9]. Đột biến vô nghĩa này được xếp vào nhóm 1 (nhóm đột biến vô nghĩa, dịch khung, vị trí nối, đột biến bất hoạt vùng promoter) nên nồng độ LDL-C cao hơn và đòi hỏi điều trị liều Atorvastatin cao hơn so với các nhóm đột biến còn lại. Bệnh nhi MS23 phát hiện đột biến c.1978C>T vào viện với biểu hiện u vàng ở vùng khuỷu, móng, đầu gối; các xét nghiệm ban đầu có nồng độ TC và LDL-C tăng rất cao.

Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Øystein Lunde Holla và cs (2009) trên các chủng tế bào có chứa các đột biến vô nghĩa dị hợp tử lại cho thấy hiệu quả điều trị của các chất ức chế các phức hợp ribosome RNA nhận biết các vùng stop codon sớm như Emetine, Cycloheximide và Gentamicin [8]. Thực nghiệm tiến hành với chủng tế bào có đột biến vô nghĩa tạo mã stop codon sớm c.296C>G cho thấy với liều lượng Gentamicin (300 µg/mL) sau 20 giờ điều trị và Emetine (300 µg/mL) sau 2 giờ điều trị thì LDLR mRNA và protein LDLr tăng lên ngang bằng với tế bào bình thường. Do đó, kết quả xét nghiệm xác định đột biến gen kết hợp với những hiểu biết về tình trạng NMD và các chất ức chế NMD vô cùng quan trọng với điều trị lâm sàng khi các can thiệp di

truyền ngày càng phát triển. Đối với bệnh nhân MS23 nhóm nghiên cứu có thể tư vấn với bác sỹ điều trị lâm sàng cân nhắc sử dụng thử nghiệm các nhóm thuốc trên khi thất bại với các thuốc điều trị khác và theo dõi hiệu quả điều trị.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định được 2 đột biến mới (c.1335C>T trên exon 9 và c.1978C >T trên exon 13) gen LDLR. Hai đột biến dị hợp tử này chưa được công bố và có khả năng gây bệnh. Kết quả nghiên cứu rất có ý nghĩa trong việc bổ sung thêm đột biến mới vào bản đồ đột biến gen LDLR gây bệnh FH.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **P. C. Santos, A. C. Morgan, C. E. Jannes et al (2014).** Presence and type of low density lipoprotein receptor (LDLR) mutation influences the lipid profile and response to lipid-lowering therapy in Brazilian patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 233(1), 206-10.
2. **R. Henderson, M. O'Kane, V. McGilligan et al (2016).** The genetics and screening of familial hypercholesterolaemia. *J Biomed Sci*, 23, 39.
3. **DeMott K., Nherera L., Shaw EJ. et al (2008).** Clinical Guidelines and Evidence Review for Familial hypercholesterolaemia: the identification and management of adults and children with familial hypercholesterolaemia., National Collaborating Centre for Primary Care and Royal College of General Practitioners.
4. **Keeling K.M, Xue X, Gunn G et al (2014).** Therapeutics based on stop codon readthrough. *Annu Rev Genomics Hum Genet*, 15, 371-94.
5. **Byers P.H (2002).** Killing the messenger: new insights into nonsense-mediated mRNA decay. *J Clin Invest*, 109(1), 3-6.
6. **Nagy E and Maquat L.E (1998).** A rule for termination-codon position within intron-containing genes: when nonsense affects RNA abundance. *Trends Biochem Sci*, 23(6), 198-9.
7. **Dedoussis G.V, Skoumas J, Pitsavos C et al (2004).** FH clinical phenotype in Greek patients with LDL-R defective vs. negative mutations. *Eur J Clin Invest*, 34(6), 402-9.
8. **Holla Ø.L, Kulseth M.A, Berge K.E et al (2009).** Nonsense-mediated decay of human LDL receptor mRNA. *Scand J Clin Lab Invest*, 69(3), 409-17.
9. **Shu H, Chi J, Li J et al (2017).** A novel indel variant in LDLR responsible for familial hypercholesterolemia in a Chinese family. *PloS one*, 12(12), e0189316.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ CEA, CA19-9, CA72-4 HUYẾT THANH TRƯỚC VÀ SAU ĐIỀU TRỊ BỆNH UNG THƯ DẠ DÀY GIAI ĐOẠN IV

Vũ Thị Hằng¹, Phạm Thiện Ngọc², Phạm Cẩm Phương³

TÓM TẮT

37 bệnh nhân được chẩn đoán ung thư dạ dày (UTDD) giai đoạn IV, được làm đồng thời các xét nghiệm CEA, CA19-9, CA72-4 trước và sau 3 đợt hóa trị. **Kết quả:** Tỷ lệ bệnh nhân có CEA dương tính ($>4.3\text{ng/ml}$) là 43.2% (16/37), CA 19-9 dương tính ($>27\text{U/ml}$) là 40.5% (15/37), CA 72-4 dương tính ($>6.9 \mu\text{g/ml}$) là 62.1% (23/37). Và khi kết hợp cả 3 dấu ấn ung thư này thì độ nhạy tăng lên đến 86.5%. Sau điều trị 3 đợt hóa chất, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0.05$) về nồng độ trung bình CEA, CA19-9, CA72-4 trước và sau điều trị ở các nhóm UTDD.

Từ khóa: Ung thư dạ dày, CEA, CA19-9, CA72-4.

SUMMARY

STUDY THE CONCENTRATION OF CARBOHYDRATE ANTIGEN 19-9, CARCINOEMBRYONIC ANTIGEN, AND CARBOHYDRATE ANTIGEN 72-4 BEFORE AND AFTER TREATMENT IN GASTRIC CANCER STAGE IV

37 patients diagnosed with gastric cancer (UTDD) stage IV were tested for CEA, CA19-9, CA72-4 before and after treatment 3 chemotherapy. Results: The positive rate of

CEA ($>4.3\text{ng/ml}$) was 43.2% (16/37), CA 19-9 ($>27\text{U/ml}$) was 40.5% (15/37) and CA 72-4 ($>6.9 \mu\text{g/ml}$) was 62.1% (23/37). When CEA, CA19-9 and CA72-4 markers are combined, the positive rate increase to 86.5%. After 3 chemotherapy, there was a statistically significant difference in mean concentrations of CEA, CA19-9, CA72-4 before and after treatment in the gastric cancer group. ($p<0.05$)

Key words: Gastric cancer, CEA, CA19-9, CA72-4.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư dạ dày (UTDD) là một trong những ung thư đường tiêu hóa hay gặp, là nguyên nhân hàng đầu thứ hai gây tử vong liên quan đến ung thư trên toàn thế giới. UTDD giai đoạn IV có tiên lượng xấu và gặp nhiều khó khăn trong quá trình điều trị. Hiện nay, bệnh nhân ung thư dạ dày giai đoạn IV được điều trị bằng hóa trị cần được kiểm soát tốt. Do đó, ngoài các chỉ tiêu lâm sàng cần dựa vào các chỉ tiêu cận lâm sàng, trong UTDD các marker thường được dùng là: CEA, CA19-9, CA72-4 giúp cho việc tiên lượng bệnh, đánh giá đáp ứng điều trị, phát hiện tái phát. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài nhằm mục tiêu: “Xác định nồng độ CEA, CA19-9, CA72-4 huyết thanh trước và sau 3 đợt hóa trị ở bệnh nhân ung thư dạ dày giai đoạn IV”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

***Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:** Các bệnh

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y tế Hải Dương

² Trường Đại học Y Hà Nội

³ Bệnh viện Bạch Mai

Chịu trách nhiệm chính: Vũ Thị Hằng

Email: Vuhangk31d@gmail.com

Ngày nhận bài: 22.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 25.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

nhân đồng ý tham gia vào nghiên cứu được chẩn đoán UTDD ở giai đoạn IV, qua hình ảnh nội soi và giải phẫu bệnh. Điều trị đủ 3 đợt hóa chất, được làm đầy đủ xét nghiệm định lượng CA 72-4, CA 19-9 và CEA trước và sau 3 đợt hóa trị.

***Tiêu chuẩn loại trừ:** Bệnh nhân không được làm đầy đủ xét nghiệm định lượng CA 72-4, CA 19-9 và CEA trước và sau 3 đợt hóa trị. Các bệnh nhân mắc ung thư khác (phổi, gan, vú...) và các bệnh mạn tính nặng ảnh hưởng đến thời gian sống của bệnh nhân.

2.2 Phương pháp nghiên cứu:

- Nghiên cứu lâm sàng, tiền cứu.
- Xét nghiệm CEA, CA19-9, CA72-4 định lượng bằng kỹ thuật điện hóa phát quang (The Electrochemiluminescence Immunoassay - ECLIA) trên máy Cobas 8100 của hãng Roche. Thời điểm xét nghiệm: trước điều trị hóa chất và sau điều trị 3 đợt hóa chất.
- Phương pháp xử lý số liệu: xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0, dùng phép toán thống kê mô tả cho các biến định tính và định lượng, test Wilcoxon, so sánh giá trị trung bình của 2 nhóm trước và sau điều trị.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong số 37 bệnh nhân nghiên cứu có 29 nam (78.4%), 8 nữ (21.6%), tuổi từ 44- 80 tuổi, tuổi trung bình là 62.3 tuổi, tỷ lệ nam/nữ =3.62/1.

Trước khi điều trị hóa chất trên lâm sàng, Xquang, CT và siêu âm phát hiện có 18/37 bệnh nhân di căn gan, 5/37 bệnh nhân di căn xương, 5/37 bệnh nhân di căn phổi, 4/37 bệnh nhân di căn phúc mạc, còn lại là các bệnh nhân di căn các cơ quan khác như: tụy, trực tràng, não, hạch xa... Trong đó có 4 bệnh nhân di căn từ 2 cơ quan trở lên.

Về vị trí khối u dạ dày: nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả 56.8% (21/37) tổn thương tại hang- môn vị, 37.8% (14/37) tổn thương tại thân vị, và 5.4% (2/37) tổn thương tại tâm vị.

Thời điểm xét nghiệm: trước điều trị hóa chất và sau điều trị 3 đợt hóa chất. Với giá trị ngưỡng theo khuyến cáo của nhà sản xuất là $CEA \leq 4.3\text{ng/ml}$, $CA19-9 \leq 27\text{U/ml}$ và $CA72-4 \leq 6.9\mu\text{g/ml}$. Kết quả được coi là dương tính khi nồng độ huyết thanh của các dấu ấn ung thư lớn hơn giá trị ngưỡng.

Bảng 1: So sánh tỷ lệ dương tính CEA, CA19-9, CA72-4 trước và sau điều trị

	Trước điều trị		Sau điều trị	
	n	%	n	%
CEA +	16	43.2%	23	62.1%
CA19-9 (+)	15	40.5%	8	21.6%
CA72-4 (+)	23	62.1%	10	27%
CEA (+), CA19-9 (+) và CA72-4 (+)	4	10.8%	2	5.4%

Nhận xét:

Trước điều trị: Có 4/37(10.8%) bệnh nhân có cả 3 marker cao hơn giá trị ngưỡng.

Tỷ lệ bệnh nhân có CEA dương tính ($>4.3\text{ng/ml}$) là 43.2% (16/37), CA 19-9 dương tính ($>27\text{U/ml}$) là 40.5% (15/37), CA 72-4 dương tính ($>6.9\mu\text{g/ml}$) là 62.1% (23/37).

Sau điều trị : Có 2/37 (5.4%) bệnh nhân có cả 3 marker cao hơn giá trị ngưỡng.

Tỷ lệ bệnh nhân có CEA dương tính ($> 4.3\text{ng/ml}$) là 62.1% (23/37) cao hơn so với trước điều trị, CA 19-9 dương tính ($>27\text{U/ml}$) giảm xuống còn 21.6% (8/37) so với trước điều trị, CA 72-4 dương tính ($> 6.9 \mu\text{g/ml}$) giảm xuống còn 27% (10/37) so với trước điều trị.

Bảng 2 : Kết hợp 3 xét nghiệm CEA, CA19-9, CA72-4 trước điều trị.

	CA72-4 (+)	CA72-4 (-)	CA19-9(+)	CA19-9(-)
CEA(+)	10 (27%)	6 (16.2%)	5 (13.5%)	11 (29.7%)
CEA(-)	13 (35.1%)	8 (21.6%)	10 (27%)	11 (29.7%)
CA19-9 (+)	11 (29.7%)	4 (10.8%)		
CA19-9(-)	12 (32.43%)	10 (27%)		

Nhận xét: Khi kết hợp CEA và CA72-4 thì tỷ lệ dương tính tăng lên 79.4%; khi kết hợp CEA và CA19-9 thì tỷ lệ dương tính tăng lên 71.3%; khi kết hợp CA72-4 và CA19-9 thì tỷ lệ dương tính tăng lên 73%. Và khi kết hợp cả 3 dấu ấn ung thư này thì độ nhạy tăng lên đến 86.5%.

Bảng 3: So sánh nồng độ CEA, CA 72-4, CA 19-9 trước và sau điều trị

	Trước điều trị			Sau điều trị		
	n	Trung vị	$\bar{X} \pm SD$	n	Trung vị	$\bar{X} \pm SD$
CA19-9	37	20.30	50.05 ± 86.91	37	13.70	26.54 ± 41.27
CA19-9 (+)	15/37 (40.5%)	79.1	107.87 ± 115.31	8/37 (21.6%)	43.2	83.98 ± 60.72
CEA	37	4.05	30.36 ± 127.42	37	5.19	15.05 ± 27.54
CEA (+)	16/37 (43.2%)	14.33	66.25 ± 191.16	23/37 (62.1%)	8.58	22.23 ± 33.15
CA72-4	37	11.15	23.19 ± 51.89	37	2.87	18.15 ± 50.07
CA72-4 (+)	23/37 (62.1%)	11.84	35.83 ± 62.96	10/37 (27%)	30.26	60.68 ± 85.7

Nhận xét: So sánh nồng độ trung bình của cả 3 markers CEA, CA19-9, CA72-4 trước và sau điều trị 3 đợt hóa chất, kết quả cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hai nhóm ($p < 0.05$).

Nồng độ trung bình của CEA trước điều trị là 30.36 ± 127.42 (ng/ml) sau điều trị giảm còn 15.05 ± 27.54 (ng/ml) so với trước điều trị 3 đợt hóa chất.

Nồng độ trung bình của CA19-9 trước điều trị là 50.05 ± 86.91 (U/ml) sau điều trị giảm còn 26.54 ± 41.27 (U/ml) so với trước điều trị 3 đợt hóa chất.

Nồng độ trung bình của CA72-4 trước điều trị là 23.19 ± 51.89 ($\mu\text{g/ml}$) sau điều trị giảm còn 18.15 ± 50.07 ($\mu\text{g/ml}$) so với trước điều trị 3 đợt hóa chất.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ CEA $> 4.3\text{ng/ml}$ là 43.2% (16/37), tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ CA 19-9 $> 27\text{U/ml}$ trong nhóm nghiên cứu là 40.5% (15/37), còn tỷ lệ bệnh nhân có nồng độ CA 72-4 $> 6.9\mu\text{g/ml}$ là 62.1% (23/37)

Bảng 4: So sánh tỷ lệ CEA, CA19-9, CA72-4 của một số tác giả

Tác giả	CEA (+)	CA19-9 (+)	CA72-4(+)
D.J.Byrne 1990	25%	41%	94%
Carpelan- Holmstrom M 2002	25%	41%	41%
Yao Liang 2016	20%	21.4%	27.6%
Nguyễn Đức Chính 2010	27.6%	36.2%	46.6%
Bùi Thị Minh Phượng 2019	30%	40%	52.5%
Chúng tôi	43.2%	40.5%	62.1%

Có rất nhiều nghiên cứu trên thế giới tập trung vào đánh giá vai trò của CEA, CA 19-9 trong sự thoái triển khối u dạ dày, vấn đề tái phát khối u cũng như tiên lượng và thời gian sống thêm. Nghiên cứu của Xue-Feng Fi và cộng sự trên 81 bệnh nhân UTDD cho thấy: Nồng độ CEA trung bình là 13.17ng/ml (2.2-301.7ng/ml). Nếu sử dụng ngưỡng cut off là 23.5ng/ml thì có 70.4% bệnh nhân có CEA thấp và 29.6% bệnh nhân có CEA cao. Cũng trong nghiên cứu này so với 40 người khỏe mạnh-nhóm chứng ở cùng thời điểm CEA đều ở giá trị thấp với nồng độ trung bình là 2.3ng/ml(0.1-6.2ng/ml). Điều này chứng tỏ CEA cao có giá trị dự báo dương tính cao trong UTDD, tuy nhiên cut off của CEA theo các nghiên cứu là khác nhau. Nghiên cứu của chúng tôi có nồng độ CEA trung bình 30.36ng/ml cao so với kết quả của Xue-Feng. CA72-4 là chất chỉ điểm có độ đặc hiệu cao đối với bệnh UTDD, nghiên cứu của Safi trên 115 trường hợp UTDD và 476 bệnh nhân có bệnh lành tính khác thấy nồng độ trung bình CEA là 7.24U/ml; 61% bệnh nhân UTDD có nồng độ CA72-4>5U/ml; 26% bệnh nhân có nồng độ CA72-4>10U/ml trong khi đó chỉ 0.4% người khỏe mạnh có CA72-4>10U/ml. Một số tác giả khác cũng thấy CA72-4 không dương tính hoặc có tỷ lệ dương tính rất thấp ở những bệnh nhân mắc bệnh lành tính, đây là ưu điểm lớn của

CA72-4.

Nhìn vào bảng kết quả trên có thể thấy tỷ lệ dương tính của CEA, CA19-9, CA72-4 trong UTDD theo các nghiên cứu là rất khác nhau. Điều này có thể giải thích bởi kỹ thuật xác định 3 dấu ấn ung thư này, giá trị cut off của các nghiên cứu sử dụng cũng khác nhau, đối tượng nghiên cứu, số lượng bệnh nhân nghiên cứu cũng ảnh hưởng đến kết quả.

*Về sự thay đổi của 3 markers trước và sau điều trị 3 đợt hóa chất: trong nghiên cứu của chúng tôi có 37 bệnh nhân được làm đồng bộ cả 3 dấu ấn ung thư CEA, CA19-9, CA72-4. Kết quả cho thấy tỷ lệ CEA dương tính sau điều trị là 23/37 bệnh nhân cao hơn so với trước điều trị là 16/37 bệnh nhân, nồng độ trung bình của nhóm có CEA dương tính giảm đáng kể so với trước điều trị từ (66.25 ± 191.16) ng/ml xuống còn (22.23 ± 33.15) ng/ml. Tỷ lệ CA72-4 dương tính đã giảm xuống còn 10/37 bệnh nhân chiếm 27% so với trước điều trị là 23/37(62.1%), Tuy nhiên nồng độ trung bình của 10 bệnh nhân có CA72-4 dương tính sau điều trị vẫn cao hơn rất nhiều (60.68 ± 85.7) µg/ml so với 23/37 bệnh nhân có CA72-4 dương tính trước điều trị có nồng độ trung bình là (35.83 ± 62.96) µg/ml. Qua đó có thể thấy rằng, nồng độ CA72-4 cao có ý nghĩa ở những bệnh nhân UTDD giai đoạn muộn và dự đoán tái phát. Tỷ lệ CA19-9 dương tính đã

giảm xuống còn 8/37 bệnh nhân chiếm 21.6% so với trước điều trị là 15/37(40.5%), Nồng độ trung bình của CA19-9 dương tính giảm từ (107.87 ± 115.31) U/ml xuống còn (83.98 ± 60.72) U/ml. Choi và cộng sự báo cáo tổng hợp về 3 chỉ số ung thư CEA, CA19-9, CA72-4 cho kết quả rằng đến 90% CEA tăng cao có liên quan đến di căn gan; 78.9% CA19-9 tăng cao có liên quan di căn phúc mạc. Điều đó giải thích tại sao sau điều trị nhóm bệnh nhân có tỷ lệ CEA (+) cao hơn trước điều trị, là do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi có đến 18/37 (48.6%) bệnh nhân di căn gan. Kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả của Bùi Thị Minh Phượng (2019) khi theo dõi 40 bệnh nhân trước và sau phẫu thuật, tác giả cũng nhận thấy được sự giảm nồng độ trung bình của 3 markers CEA, CA72-4 và CA19-9. Nghiên cứu của Zhipeng Sun: 184 bệnh nhân ung thư dạ dày được điều trị hóa chất. Sau điều trị thì nồng độ trung bình của cả 3 dấu ấn ung thư CEA, CA19-9, CA72-4 đều giảm với p-value tương ứng là $(p=0.03)$; $(p=0.071)$; $(p=0.01)$. Qua đó thấy được sự đáp ứng của bệnh nhân với điều trị hóa chất và sự phối hợp của cả 3 markers ung thư trong theo dõi điều trị bệnh UTDD.

V. KẾT LUẬN

*Tỷ lệ dương tính của các dấu ấn khối u CEA, CA19-9, CA72-4 tương ứng là 43.2%, 40.5%, 62.1%. Khi kết hợp các markers CEA, CA19-9, CA72-4 với nhau thì tỷ lệ dương tính tăng lên đến 86.5%.

*Sự thay đổi nồng độ CEA, CA 72-4, CA 19-9 huyết thanh trước và sau điều trị 3 đợt hóa chất: Nồng độ trung bình của cả 3 markers CEA, CA19-9, CA72-4 sau điều trị đều giảm so với trước điều trị. Sự khác biệt có ý nghĩa ($p<0.05$).

LỜI CẢM ƠN VÀ LỜI CAM KẾT

- Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn các cán bộ và bệnh nhân của Trung tâm Y học hạt nhân và Ung bướu - Bệnh viện Bạch Mai đã tạo điều kiện cho chúng tôi thực hiện nghiên cứu này

- Các tác giả xin cam kết không có tranh chấp về quyền lợi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Thị Minh Phượng.** Xác định nồng độ CEA, CA19-9, CA72-4 trong huyết tương ở bệnh nhân ung thư dạ dày trước và sau phẫu thuật 3 tháng. Tạp chí Y học Việt Nam, tháng 8 số 2, tập 481. 2019;tr161-165.
2. **Marrelli D, Pinto E, De Stefano A, Farnetani M, Garosi L, Roviello F.** Clinical utility of CEA, CA 19-9, and CA 72-4 in the follow-up of patients with resectable gastric cancer. Am J Surg. 2001;181(1):16-19.
3. **Safi F, Kuhns V, Beger HG.** Comparison of CA 72-4, CA 19-9 and CEA in the diagnosis and monitoring of gastric cancer. The International Journal of Biological Markers. 1995;10(2):100-106.
4. **Sun Z, Zhang N.** Clinical evaluation of CEA, CA19-9, CA72-4 and CA125 in gastric cancer patients with neoadjuvant chemotherapy. World J Surg Oncol. 2014;12. doi:10.1186/1477-7819-12-397
5. **Chen C, Chen Q, Zhao Q, Liu M, Guo J.** Value of Combined Detection of Serum CEA, CA72-4, CA19-9, CA15-3 and CA12-5 in the Diagnosis of Gastric Cancer. Ann Clin Lab Sci. 2017;47(3):260-263.
6. **Palli D. Epidemiology of gastric cancer: an evaluation of available evidence.** J Gastroenterol. 2000;35 Suppl 12:84-89.
7. **Liu X, Qiu H, Liu J, et al.** Combined preoperative concentrations of CEA, CA 19-9, and 72-4 for predicting outcomes in patients with gastric cancer after curative resection. Oncotarget. 2016;7(23):35446-35453. doi:10.18632/oncotarget.9060

VAI TRÒ TSGF, CA15-3, CA125 VÀ CEA MÁU TRONG CHẨN ĐOÁN UNG THƯ VÚ

Vương Thị Ngân¹, Lê Vũ Ngọc Minh², Huỳnh Quang Thuận³

TÓM TẮT

Theo GLOBOCAN 2018, ở Việt Nam có 11.161 người mắc và 4.671 người tử vong do ung thư vú. Việc phát hiện sớm ung thư vú qua sự tầm soát ở những phụ nữ bình thường đã làm thay đổi rõ ràng bệnh sử tự nhiên của bệnh cũng như cải thiện đáng kể tiên lượng bệnh. **Mục tiêu:** tìm hiểu việc phối hợp các dấu ấn sinh học CA15-3 (Cancer antigen 15-3), CA125 (Cancer antigen 125), CEA (Carcinoembryonic antigen), TSGF (Tumor specific growth factor) để làm tăng hiệu quả chẩn đoán ung thư vú. **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang tại Bệnh viện K Tân triều từ từ tháng 11/2019 đến tháng 02/2020; trên 40 bệnh nhân nữ được xác định là ung thư vú và 40 người phụ nữ khỏe mạnh được làm các xét nghiệm CA15-3, CA125, CEA, TSGF. **Kết quả:** Phối hợp 2 dấu ấn có độ nhạy cao nhất là TSGF + CA125 với 95%, độ đặc hiệu cao nhất là CEA + CA15-3 và CA125 + CA15-3 với 100%, độ chính xác cao nhất là CA153 + CA125 (61,25%). Phối hợp 3 dấu ấn, độ chính xác cao nhất ở CA15-3 + CA125 + CEA. Phối hợp 4 dấu ấn độ chính xác chỉ 51,25%. **Kết luận:** phối hợp các xét nghiệm dấu ấn ung thư CA15-3, CA125, CEA, TSGF giúp tăng độ nhạy 95% nhưng độ đặc hiệu thấp và độ

chính xác trung bình 51,25% trong chẩn đoán ung thư vú.

Từ khóa: CA15-3, CA125, CEA, TSGF, ung thư vú.

SUMMARY

ROLES OF BLOOD TSGF, CA15-3, CA125 AND CEA LEVEL IN DIAGNOSIS OF BREAST CANCER

According to GLOBOCAN 2018, in Vietnam, 11 161 people in Vietnam with breast cancer and 4671 deaths from breast cancer. Early detection of breast cancer through screening in females has clearly changed the spontaneous progression of the disease as well as significantly improved prognosis. **Objectives:** To study the combination of biomarkers CA15-3 (Cancer antigen 15-3), CA125 (Cancer antigen 125), CEA (Carcinoembryonic antigen), TSGF (Tumor specific growth factor) to increase the effectiveness of breast cancer diagnosis. **Objects and methods:** cross-sectional descriptive studies at Tan Trieu Cancer Hospital from November 2019 to February 2020; studied on 40 female patients diagnosed with breast cancer and 40 healthy women were tested for CA15-3, CA125, CEA, TSGF. **Results:** The combination of 2 markers with the highest sensitivity is TSGF + CA125 with 95%, the highest specificity is CEA + CA15-3 and CA125 + CA15-3 with 100%, the highest accuracy is CA153 + CA125 (61.25%). 3-biomarker combination, the highest accuracy in CA15-3 + CA125 + CEA. 4-biomarker combination, the accuracy is only 51.25%. **Conclusion:** Combination of tumor marker tests CA15-3, CA125, CEA, TSGF increased sensitivity by 95% but low specificity and

¹ Bệnh viện K cơ sở Tân Triều.

² Trường THPT chuyên Hà Nội – Amsterdam

³ Bệnh viện Quân y 103

Chịu trách nhiệm chính: Vương Thị Ngân

Email: vuongngan29071988@gmail.com

Ngày nhận bài: 20.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 25.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

average accuracy of 51.25% in breast cancer diagnosis.

Keywords: CA15-3, CA125, CEA, TSGF, breast cancer.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê GLOBOCAN 2018, ở Việt Nam có 11.161 người mắc và 4.671 người tử vong do ung thư vú. Trong đó, ung thư vú ở nam chiếm khoảng 1% các trường hợp ung thư vú [1].

Đây là một bệnh trong nhiều năm qua đã có nhiều nghiên cứu về nguyên nhân, bệnh sinh và điều trị. Việc phát hiện sớm ung thư vú qua sự tầm soát ở những phụ nữ bình thường đã làm thay đổi rõ ràng bệnh sử tự nhiên của bệnh cũng như cải thiện đáng kể tiên lượng bệnh. Các dấu ấn sinh học CA15-3, CA125, CEA với các dấu ấn sinh học khác để làm tăng hiệu quả chẩn đoán ung thư vú là cần thiết. Trong đó TSGF là một trong những dấu ấn ung thư mới được nghiên cứu trong quá trình chẩn đoán và theo dõi các bệnh ung thư. Sự kết hợp dấu ấn sinh học này với các dấu ấn sinh học khác có thể giúp tăng hiệu quả chẩn đoán và điều trị các bệnh ung thư nói chung.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và phương pháp

Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện K cơ sở Tân Triều, Thanh Trì, Hà Nội và Bộ môn Hoá sinh, Bộ môn Sinh lý bệnh - Học viện quân y. Thời gian thực hiện: từ tháng 11/2019 đến tháng 02/2020.

Nghiên cứu mô tả cắt ngang có so sánh đối chứng. Chọn mẫu thuận tiện theo chủ đích, gồm 40 bệnh nhân được chẩn đoán xác định ung thư vú (nhóm 1) và 40 người bình

thường, khoẻ mạnh, không mắc các bệnh mạn tính (nhóm 2).

Các bước tiến hành

Bước 1. Đánh giá lâm sàng, cận lâm sàng lúc vào viện được tiến hành theo bệnh án mẫu: Tuổi, giới, các triệu chứng cơ năng, thực thể, toàn thân...

Bước 2. Chẩn đoán xác định: Chẩn đoán được xác định bằng phương pháp mô học, và phân loại bệnh lý được xác định theo hệ thống phân loại hiện tại của WHO (2012). Chẩn đoán giai đoạn ung thư vú theo TNM.

Bước 3. Định lượng các marker ung thư: CA15-3, CEA, CA125, TSGF

Phương pháp định lượng nồng độ các marker CA15-3, CEA, CA125, TSGF

Lấy mẫu:

Lấy 2ml máu tĩnh mạch, chống đông bằng heparin bệnh nhân nhịn đói sau 8 - 12 giờ, cho vào ống chống đông bằng heparin. Ly tâm 3000 vòng/5 phút, tách huyết tương. Xét nghiệm được làm ngay trong vòng 4h, nếu chưa làm ngay thì tách và bảo quản huyết tương ở tủ âm (-80°C) cho đến khi sử dụng.

Định lượng CA15-3, CEA, CA125 huyết tương theo phương pháp miễn dịch hóa phát quang "CMIA" trên máy xét nghiệm miễn dịch ARCHITECT iSystem.

Trị số tham chiếu: $\text{CEA} \leq 5\text{ng/ml}$, $\text{CA 125} < 28\text{ U/mL}$, $\text{CA 15-3} < 28\text{ U/mL}$ theo máy Architect I2000.

Định lượng TSGF huyết tương theo nguyên lý Sandwich-ELISA trên hệ thống máy ELISA Diagnostic Automatic.

Trị số tham chiếu: $\text{TSGF} \leq 12\text{ U/mL}$ (theo nghiên cứu này)

Số liệu được mã hóa, nhập liệu, quản lý và xử lý bằng phần mềm SPSS 22.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

3.1.1. Tuổi của bệnh nhân nghiên cứu

Bảng 3.1. Tuổi bệnh nhân nghiên cứu

Nhóm tuổi (Năm)	31-40	41-50	51-60	>60
Đặc điểm				
Số lượng	7	7	17	9
Tỷ lệ	17.50%	17.50%	42.50%	22.50%
Tuổi trung bình	52,72 ± 10,37			
Tuổi cao nhất	78			
Tuổi thấp nhất	33			

Nhận xét: Tuổi trung bình của nhóm bệnh là 52,72±10,37. Tuổi trẻ nhất mắc ung thư trong là 33 tuổi, lớn nhất là 78 tuổi

3.2. Nồng độ CA15-3, CA125, CEA và TSGF trên đối tượng nghiên cứu.

Bảng 3.2. Nồng độ TSGF, CEA, CA153, CA125 trên đối tượng nghiên cứu.

Dấu ấn sinh học	Nhóm bệnh		Nhóm chứng		P
	Trung vị	IQR (khoảng tứ phân vị)	Trung vị	IQR (khoảng tứ phân vị)	
TSGF (U/mL)	18,11	23,16	22,71	20,92	0,563
CEA (ng/ml)	2,07	1,67	1,05	0,6	0,000
CA15-3 (U/mL)	16,90	14,33	12,55	8,12	0,02
CA125 (U/mL)	12,30	12,03	16,05	13,48	0,985

Nhận xét: Khoảng tứ phân vị nồng độ của CEA và CA153 của nhóm bệnh có sự khác biệt với nhóm chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p tương ứng 0,000 và 0,020 (p<0,05). Khoảng tứ phân vị của TSGF và CA125 trong nhóm bệnh và nhóm chứng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p tương ứng 0,563 và 0,985 (p>0,05)

3.3. Độ nhạy và độ đặc hiệu trong chẩn đoán ung thư vú khi phối hợp các dấu ấn sinh học CA15-3, CA125, CEA và TSGF.

Bảng 3.3. Độ nhạy và độ hiệu khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn sinh học

Dấu ấn sinh học	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Độ chính xác (accurately) %
TSGF và CEA	95,0	10,0	52,5
TSGF và CA153	92,5	10,0	51,25
TSGF và CA125	95,0	7,5	51,25
CEA và CA153	20,0	100	60,0
CEA và CA125	20,0	92,5	56,25
CA153 và CA125	22,5	100	61,25

Nhận xét: Độ nhạy cao nhất khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn là TSGF và CEA, TSGF và

CA125 với 95,0%. Độ đặc hiệu cao nhất khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn là CEA và CA125, CA15-3 và CA125 với 100%. Độ chính xác cao nhất khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn là CA15-3 và CA125 (61,25%), sau đó là CEA và CA15-3 (60%)

Bảng 3.4. Độ nhạy và độ đặc hiệu khi sử dụng phối hợp đồng thời 3 dấu ấn sinh học

Dấu ấn sinh học	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Độ chính xác (accurately) %
CA15-3, CA125, CEA	27,5	92,5	60
CA15-3, CEA, TSGF	95,0	7,5	51,25
CA15-3, CA125, TSGF	95,0	5,0	50,0
CA125,CEA, TSGF	95,0	7,5	51,25

Nhận xét: Độ nhạy cao nhất khi phối hợp đồng thời 3 dấu ấn: (CA15-3, CA125, TSGF), (CA15-3, CEA, TSGF) và (CA125,CEA, TSGF) với 95,0%. Độ đặc hiệu cao nhất khi phối hợp đồng thời CA15-3, CA125, CEA với 92,5%. Độ chính xác cao nhất trong phối hợp đồng thời CA15-3, CA125, CEA với 60%.

Bảng 3.5. Độ nhạy và độ đặc hiệu khi sử dụng phối hợp 4 dấu ấn sinh học

Dấu ấn sinh học	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Độ chính xác (accurately) %
CA15-3, CA125,CEA, TSGF	95,0	7,5	51,25

Nhận xét: Độ nhạy cao với 95,0%, độ đặc hiệu thấp 7,5%, độ chính xác trung bình 51,25%.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của các đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm tuổi có tỷ lệ mắc ung thư cao nhất là 51-60 tuổi (42,5%), tiếp đó là >60 tuổi (22,5%) và xu hướng tuổi càng cao tỷ lệ mắc càng tăng. Kết quả này phù hợp với nhiều y văn trong nước cũng như nước ngoài với độ tuổi mắc ung thư cao nhất >50 tuổi, và tỷ lệ hiếm gặp ở tuổi dưới 50 [2]. Có nghiên cứu cũng chỉ ra sự thay đổi của các hormon giới tính thúc đẩy các yếu tố phát triển ung thư ở phụ nữ giai đoạn tiền mãn kinh làm tăng nguy cơ mắc ung thư vú [3].

4.2. Nồng độ của TSGF, CEA, CA153, CA125 trên bệnh nhân ung thư vú.

Theo kết quả từ bảng 3.2, khoảng tứ phân vị nồng độ của CEA và CA15-3 của nhóm

bệnh có sự khác biệt với nhóm chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p tương ứng 0,000 và 0,020 ($p < 0,05$). Bên cạnh đó khoảng tứ phân vị của TSGF và CA125 trong nhóm bệnh và nhóm chứng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p tương ứng 0,563 và 0,985 ($p > 0,05$). Nghiên cứu Wang G. và cs (2014) nghiên cứu trên 3 nhóm (nhóm ung thư vú, nhóm u lành tính và nhóm người khỏe mạnh) kết quả cho thấy ở bệnh nhân ung thư vú nồng độ CA15-3 ($93,79 \pm 21,80$ U/ml), CA125 ($86,68 \pm 21,37$ U/ml), CEA ($43,29 \pm 16,81$ ng/ml) và TSGF ($145,46 \pm 32,11$ U/ml). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với nhóm u lành tính và người khỏe mạnh, với $p < 0,01$ [4]. Sự khác biệt của nghiên cứu của chúng tôi với các nghiên cứu trên thế giới, có thể giải thích do nghiên cứu trên quần thể nhỏ,

chưa có sự tương đồng hoàn toàn về mẫu nhóm bệnh và nhóm chứng.

4.3. Độ nhạy, độ đặc hiệu của các dấu ấn sinh học CA15-3, CA125, CEA, TSGF khi phối hợp trong chẩn đoán ung thư vú

Khi phối hợp 2 dấu ấn sinh học. Theo kết quả bảng 3.3, nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy độ nhạy cao nhất khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn là TSGF và CEA, TSGF và CA125 với 95,0%. Độ đặc hiệu cao nhất khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn là CEA và CA125, CA15-3 và CA125 với 100%. Độ chính xác cao nhất khi phối hợp đồng thời 2 dấu ấn là CA15-3 và CA125 (61,25%), sau đó là CEA và CA15-3 (60%). Sự phối hợp các xét nghiệm giúp tăng giá trị chẩn đoán bệnh. Zhao S. và cs (2015) nghiên cứu trên các đối tượng u vú lành tính và ung thư vú ác tính và định lượng nồng độ CEA, CA125 ở dịch núm vú, sữa và máu cho thấy độ nhạy khi phối hợp đồng thời xét nghiệm 2 dấu ấn CEA + CA125 là 84% cao hơn có ý nghĩa thống kê với độ nhạy khi xét nghiệm riêng biệt 2 dấu ấn là CEA (62,4%), CA125 (62,5%), tương tự độ đặc hiệu khi phối hợp thấp hơn đáng kể với 74,5% trong khi xét nghiệm đơn lẻ CEA có đặc hiệu tới 88,4%, còn CA125 71,6%. Bên cạnh đó chỉ số AUC khi phối hợp là 0,845 cao hơn khi làm đơn lẻ với $AUC_{CEA}=0,827$, $AUC_{CA125}=0,706$, với $p<0,001$ [5]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả trên khi phối hợp 2 xét nghiệm làm tăng độ nhạy và giảm độ đặc hiệu nhưng độ chính xác chẩn đoán tăng lên và cao nhất khi phối hợp CEA và CA125 với độ chính xác chiếm 61,25%. Tuy nhiên có sự khác biệt về chỉ số của độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác. Sự khác biệt này có thể giải thích do cỡ mẫu nghiên cứu của chúng tôi còn nhỏ chưa đại diện cho quần thể nghiên cứu. Nghiên cứu của Fujita T. và cs (2011)

khi nghiên cứu các dấu ấn sinh học của ung thư vú cho thấy độ nhạy khi phối hợp CEA + CA15-3 là 55%, độ đặc hiệu 86%, độ chính xác 78% trong khi làm riêng biệt các xét nghiệm dấu ấn độ nhạy CEA (39%), CA15-3 (36%); độ đặc hiệu (CEA: 88%, CA15-3: 99%); độ chính xác (CEA: 76%, CA15-3: 83%), sự phối hợp xét nghiệm này có vai trò phát hiện sớm mắc ung thư vú, theo dõi tái phát và nguy cơ di căn ung thư vú ác tính [6]. Bên cạnh đó, chúng tôi nhận thấy xét nghiệm khi phối hợp dấu ấn sinh học TSGF có độ nhạy rất cao từ 92,5% đến 95% khi phối hợp với các dấu ấn sinh học khác, như vậy, liệu ứng dụng trong thực tiễn lâm sàng của TSGF rất có ý nghĩa trong sàng lọc các bệnh nhân ung thư vú ác tính, và có thể tăng giá trị chẩn đoán với các xét nghiệm khác có độ đặc hiệu cao lần lượt sau khi làm TSGF.

Khi phối hợp 3 dấu ấn sinh học

Kết quả bảng 3.4 nhận thấy rằng khi phối hợp đồng thời 3 dấu ấn sinh học: Độ nhạy cao nhất khi phối hợp đồng thời 3 dấu ấn: (CA15-3, CA125, TSGF), (CA15-3, CEA, TSGF) và (CA125, CEA, TSGF) với 95,0%. Độ đặc hiệu cao nhất khi phối hợp đồng thời CA15-3, CA125, CEA với 92,5%. Độ chính xác cao nhất trong phối hợp đồng thời CA15-3, CA125, CEA với 60%. So sánh khi phối hợp giữa 2 dấu ấn sinh học chúng tôi nhận thấy các giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu, độ chính xác có xu hướng giảm hơn khi độ chính xác cao nhất khi phối hợp 2 dấu ấn là 61,25% còn phối hợp 3 dấu ấn cao nhất chỉ 60%. Nghiên cứu của Song X. và cs (2020) khi nghiên cứu phối hợp các dấu ấn sinh học CEA, CA15-3, TSGF và siêu âm Doppler màu trong phát hiện sớm ung thư vú cho thấy sẽ làm tăng giá trị chẩn đoán trong ung thư vú như đối với các xét nghiệm đơn lẻ: độ nhạy CA15-3 (64,08%), CEA (62,14%),

TSGF (66,02%); độ đặc hiệu CA15-3 (92,0%), CEA (90,0%), TSGF (90,0%); độ chính xác CA15-3 (73,2%), CEA (71,24%), TSGF (73,86%). Sau khi phối hợp các xét nghiệm làm tăng giá trị chẩn đoán bệnh với độ nhạy 95,15%, độ đặc hiệu 80,0% và độ chính xác 90,2%, sự khác biệt này sau phối hợp có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ ở cả độ nhạy và độ chính xác [7]. Như vậy, phối hợp xét nghiệm các dấu ấn sinh học sẽ giúp cho giá trị chẩn đoán bệnh chính xác hơn các xét nghiệm đơn lẻ. Tuy nhiên dựa vào giá trị chẩn đoán, lợi ích của việc phối hợp, chi phí cho xét nghiệm việc ứng dụng lâm sàng trong xét nghiệm cần phải cân nhắc phối hợp 2 hay 3 dấu ấn sinh học cho phục vụ chẩn đoán.

Khi phối hợp 4 dấu ấn sinh học

Kết quả nghiên cứu chúng tôi ở bảng 3.5 nhận thấy khi phối hợp đồng thời cả 4 dấu ấn sinh học CEA, CA125, CA15-3 và TSGF thì độ nhạy cao với 95,0%, độ đặc hiệu thấp 7,5%, độ chính xác trung bình 51,25%. So sánh với việc phối hợp 3 dấu ấn, 2 dấu sinh học, có vẻ việc phối cả 4 dấu ấn sinh học trên không làm tăng giá trị chẩn đoán hơn phối hợp 3 dấu ấn sinh học và 2 dấu ấn sinh học. Nghiên cứu của Wang G. và cs (2014) [7] cho thấy khi phối hợp đồng thời 4 dấu ấn sinh học (TSGF+CEA+CA125+CA15-3) độ nhạy tăng lên có ý nghĩa thống kê là 97,7% cao hơn so với các xét nghiệm đơn lẻ (CEA-53,5%, CA125-55,8%, TSGF-62,8%, CA15-3 60,5%) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tuy nhiên, việc phối hợp 4 dấu ấn này làm giảm độ đặc hiệu với 75,0% so với các xét nghiệm đơn lẻ (CEA 89,0%, CA125 90,4%, CA15-3 91,9% và TSGF 91,2%) và độ chính xác với 80,5% trong khi độ chính xác của xét nghiệm đơn lẻ (CA15-3 84,4%, CA125 82,2%, CEA 80,5% và TSGF 84,4%). Như

vậy, việc phối hợp nhiều dấu ấn sinh học cần được cân nhắc về lợi ích chẩn đoán, chi phí xét nghiệm so với việc làm các xét nghiệm đơn lẻ.

V. KẾT LUẬN

Phối hợp 2 dấu ấn có độ nhạy cao nhất là TSGF + CA125 với 95%, độ đặc hiệu cao nhất là CEA + CA15-3 và CA125 + CA15-3 với 100%, độ chính xác cao nhất là CA153 + CA125 (61,25%). Phối hợp 3 dấu ấn, độ chính xác cao nhất ở CA15-3 + CA125 + CEA. Phối hợp 4 dấu ấn độ chính xác chỉ 51,25%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Globocan** (2018), "Breast", International Agency of Research on Cancer, WHO, p1-2.
2. **Bonadonna G., Hortobagyi G.N., Valagussa P., et al.** (2006), Textbook of breast cancer: a clinical guide to therapy, Taylor & Francis, London New York
3. **ESHRE Capri Workshop Group** (2004), "Hormones and breast cancer", Hum Reprod Update, 10(4), p281–293.
4. **Wang G., Qin Y., Zhang J., et al.** (2014), "Nipple Discharge of CA15-3, CA125, CEA and TSGF as a New Biomarker Panel for Breast Cancer", Int J Mol Sci, 15(6), p9546–9565.
5. **Zhao S., Mei Y., Wang J., et al.** (2016), "Different Levels of CEA, CA153 and CA125 in Milk and Benign and Malignant Nipple Discharge", PLOS ONE, 11(6), e0157639
6. **Fujita T., Murayama K., Hanamura T., et al.** (2011), "CSLEX (Sialyl Lewis X) is a Useful Tumor Marker for Monitoring of Breast Cancer Patients", Jpn J Clin Oncol, 41(3), p394–399.
7. **Song X., Liang B., Wang C., et al.** (2020), "Clinical value of color Doppler ultrasound combined with serum CA153, CEA and TSGF detection in the diagnosis of breast cancer", Exp Ther Med, 20, p1822-1828

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ ACID HYALURONIC VÀ PROCOLLAGEN TYPE III N-TERMINAL PEPTID HUYẾT THANH Ở BỆNH NHÂN BỆNH GAN MẠN TÍNH

Phan Thị Thanh Nhân¹, Phạm Thiện Ngọc², Đặng Thị Ngọc Dung²

TÓM TẮT

Acid hyaluronic (HA), procollagen type III N-terminal peptid (PIIIP NP), hai cơ chất ngoại bào, đóng vai trò dấu ấn trực tiếp trong sinh bệnh học xơ hóa gan (XHG). Nghiên cứu trên 114 bệnh nhân bệnh gan mạn (BGM) có đánh giá xơ hóa gan bằng Fibroscan và 96 người khỏe mạnh để khảo sát nồng độ HA, PIIIP NP huyết thanh và tìm hiểu mối liên quan với một số yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng khác. Kết quả: nồng độ HA, PIIIP NP huyết thanh ở nhóm bệnh nhân cao hơn nhóm người khỏe mạnh ($p < 0,001$). Ngưỡng chẩn đoán, độ nhạy và độ đặc hiệu trong chẩn đoán XHG nặng trở lên ($> F3$) của HA là 129,8 ng/mL, 77,5% và 85,29%; PIIIP NP là 27,44 ng/mL, 75% và 82,35%. Nồng độ HA, PIIIP NP huyết thanh có mối tương quan có ý nghĩa thống kê với một số yếu tố lâm sàng như tuổi, nguyên nhân gây bệnh; yếu tố cận lâm sàng như siêu âm gan, chỉ số huyết học, sinh hóa máu.

Từ khóa: Bệnh gan mạn tính, acid hyaluronic, procollagen type III N-terminal peptid

SUMMARY

RESEARCH ON SERUM HYALURONIC ACID AND

¹ Bệnh viện đa khoa tỉnh Vĩnh Phúc,

² Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Đặng Thị Ngọc Dung

Email: dzunghmu@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

PROCOLLAGEN TYPE III N- TERMINAL PEPTIDE IN PATIENTS WITH CHRONIC LIVER DISEASES.

Hyaluronic acid (HA), procollagen type III N-terminal peptide (PIIIP NP) are two extracellular components playing role as direct markers in the pathogenesis of liver cirrhosis. Our study is carried on 114 patients with chronic liver disease assessed by FibroScan and 80 healthy people to examine serum concentrations of HA, PIIIP NP and to find the association with some clinical and paraclinical factors. Results: serum HA, PIIIP NP in the patient group was higher than in the healthy group ($p < 0.001$). The threshold of diagnosis, sensitivity and specificity in diagnosing severe liver cirrhosis ($> F3$) of HA is 129.8 ng / mL, 77.5% and 85.29%, PIIIP NP is 27.41 ng/mL, 75% and 82.35% respectively. Serum HA, PIIIP NP had a statistically significant correlation with a number of clinical factors such as age and cause of disease; paraclinical factors such as ultrasound of the liver, metabolic index, blood biochemistry.

Key words: Chronic liver disease, hyaluronic acid, procollagen type III N-terminal peptide

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh gan mạn tính (BGM) là một quá trình bệnh đần xen sự phá hủy và tái tạo nhu mô gan kéo dài trên 6 tháng, bao gồm viêm gan mạn tính, xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan.¹ Có 4 nguyên nhân chính gây BGM là virus viêm gan B, C, rượu và bệnh gan

nhễm mỡ không do rượu (NAFLD).² Trước đây, sinh thiết gan được coi là tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán XHG nhưng hiện nay, các xét nghiệm hay thủ thuật ít/không xâm lấn được ưu tiên hơn bao gồm các yếu tố lâm sàng, hình ảnh học, xét nghiệm máu đặc biệt là các chất đánh dấu XHG. Trong đó, HA và PIIIP NP, hai cơ chất ngoại bào, là hai dấu ấn trực tiếp được nghiên cứu và cho thấy nhiều vai trò nổi bật trong chẩn đoán sớm xơ hóa gan. Tại Việt Nam, nghiên cứu về vai trò của HA, PIIIP NP trong chẩn đoán XHG còn rất sơ sài, vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: “Khảo sát nồng độ HA và PIIIP NP huyết thanh và tìm hiểu mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng khác ở bệnh nhân BGM”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Chúng tôi tiến hành thu thập được 210 đối tượng gồm 114 bệnh nhân BGM tại khoa Viêm Gan – Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương và 96 người khỏe mạnh tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 10/2019 đến tháng 10/2020. Nghiên cứu mô tả cắt ngang, lấy mẫu thuận tiện.

Nhóm bệnh nhân BGM (do các nguyên nhân virus viêm gan B, C mạn tính, lạm dụng rượu và nhóm nguyên nhân khác) được lấy máu xét nghiệm và đánh giá mức độ XHG dựa vào đo chỉ số Fibroscan ngay khi mới vào viện. Nhóm người khỏe mạnh (tiền sử khỏe mạnh, xét nghiệm cơ bản chức năng gan và siêu âm ổ bụng không có gì bất thường). Mẫu máu 2 nhóm được thu thập, bảo quản và chạy chỉ số HA, PIIIP NP trên

máy Maglumi 800 theo nguyên lý miễn dịch hóa phát quang.

Xử lý và phân tích số liệu trên phần mềm STATA 12.0 bằng các thuật toán thống kê y học. Tất cả so sánh có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$. Các biến định tính trình bày dưới dạng tần số và tỉ lệ phần trăm, biến định lượng trình bày dưới dạng Mean $\pm$ SD. T-test dùng để so sánh trung bình 2 nhóm số liệu có phân phối chuẩn; Anova, Ranksum test dùng so sánh nhiều giá trị trung bình từng cặp và giữa các nhóm. Kiểm định χ^2 được sử dụng để xác định mối liên quan giữa 2 biến định tính. Xác định mối tương quan theo Spearman test. Mức độ tương quan: $|r| < 0,3$ yếu, $0,3 < |r| < 0,5$ trung bình, $0,5 < |r| < 0,7$ chặt chẽ, $|r| > 0,7$ rất chặt chẽ.

Đạo đức trong nghiên cứu: đề tài mã số HA001 đã được Hội đồng Đạo đức trường Đại học Y Hà Nội chấp thuận theo chứng nhận chấp thuận số 145/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN ngày 18/09/2020.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nhóm bệnh 114 bệnh nhân bao gồm 70 nam và 40 nữ, không có sự khác biệt về nồng độ trung bình HA, PIIIP NP ở 2 giới ($p > 0,05$). Tuổi trung bình nhóm bệnh là $51,24 \pm 15,3$ có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nam và nữ ($p < 0,01$). Lý do vào viện chủ yếu của người bệnh là mệt mỏi (35%), vàng da vàng mắt (28%) và chán ăn (20%). Nồng độ HA, PIIIP NP trung bình nhóm bệnh là $391,47 \pm 505,93$ và $29,75 \pm 11,22$ ng/mL cao hơn nhóm khỏe mạnh là $78,92 \pm 145,33$ và $13,17 \pm 4,10$ ng/mL ($p < 0,001$).

Bảng 3.1. Đặc điểm nồng độ HA, PIIIP NP ở nhóm bệnh

Đặc điểm	n (%)	HA	p	PIIIP NP	p'
Nguyên nhân					
VRVG B	74	360,70 ± 432,56		62,80 ± 71,73	
VRVG C	23	415,43 ± 543,30		61,57 ± 68,81	
BGR	9	779,51 ± 892,88	<0,01	292,35 ± 425,11	<0,01
Khác	8	170,63 ± 284,09		37,83 ± 40,69	
Siêu âm gan					
Bình thường	40	317,24 ± 433,63	0,1768	54,59 ± 66,54	0,07
Gan thô	58	505,37 ± 582,86	<0,01	104,34 ± 190,27	<0,01
Gan to	6	787,9 ± 917,52	0,307	359,89 ± 500,87	0,082
Gan nhiễm mỡ	24	214,79 ± 284,99	<0,05	52,61 ± 61,93	0,13
HC					
<4	34	672,56 ± 583,32		162,38 ± 241,12	
4-5,9	77	280,25 ± 424,95		44,26 ± 41,25	<0,01
>5,9	3	60,26 ± 36,35	<0,01	22,60 ± 4,08	
Hct					
<0,36	26	641,77 ± 582,25		161,48 ± 263,71	
0,36-0,53	88	317,51 ± 459,11	<0,001	54,52 ± 69,36	<0,001
>0,53	-	-		-	
TC					
<150	49	672,39 ± 597,43		120,42 ± 200,58	
150-450	63	183,30 ± 283,42		47,06 ± 70,00	
>450	2	66,12 ± 50,47	<0,001	65,56 ± 56,35	<0,01
PTs					
<14	81	233,57 ± 323,00		45,87 ± 48,85	
≥14	33	779,04 ± 651,94	<0,001	160,04 ± 243,04	<0,01
INR					
<0,8	-	-		-	
0,8-1,3	92	285,13 ± 381,31		48,53 ± 48,68	
>1,3	22	836,14 ± 700,41	<0,001	206,01 ± 287,09	<0,01
Ure					
<2,5	4	185,11 ± 155,70		37,18 ± 15,23	
2,5-8,3	106	403,55 ± 521,93	<0,01	81,13 ± 150,38	<0,01
>8,3	4	277,58 ± 57,97		62,09 ± 31,15	
Albumin					
<34	22	846,44 ± 642,91		197,23 ± 285,21	
34-48	87	293,99 ± 408,48	<0,001	52,02 ± 58,25	<0,01
>48	5	85,68 ± 107,64		26,35 ± 22,82	

Bilirubin toàn phần					
<17	75	492,11 ± 574,84	<0,001	104,72 ± 173,38	<0,01
≥17	39	197,91 ± 243,34		29,30 ± 20,70	
Fibroscan					
F0	4	50,20 ± 21,07		17,52 ± 6,22	
F1	10	77,09 ± 45,03		19,07 ± 8,37	
F2	20	92,45 ± 64,61		24,07 ± 9,57	
F3	13	141,62 ± 115,98	<0,01	28,61 ± 17,86	<0,01
F4	67	596,50 ± 574,63		117,65 ± 179,90	

Nhận xét: virus viêm gan B, C là nguyên nhân hay gặp nhất ở bệnh nhân BGM; cấu trúc gan thô hay gặp nhất trên siêu âm ổ bụng ở nhóm bệnh; sự khác nhau có ý nghĩa của nồng độ HA, PIIIP NP giữa các nhóm chỉ số ($p < 0,01$).

Bảng 3.2. Độ nhạy, độ đặc hiệu của nồng độ HA huyết thanh trong chẩn đoán xơ hóa gan ở nhóm bệnh

Mức độ xơ hóa gan	Giá trị cắt của HA	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Diện tích dưới đường cong
F1	77,09	77,27	100	0,8705
F2	95,03	74,0	92,86	0,8279
F3	129,8	77,5	85,29	0,8577
F4	236,6	73,13	91,49	0,8898

Nhận xét: Khi giá trị HA > 129,8 có nguy cơ bị xơ hóa gan mức độ nặng $F \geq 3$ với diện tích dưới đường cong (AUC) 0,8577 với độ nhạy 77,5% và độ đặc hiệu 85,29%. Khi giá trị HA > 236,6 có nguy cơ bị xơ gan với diện tích dưới đường cong (AUC) 0,8898, độ nhạy 73,13% và độ đặc hiệu 91,49%.

Bảng 3.3. Độ nhạy, độ đặc hiệu của nồng độ PIIIP NP huyết thanh trong chẩn đoán xơ hóa gan ở nhóm bệnh

Mức độ xơ hóa gan	Giá trị cắt của PIIIP NP	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Diện tích dưới đường cong
F1	17,94	90	75	0,8580
F2	23,32	77	78,57	0,8579
F3	27,44	75	82,35	0,8686
F4	33,01	79,1	85,11	0,9017

Nhận xét: Khi giá trị PIIIP NP > 27,44 có nguy cơ bị xơ hóa gan mức độ nặng $F \geq 3$ với diện tích dưới đường cong (AUC) 0,8686 với độ nhạy 75% và độ đặc hiệu 82,35%. Khi giá trị PIIIP NP > 33,01 có nguy cơ bị xơ gan với diện tích dưới đường cong (AUC) 0,9017, độ nhạy 79,1% và độ đặc hiệu 85,11%.

Bảng 3.4. Mối tương quan giữa HA, PIIP NP huyết thanh với các yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng khác

Đặc điểm	HA		PIIP NP	
	Hệ số tương quan (r)	p	Hệ số tương quan (r)	p
Tuổi	0,2485	<0,001	-	-
Nguyên nhân	-0,0519	0,5836	-0,0291	0,7585
Siêu âm gan				
Gan thô	-0,2525	<0,001	-0,2986	<0,05
Gan nhiễm mỡ	1,1981	0,0346		
HC	-0,4646	<0,001	-0,4396	<0,001
Hct	-0,3669	<0,001	-0,3237	<0,001
TC	-0,5621	<0,001	-0,4086	<0,001
PTs	0,4579	<0,01	0,4311	<0,001
INR	0,3806	<0,01	0,4019	<0,001
Ure	0,0906	0,3379	0,0719	0,4468
Albumin	-0,4766	<0,001	-0,4831	<0,001
Bilirubin tp	-0,3133	<0,001	-0,4414	<0,001
Bilirubin tt	-0,3368	<0,001	-0,4276	<0,001

Nhận xét: nồng độ HA, PIIP NP huyết thanh có mối tương quan yếu với hình ảnh gan thô trên siêu âm, tương quan vừa với các chỉ số máu: HC, Hct, TC, PTs, INR, Albumin, Bilirubin TP, Bilirubin TT trong đó HA có mối tương quan rõ ràng hơn ($p < 0,001$), PIIP NP ($p < 0,01$).

IV. BÀN LUẬN

Độ tuổi trung bình của nhóm bệnh là 51,24 và nồng độ HA trung bình nhóm bệnh gan là $391,47 \pm 505,93$ ng/mL cao hơn nhóm khỏe mạnh là $78,92 \pm 145,33$ ng/mL ($p < 0,001$) khá tương đồng với nghiên cứu của Lâm Hoàng Cát Tiên và cộng sự (2011) với độ tuổi trung bình 46 ± 13 và nồng độ HA trung bình nhóm bệnh và nhóm khỏe là $349,93 \pm 447,47$ và $73,37 \pm 76,85$ ng/mL.³

Nồng độ HA, PIIP NP khác nhau có ý nghĩa giữa các mức độ xơ hóa gan ($p < 0,01$) tương tự như nghiên cứu Lu và cộng sự (2003).⁴ Các nghiên cứu này nhận định nồng độ HA cao hơn có ý nghĩa trong nhóm bệnh nhân xơ gan và nồng độ HA tăng tỉ lệ với độ nặng của xơ gan. Nghiên cứu của Monika và cộng sự (2016,2017) cũng chỉ ra HA, PIIP

NP là dấu ấn có giá trị trong chẩn đoán xơ hóa gan sớm.^{5,6}

Tại điểm cắt HA, PIIP NP 129,8 và 27,44 ng/mL có khả năng dự đoán xơ hóa gan nặng trên bệnh nhân BGM với độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt là 77,5%, 85,29% và 75%, 82,35%. Giá trị chẩn đoán của HA, PIIP NP lần lượt là 0,8577 và 0,8686.

Nồng độ HA, PIIP NP huyết thanh có mối tương quan với tuổi, siêu âm gan, các chỉ số công thức máu, đông máu cơ bản, sinh hóa máu. So với nghiên cứu của Xinhshun Qi và cộng sự (2016), chúng tôi nhận thấy nồng độ HA, PIIP NP huyết thanh có mối tương quan yếu với hình ảnh gan thô trên siêu âm, tương quan vừa với các chỉ số máu: HC, Hct, TC, PTs, INR, Albumin, Bilirubin TP, Bilirubin TT trong đó HA có mối tương quan rõ ràng hơn.⁷

V. KẾT LUẬN

Nồng độ HA, PIIIP NP ở nhóm bệnh nhân BGM cao hơn so với nhóm khỏe mạnh.

Nồng độ HA, PIIIP NP khác nhau có ý nghĩa giữa các nhóm nguyên nhân xơ gan và tăng dần theo mức độ xơ hóa gan.

Ngưỡng chẩn đoán, độ nhạy và độ đặc hiệu trong chẩn đoán XHG nặng trở lên (>F3) của HA là 129,8 ng/mL, 77,5% và 85,29%; PIIIP NP là 27,44 ng/mL, 75% và 82,35%.

Có sự tương quan giữa HA, PIIIP NP với các yếu tố gan thô trên siêu âm, chỉ số HC, Hct, TC, PTs, INR, Albumin, Bilirubin TP, Bilirubin TT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Marcellin P, Kutala BK (2018). Liver diseases: A major, neglected global public health problem requiring urgent actions and large-scale screening. *Liver Int.*, **38**(1), 2–6.
2. Blachier M, Leleu H, Peck-Radosavljevic

M, et al (2013). The burden of liverdisease in Europe: a review of available epidemiological data. *J Hepatol*, **58** (3), 593-608.

3. Lâm Hoàng Cát Tiên, Bùi Hữu Hoàng và cs (2011). Giá trị của acid hyaluronic trong chẩn đoán không xâm lấn xơ gan còn bù, *Tạp chí Y học, Y học TP HCM* tập 15, phụ bản số 1.
4. Lu L et al (2003). Relationship between clinical and pathologic findings in patients with chronic liver diseases, *World J Gastroenterol*, **9** : 2796-2800
5. Monika Gudowska et al (2016). Hyaluronic acid concentration in liver diseases. *Clin Exp Med*, **16**(4), 523–528.
6. Monika Gudowska et al (2017). High serum N-terminal propeptide of procollagen type III concentration is associated with liver diseases. *Prz Gastroenterol.*, **12**(3), 203–207.
7. Xinhshun Qi et al (2016). Serum Liver Fibrosis Markers in the Prognosis of Liver Cirrhosis: A Prospective Observational Study, *Met Sci Monit*, **22**: 2720–2730.

TỶ LỆ PHÁT HIỆN BIẾN THỂ HEMOGLOBIN TRÊN KỸ THUẬT ĐIỆN DI MAO QUẢN HbA1C

Nguyễn Hữu Huy*, Nguyễn Thị Huyền*,
Nguyễn Thị Băng Sương***, Nguyễn Hoàng Bắc***

TÓM TẮT

Mở đầu: Chỉ số HbA1c rất quan trọng để theo dõi tính hiệu quả của việc kiểm soát bệnh

**Bệnh viện Đại học Y Dược TP.Hồ Chí Minh*

***Đại học Y Dược TP.Hồ Chí Minh*

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn thị Băng Sương

Email: suongnguyenmd@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 26.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

đái tháo đường. Có nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến độ chính xác của kết quả HbA1c phụ thuộc vào phương pháp xét nghiệm được sử dụng, trong đó các biến thể hemoglobin có thể gây ra sai số đáng kể đối với kết quả HbA1C.

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ biến thể hemoglobin trên kỹ thuật điện di mao quản.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 1145 mẫu bệnh nhân thực hiện xét nghiệm HbA1c điện di mao quản Sebia Capillarys 3 Tera tại Khoa Xét nghiệm, bệnh viện Đại học Y Dược

TP. Hồ Chí Minh.

Kết quả: Trong tổng số 1145 bệnh nhân xét nghiệm HbA1c bằng phương pháp điện di mao quản, phát hiện 66 trường hợp bất thường hemoglobin, chiếm 5,76%. Trong đó có 12 trường hợp tăng HbF (18,18 %), 48 bệnh nhân HbE trait (72,73%), 3 bệnh nhân HbC trait (4,55%), 1 bệnh nhân HbD trait (1,52%) và 2 bệnh nhân có bất thường về HbA2 nhưng không xác định được biến thể hemoglobin (chiếm 3,02)%.

Kết luận: Phương pháp điện di mao quản HbA1C phát hiện hiệu quả các yếu tố nhiễu phân tích và nhiễu sinh học lên đo lường HbA1c.

Từ khóa: HbA1C, điện di mao quản, biến thể hemoglobin

SUMMARY

RATE OF HEMOGLOBIN VARIANTS DETECTED AND THEIR EFFECTS ON HBA1C MEASUREMENTS BY CAPILLARYS ELECTROPHORESIS METHOD

Introduction: HbA1c is known as an important criteria, used to monitor the effectiveness of diet management and treatment of diabetes. There are several conditions that can be affected the accuracy of the HbA1c measurement depending on the used methods which hemoglobin variations can lead a significant error to the HbA1C result.

Objective: Estimate rate of hemoglobin variants detected and their effects on HbA1c measurements by capillary electrophoresis method

Materials and Methods: Performed randomly HbA1c assay on 1145 patient samples by capillary electrophoresis method with the system Sebia Capillarys 3 Teraand, at Laboratory Department, Ho Chi Minh University Medical Centre.

Results: In total 1145 patients were tested HbA1c by capillary electrophoresis method, there are 66 cases detected hemoglobin disorders, averaging 5.76%. In particular, among those 66 cases, 2 patients without reported results (known as an analytical interference) is approximately 3.03% and other 64 cases may impact red blood lifespan (biological interference).

Conclusions: HbA1C capillary electrophoresis method is effective technique to detect analytical and biological interferences on HbA1c measurement.

Keywords: HbA1C, capillary electrophoresis, hemoglobin variants

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chỉ số hemoglobin A1c (HbA1c) theo định nghĩa của Liên đoàn Hóa sinh lâm sàng quốc tế (IFCC - International Federation of Clinical Chemistry) là một phân nhóm của HbA1, trong đó valin có chuỗi N tận (N-terminal Val) của phân tử hemoglobin này sẽ phản ứng với glucose thông qua phản ứng glycosyl hóa không cần enzym xúc tác và không thuận nghịch để tạo nên sản phẩm amadori gọi là HbA1c bị glycosyl hóa (hay HbA1c) [1].

Chỉ số HbA1c là xét nghiệm quan trọng để theo dõi tính hiệu quả của việc kiểm soát chế độ ăn và liệu pháp trong quá trình điều trị bệnh tiểu đường. Vì tuổi thọ trung bình của một tế bào hồng cầu khoảng 120 ngày, nên giá trị đo hemoglobin A1c phản ánh nồng độ glucose máu trung bình hàng ngày trong 2 đến 3 tháng trước và cung cấp chỉ báo kiểm soát đường huyết tốt hơn nhiều so với xét nghiệm glucose máu hoặc nước tiểu. Quan trọng hơn, chỉ số HbA1c còn dự báo nguy cơ biến chứng vi mạch, và việc hạ thấp nồng độ HbA1c (bằng cách kiểm soát chặt

đường huyết) làm giảm có ý nghĩa tốc độ tiến triển của các biến chứng vi mạch [2].

Có nhiều yếu tố có thể ảnh hưởng đến độ chính xác của xét nghiệm HbA1c phụ thuộc vào phương pháp xét nghiệm được sử dụng, trong đó các biến thể hemoglobin có thể gây ra sai số đáng kể đối với kết quả HbA1c [3]. Hơn 1000 biến thể hemoglobin đã được xác định, với nhiều biến thể trong số đó không có biểu hiện lâm sàng rõ ràng [4]. Độ lệch HbA1c 1% phản ánh sự thay đổi nồng độ đường huyết trung bình 1,4 - 1,9 mmol/L. Do đó, giá trị HbA1c cao hoặc thấp giả gây ra bởi các biến thể hemoglobin có thể dẫn đến việc điều trị không phù hợp cho bệnh nhân tiểu đường. Sắc ký lỏng cao áp trao đổi ion (HPLC) là một trong những phương pháp bị ảnh hưởng bởi tác động của các biến thể hemoglobin đối với xét nghiệm HbA1c [5], [6]. Trong những trường hợp như vậy, cần sử dụng kỹ thuật định lượng HbA1c nào để cho kết quả chính xác nhất? Liệu phương pháp định lượng HbA1c bằng điện di mao quản (Capillary electrophoresis – CE) có hữu ích trên các bệnh nhân có biến thể Hemoglobin hay không? Xuất phát từ thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Tỷ lệ phát

hiện và ảnh hưởng của biến thể hemoglobin trên kỹ thuật điện di mao quản HbA1c”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu cắt ngang mô tả

Đối tượng nghiên cứu

Trong khoảng thời gian 2 tháng 06-07 năm 2020, chúng tôi thu thập (khảo sát) được 1145 mẫu bệnh nhân thực hiện xét nghiệm HbA1c điện di mao quản tại Khoa Xét nghiệm, bệnh viện Đại học Y dược Tp. Hồ Chí Minh

Thực hiện xét nghiệm HbA1c

Xét nghiệm HbA1c được thực hiện trên mẫu máu toàn phần phản chống đông với ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA), sử dụng hệ thống điện di mao quản Sebia Capillarys 3 Tera (CE). Một số bệnh nhân nghi ngờ có bất thường hemoglobin, kết quả HbA1c được so sánh kết quả với hai hệ thống máy HPLC sắc ký trao đổi ion và HPLC ái lực Boronate.

Xử lý và phân tích số liệu. Sử dụng phần mềm SPSS version 19.0 cho các phân tích thống kê.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Tỷ lệ biến thể Hemoglobin phát hiện trên máy Sebia Capillarys 3 Tera

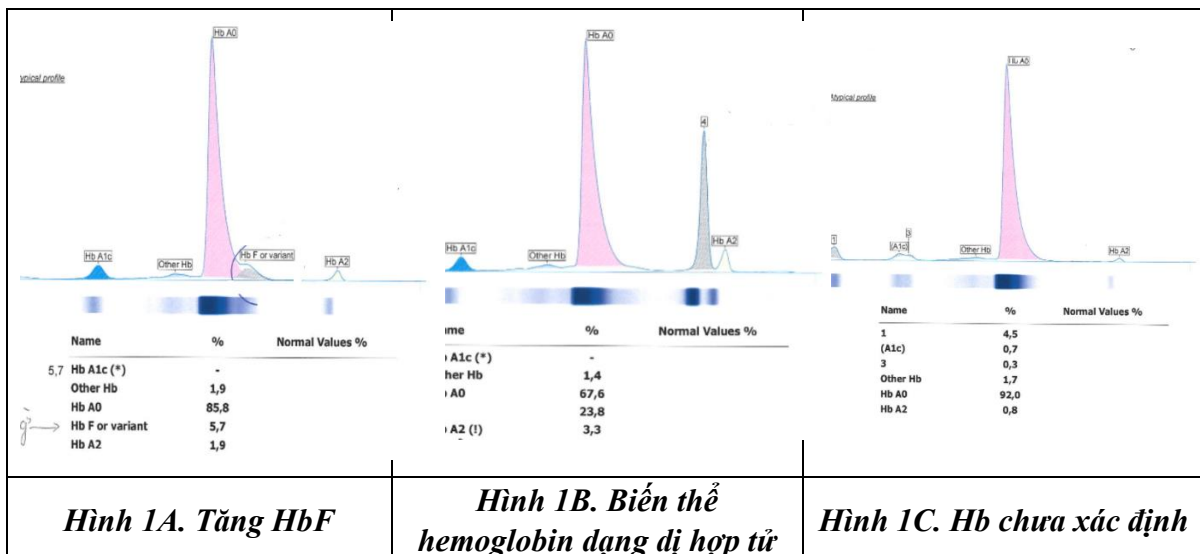
	Thực hiện xét nghiệm HbA1c	Phát hiện bất thường hemoglobin
Số lượng (ca)	1145	66
Tỷ lệ%	100%	5,76%

Nhận xét: Trong tổng số 1145 bệnh nhân xét nghiệm HbA1c trên phương pháp điện di mao quản, phát hiện có 66 trường hợp bất thường hemoglobin, chiếm 5,76%. Nghiên cứu của Sharwari Narawade trên 98/5100 bệnh nhân tiểu đường trong quần thể bệnh

nhân Ấn Độ, phát hiện 1,92% có biến thể Hemoglobin [7]. Weatherall DJ (2001) báo cáo ước tính có 7% dân số thế giới mang biến thể hemoglobin thể dị hợp [8]. Trong khi đó, nghiên cứu của Whiting DR (2011), khoảng 26 triệu người mang biến thể

hemoglobin trên 366 triệu người tiểu đường và số lượng sẽ dự kiến tăng gấp đôi vào năm 2030 [9]. Chương trình NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program) đã khuyến cáo về yếu tố nhiễu sinh học: “Bất cứ điều kiện nào làm giảm đời sống hồng cầu đều gây kết quả thấp giả HbA1c tùy theo phương pháp được sử dụng. HbA1c không

nên được sử dụng để chẩn đoán hay theo dõi đái tháo đường khi có sự hiện diện của bất cứ điều kiện nào làm ảnh hưởng đời sống hồng cầu”. Chính vì thế NGSP đã khuyến cáo các phòng xét nghiệm cần ước tính tỉ lệ mang biến thể hemoglobin trong quần thể bệnh nhân khi lựa chọn phương pháp xét nghiệm HbA1c [10].



Hình 1: Hình ảnh các bất thường của hemoglobin phân tích trên máy Sebia Capillarys 3 Tera

Nhận xét: Trong tổng 66 trường hợp bất thường hemoglobin, có 12 trường hợp tăng HbF (18,18 %) (hình 1A), 48 bệnh nhân HbE trait (72,73%), 3 bệnh nhân HbC trait (4,55%), 1 bệnh nhân HbD trait (1,52%) và 2 bệnh nhân có bất thường về HbA2 nhưng không xác định được biến thể hemoglobin (chiếm 3,02)%. Hai mẫu này đã được chỉ định thực hiện điện di huyết sắc tố và phát hiện 1 trong 2 mẫu là HbH.

Bảng 2: Tỷ lệ các loại biến thể Hemoglobin

Các loại biến thể Hemoglobin	HbF tăng	Hb C trait	Hb D trait	Hb E trait	Hb chưa xác định
Số lượng (ca)	12	3	1	48	2
Tỷ lệ%	18,18	4,55	1,52	72,73	3,03

Bảng 3: So sánh giá trị HbA1c của các bất thường Hemoglobin giữa các hệ thống

Biến thể Hb	% HbA1c (mean $\pm$ SD)			Giá trị P
	CE (Sebia Capillarys 3 Tera)	HPLC (trao đổi ion)	HPLC (ái lực boronat)	
Hb E trait (n = 48)	6,65 $\pm$ 2,12	6,98 $\pm$ 2,06	6,90 $\pm$ 2,63	p>0.05

Hb C trait (n = 1)	5,1	4,9	5,2	
Hb chưa định danh (n = 2)	Không báo cáo kết quả % HbA1c	N/A	4,36 ± 0,35	

*N/A: không thực hiện, sử dụng phép kiểm T-Test

Nhận xét:

- Kết quả HbA1C của bệnh nhân HbE không có sự khác biệt giữa phương pháp điện di mao quản, HPLC trao đổi ion, HPLC ái lực Boronat ($p > 0,05$). HbE là hậu quả của một đột biến tại chuỗi β , làm acid glutamic ở vị trí số 26 bị thay thế bằng lysin. Đây là loại Hb bất thường hay gặp nhất trên thế giới, đột biến HbE liên quan chủ yếu đến vùng Đông Nam Á và ở một vài vùng tần suất có thể lên đến 60%. Theo nghiên cứu được công bố trên NGSP, thì hệ thống Sebia Capillarys 3 Tera không có bất cứ ảnh hưởng nào trên quần thể HbE trait. Điều này có thể dễ dàng giải thích dựa trên cơ chế phân tách rõ ràng và chuẩn xác các thành phần hemoglobin [17,18]

- Với 03 bệnh nhân HbC, chỉ có 1 bệnh nhân được so sánh HbA1c trên máy HPLC. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa phương pháp điện di mao quản, HPLC trao đổi ion và HPLC ái lực Boronat ($p > 0,05$). Các nghiên cứu cho thấy hầu hết các hệ thống của HPLC trao đổi ion có ảnh hưởng bởi Hb C trait. Còn lại không ghi nhận bất cứ nhiễu nào từ các hệ thống điện di mao quản Sebia, Menarini và HPLC ái lực Boronat [11,12,13,14,15]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy kết quả HbA1c của bệnh nhân HbC không có sự khác biệt giữa 3 hệ thống định lượng có thể do cỡ mẫu nhỏ ($n = 1$).

- Nghiên cứu phát hiện 2 bệnh nhân có biến thể Hb bất thường ảnh hưởng lên phân tích HbA1c, trong đó có 1 ca phát hiện HbH (mất 3 chuỗi alpha globin ở bệnh nhân alpha thalassemia) khi điện di huyết sắc tố trên

máy Minicap Flex Piercing (hãng Sebia-Pháp). Tác giả Pravatmuang và cộng sự khẳng định rằng giá trị HbA1c thấp giả nếu có sự hiện diện của HbH. Nguyên nhân do lượng chuỗi β glycated được polyme hóa thành β_4 hoặc HbH, và nó được đánh giá là đỉnh đầu tiên của vùng không định lượng trên sắc ký đồ khiến mức HbA1c đo trên HPLC rất thấp [19]. Trên hệ thống điện di CE, 2 mẫu này không được báo cáo kết quả HbA1c do hệ thống đã phát hiện yếu tố nhiễu phân tích, tuy nhiên phương pháp HPLC ái lực Boronat vẫn trả kết quả do không phát hiện được đây là yếu tố nhiễu phân tích.

V. KẾT LUẬN

Với kỹ thuật điện di mao quản phân tách vượt trội, cho phép chúng ta xác định sự hiện diện của các biến thể hemoglobin thể dị hợp tử và cả thể đồng hợp tử, mang đến công cụ hữu ích hơn cho các nhà lâm sàng trong quản lý bệnh nhân đái tháo đường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Goodall, I., et al., Global standardization of glycated hemoglobin measurement: the position of the IFCC Working Group. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM), 2007. 45(8): p. 1077-1080.
2. Association, A.D., Diagnosis and classification of diabetes mellitus. Diabetes care, 2010. 33(Supplement 1): p. S62-S69.
3. Sacks, D.B., Hemoglobin variants and hemoglobin A1c analysis: problem solved? 2003, Oxford University Press.
4. Huisman, H., et al., Hb Var: a database of human hemoglobin variants and thalassemias,

- summaries of mutation categories. Pennsylvania University USA and McMaster University in Canada, 2001.
5. **Chu, C.-H., et al.**, Very low HbA1c values in a patient with clinical silent hemoglobin variant (Hemoglobin J): A case report. *J Intern Med Taiwan*, 2007. **18**: p. 45-50.
 6. **van den Ouweland, J.M., et al.**, The silent hemoglobin α chain variant Hb Riccarton [α 51 (CE9) Gly $\rightarrow$ Ser] may affect HbA1c determination on the HLC-723 G7 analyzer. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2008. **46**(6): p. 827-830.
 7. **Sharwari Narawade*, N Mahalle, M Mandolkar, S Naik**, Hemoglobin variants in samples requested for HbA1c, *International Journal of Hematology and Therapy*, 2019.
 8. **Weatherall DJ, Clegg JBBull**, Inherited haemoglobin disorders: an increasing global health problem, *World Health Organ.* 2001; 79(8):704-12.).
 9. **Whiting DR, Guariguata L, Weil C, Shaw J**, *IDF diabetes atlas: global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030.* *Diabetes Res Clin Pract.* 2011 Dec; 94(3):311-21.).
 10. **NGSP**. Factors that interfere with HbA1c test results; c2010. January 2014. [http:// www. ngsp.org/ factors.asp](http://www.ngsp.org/factors.asp). Accessed April 2014
 11. **Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, Siebelder C, Higgins T, Molinaro R, Yip PM, Little R**. Effects of hemoglobin C,D,E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. *Clin Chim Acta* 2016, 455:80-83.
 12. **Lenters-Westra E**. Common Hb-variants show no longer interference on the Tosoh G8 after an update of the software. *Clin Chim Acta* 2016, 463:73-74.
 13. **Lenters-Westra E**. Software updates of Tosoh HPLC analyzers can cause and resolve interference of Hb-variants for HbA1c. *Clin Chim Acta* 2018, 485:234-5.
 14. **Mongia SK, Little RR, Rohlfing CL, Hanson S, Roberts RF, Owen WE, D'Costa MA, Reyes CA, Luzzi VI, Roberts WL**. Effects of Hemoglobin C and S Traits on Fourteen Commercial Glycated Hemoglobin Assays. *Amer J Clin Path* 2008; 130:136-140.
 15. **Roberts WL, Safar-Pour S, De B.K., Rohlfing C, Weykamp CW, Little RR**. Effects of hemoglobin C and S traits on glycohemoglobin measurements by eleven methods. *Clin Chem* 2005;51:776-78.
 16. <https://bthh.org.vn/69/xet-nghiem-dien-di-huyet-sac-to-hemoglobin-50681.html>
 17. **Lin CN, Emery T, Little RR, Hanson SE, Rohlfing CL, Jaissonc S, Gillery P, Roberts WL**. Effects of hemoglobin C, D, E, S traits on measurements of HbA1c by six methods. *Clin Chim Acta* 2012;413: 819-21
 18. **Rohlfing C, Hanson S, Weykamp C, Siebelder C, Higgins T, Molinaro R, Yip PM, Little R**. Effects of hemoglobin C,D,E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. *Clin Chim Acta* 2016, 455:80-83.
 19. **Pravatmuang P, Sae-Ngow B, Whanpuch T, Leowattana W**. Effect of HbE and HbH on HbA1C level by ionic exchange HPLC comparing to immunoturbidimetry. *Clinica Chimica Acta.* 2001;313(1-2):171-178. [PubMed] [Google Scholar]
 20. **Murat Can, Berrak Guven and Ayse Semra Demir Akca**. Effect of hemoglobin F And A2 on hemoglobin A1c determined by cation exchange high-performance liquid chromatography. <https://doi.org/10.1515/labmed-2019-0040>. Received March 6, 2019; accepted August 2019; previously published online September 20, 2019.
 21. **Rund D, Rachmilewitz E**. Beta-thalassemia. *N Engl J Med* 2005;353:1135-46
 22. **Higgs DR, Engel JD**. Stamatoyannopoulos G. Thalassemia. *Lancet* 2013;379:373-83

NGHIÊN CỨU QUY TRÌNH XÁC ĐỊNH ĐA HÌNH GEN CYP2C9*3 VÀ VKORC1-1639G>A BẰNG KỸ THUẬT PCR-CTPP Ở BỆNH NHÂN TIM MẠCH DÙNG THUỐC ACENOCOUMAROL TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Hà Thế Duy¹, Phạm Thị Thùy¹, Bùi Thị Thu Hương¹,
Nguyễn Thị Hoa¹, Lê Thị Minh Hiền¹, Hoàng Xuân Hiếu²

TÓM TẮT

Acenocoumarol được dùng phổ biến trong phòng ngừa huyết khối ở bệnh nhân mắc bệnh lý về tim mạch như rung nhĩ, huyết khối tĩnh mạch sâu, sau thay van tim. Liều thuốc có sự khác biệt giữa các cá thể người bệnh phụ thuộc nhiều vào tuổi tác, trọng lượng cơ thể và đa hình gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A. Nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu: Xây dựng quy trình xác định đa hình gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP (PCR with confronting two-pair primers) ở bệnh nhân tim mạch dùng thuốc chống đông acenocoumarol tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên. Phương pháp: Xác định tần số alen, kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP và giải trình tự gen. Kết quả: Xây dựng được quy trình phân tích đa hình gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP. Tỷ lệ alen biến dị của CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A lần lượt là 0,03 và 0,87.

Từ khóa: SNP, CYP2C9*3, VKORC1-1639G>A, PCR-CTPP

SUMMARY

DEVELOPMENT OF PROCEDURES FOR DETERMINING GENETIC POLYMORPHISM CYP2C9*3 AND VKORC1-1639G>A BY PCR-CTPP TECHNOLOGY IN CARDIOVASCULAR PATIENTS USING ACENOCOUMAROL IN THAI NGUYEN NATIONAL HOSPITAL

Acenocoumarol is commonly used in the prevention of thrombosis in patients with cardiovascular diseases such as atrial fibrillation, deep vein thrombosis, after heart valve replacement. The dose of the drug is different between individuals, depending on age, body weight and gene polymorphisms CYP2C9*3 and VKORC1-1639G>A. The research was carried out with the aim of: Development the process of identifying CYP2C9*3 and VKORC1-1639G>A genetic polymorphism by PCR-CTPP (PCR with confronting two-pair primers) in cardiovascular patients with acenocoumarol at Thai Nguyen National Hospital. Methods: Determination of allele frequency, genotypes CYP2C9*3 and VKORC1-1639G>A by PCR-CTPP technique and genetic sequencing. Results: Building the process of polymorphism analysis of CYP2C9*3 and VKORC1-1639G>A genes by PCR-CTPP technique. The mutant allele rates of CYP2C9*3 and VKORC1-1639G>A were 0.03 and 0.87, respectively.

Key words: SNP, CYP2C9*3, VKORC1-1639G>A, PCR-CTPP

¹Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

²Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Thị Thùy
Email: phamthuydhy2612@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh nhân mắc các bệnh lý về tim mạch có nguy cơ cao hình thành huyết khối như bệnh tim có rung nhĩ, huyết khối tĩnh mạch sâu, sau thay van tim... phải dùng thuốc chống đông và đôi khi kéo dài suốt đời. Mặc dù có nhiều loại thuốc chống đông được đưa vào sử dụng trên lâm sàng, tuy nhiên tại Việt Nam cũng như nhiều nước trên thế giới, acenocoumarol vẫn được sử dụng phổ biến nhất [6]. Thuốc có giới hạn điều trị hẹp, dùng quá liều sẽ gây xuất huyết, dưới liều lại gây huyết khối tắc mạch. Nhiều yếu tố được ghi nhận ảnh hưởng đến sự chuyển hóa và hấp thu của thuốc trong đó có đặc điểm di truyền của người bệnh [1].

Hai đa hình gen được xác định là ảnh hưởng nhiều nhất đến sự thay đổi liều của acenocoumarol là CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A. Trong đó, đa hình gen CYP2C9*3 nằm trên exon 7 của gen CYP2C9 làm thay đổi acid amin I359L, là nguyên nhân làm giảm chuyển hóa thuốc acenocoumarol. VKORC1-1639G>A nằm trên vùng promoter của gen VKORC1 làm giảm tổng hợp 70% enzym vitamin K epoxid reductase là enzyme đích của acenocoumarol. Do vậy, những người mang các biến thể di truyền này có yêu cầu liều thuốc chống đông thấp hơn bình thường để đạt hiệu quả chống đông máu [4]. Việc xác định các đa hình gen này có ý nghĩa rất quan trọng trong việc lựa chọn liều thuốc chống đông phù hợp với từng cá thể người bệnh mang lại hiệu quả điều trị đồng thời hạn chế các biến chứng.

Tại Việt Nam, nghiên cứu xác định các đa hình trên đã được thực hiện bằng kỹ thuật giải trình tự gen và enzym giới hạn (PCR-RFLP) ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học. Tuy nhiên, các phương pháp này đòi hỏi chi phí cao, tốn kém về thời gian [7]. Do vậy

nghiên cứu được thực hiện nhằm mục tiêu: Xây dựng quy trình xác định đa hình gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP (PCR with confronting two-pair primers) ở bệnh nhân tim mạch dùng thuốc chống đông acenocoumarol tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên với hiệu quả cao, chi phí thấp và ít tốn kém về thời gian.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu. Gồm 95 bệnh nhân mắc bệnh lý tim mạch đang sử dụng thuốc chống đông acenocoumarol được theo dõi và quản lý tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân: Bệnh nhân mắc các bệnh lý về tim mạch như bệnh tim có rung nhĩ, sau thay van tim, huyết khối tĩnh mạch sâu đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol đạt đích điều trị (INR từ 2,0 đến 3,5) trong tối thiểu 2 tháng liên tiếp.

Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân suy gan, suy thận, đang bị nhiễm trùng cấp tính, bệnh lý tuyến giáp, đang dùng thuốc điều trị bệnh lý dạ dày.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu tiền cứu. Thời gian thực hiện: Từ tháng 8/2019 đến 8/2020. Địa điểm: Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Các bước tiến hành: Lấy 2ml máu tĩnh mạch ngoại vi chống đông EDTA của bệnh nhân tim mạch dùng thuốc chống đông acenocoumarol. Tách chiết DNA từ mẫu máu sử dụng Kit Qiagen. Kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch của DNA tách chiết bằng phương pháp đo quang, dựa vào tỷ lệ $A_{260nm}/A_{280nm} = 1.8-2.0$. Xác định kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1 -1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP và giải trình tự gen. Các cặp mồi cho kỹ thuật PCR-CTPP được thiết kế:

Bảng 1: Trình tự các cặp mỗi gen CYP2C9*3 và VKORC1 -1639G>A

CYP2C9*3 F1	5' CCA GGA AGA GAT TGA ACG TGT GAT TG
CYP2C9*3 R1	5' TGG TGG GGA GAA GGT CAA T
CYP2C9*3 F2	5' GCA CGA GGT CCA GAG ATA CC
CYP2C9*3 R2	5' GAG TTA TGC ACT TCT CTC ACC CG
VKORC1-1639G>A F1	5' CAC AGA CGC CAG AGG AAG AGA G
VKORC1-1639G>A R1	5' CGT GAG CCA CCG CAC CT
VKORC1-1639G>A F2	5' GAA GAC CTG AAA AAC AAC CAT TGG CCG
VKORC1-1639G>A R2	5' CTC AGC CTC CCA AGT AGT TTG G

Thành phần phản ứng PCR: dNTP Mix: 0,2mM; Gol Taq: 0,02u/μl; mỗi xuôi và mỗi ngược mỗi loại: 0,5uM; DNA: 50ng/μl. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: 95°C trong 10 phút; 30 chu kỳ (95°C trong 1 phút; gắn mỗi 58°C trong 1 phút đối với CYP2C9*3 và 63°C đối với VKORC1-1639G>A, 72°C trong 1 phút), cuối cùng là 72°C trong 5 phút. Sản phẩm phản ứng PCR-CTPP được điện di trên gel agarose 3%.

Kiểm tra độ chính xác của kỹ thuật PCR-CTPP bằng kỹ thuật giải trình tự gen. Phản ứng PCR sử dụng cho giải trình tự gen được khuếch đại với cặp mỗi 1F và 2R của mỗi SNP. Phản ứng giải trình tự trên hệ thống 3500 Automatic DNA Segmentation Analyzer (Applied Biosystems) and BigDye Kit Terminator v3.1 cycle sequencing. Các kết quả trình tự được phân tích trên phần mềm BioEdit 7.1.9.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Phương pháp thống kê được thực hiện trên phần mềm SPSS20.0

2.4. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Các đối tượng tham gia nghiên cứu là

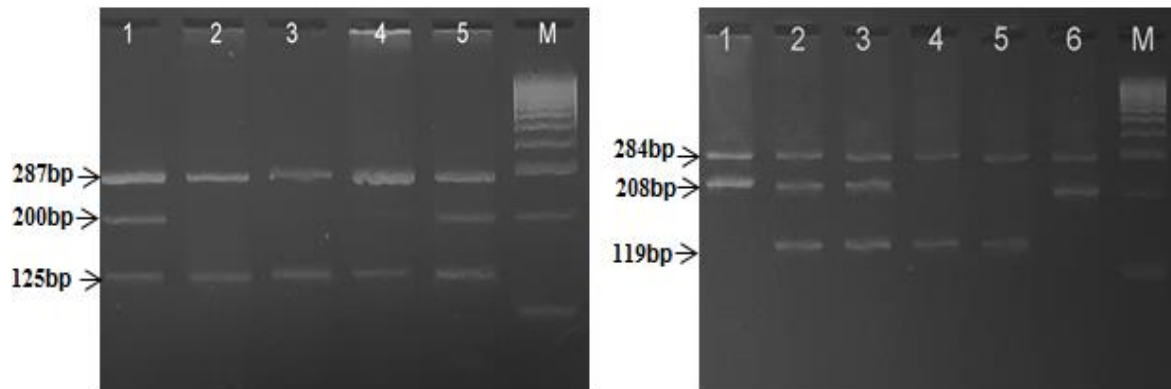
hoàn toàn tự nguyện và thông tin liên quan đến bệnh nhân được đảm bảo bí mật. Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng đạo đức Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu. Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $57,8 \pm 10,5$, trong đó bệnh nhân ít tuổi nhất là 27 tuổi và cao nhất là 78 tuổi. Nữ giới chiếm đa số trong nghiên cứu với 64,2%, nam giới là 35,8%. Chỉ số BMI trung bình của nhóm nghiên cứu là $21,3 \pm 2,6 \text{ kg/m}^2$. Tỷ lệ bệnh nhân mắc bệnh tim có rung nhĩ là 11,5%, sau thay van tim nhân tạo là 87,4%, huyết khối tĩnh mạch sâu là 1,1%.

3.2. Kết quả xác định kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP và giải trình tự gen.

DNA bệnh nhân sau khi tách chiết, được kiểm tra độ tinh sạch và chất lượng bằng phương pháp đo quang. DNA được khuếch đại với các cặp mỗi phù hợp (Bảng 1) dựa trên nguyên lý của kỹ thuật PCR-CTPP. Sản phẩm PCR được điện di trên gel aragose 3%.



Hình A: CYP2C9*3

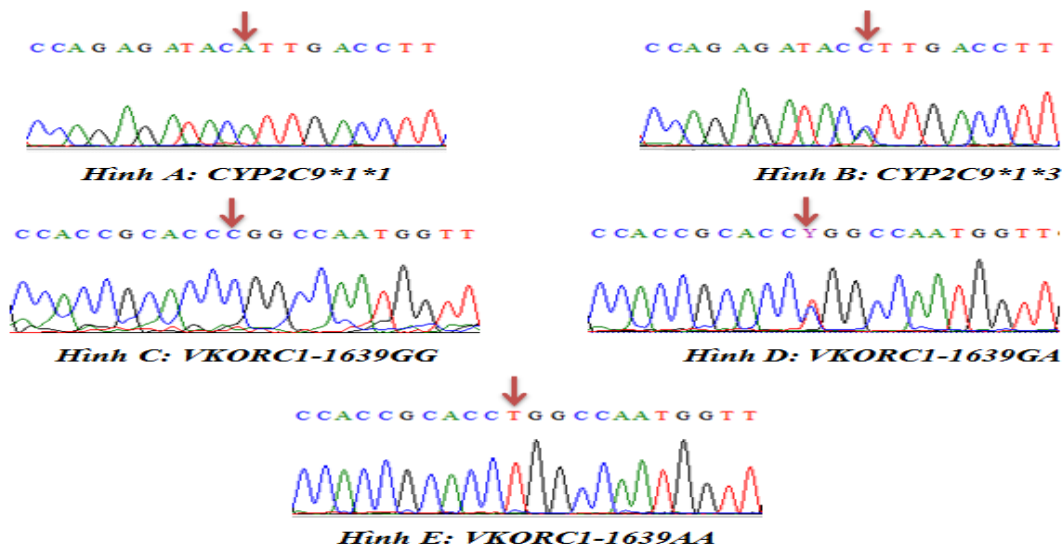
Hình B: VKORC1-1639G>A

Hình 3.1. Hình ảnh điện di kết quả phân tích đa hình gen bằng kỹ thuật PCR-CTPP

Ghi chú: Hình A: Làn M:Marker 100b, làn 1,5 kiểu gen dị hợp CYP2C9*1*3, làn 2,3,4 kiểu gen CYP2C9*1*1. Hình B: Làn M: Marker 100bp; Làn 1,6 kiểu gen VKORC1-1639GG, làn 2,3 kiểu gen GA, làn 4,5 kiểu gen AA.

Nhận xét: Hình ảnh điện di sản phẩm PCR-CTPP đoạn gen chứa đa hình gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A cho các băng điện di đặc hiệu, rõ nét. Kết quả cho thấy đối với đa hình gen CYP2C9*3 thu

được kiểu gen *1*1 gồm 2 băng DNA có kích thước 125bp và 287bp (Mẫu 02, 03 và 04), kiểu gen *1*3 gồm 3 băng DNA có kích thước 125bp, 200bp và 287bp (Mẫu 01 và 05). Với đa hình gen VKORC1-1639G>A thu được kiểu gen GG gồm 2 băng DNA có kích thước 208bp và 284bp (Mẫu 01 và 06), kiểu gen GA gồm 3 băng DNA có kích thước 119bp, 208bp và 284bp (Mẫu 02 và 03), kiểu gen AA gồm 2 băng DNA có kích thước 119bp và 284bp (Mẫu 04 và 05).



Hình 3.2. Hình ảnh giải trình tự gen đa hình CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A

Nhận xét: Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng với các nucleotid rõ ràng và không có tín hiệu nhiễu. Khi so sánh với trình tự gen CYP2C9 và VKORC1-1639G>A trên GeneBank cho thấy các kiểu gen CYP2C9*1*1, *1*3 và VKORC1-1639GG, GA, AA. Kết quả giải trình tự phù hợp với kết quả phân tích gen bằng kỹ thuật PCR-CTPP.

3.3. Tần số alen, kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1. Tần số alen, kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A

Kiểu gen	Tần số (n)	Tỷ lệ (%)	Alen
CYP2C9*3			
*1*1	89	93,7	*1: 0,97 *3: 0,03
*1*3	6	6,3	
VKORC1-1639G>A			
GG	2	2,1	G: 0,13 A: 0,87
GA	22	23,2	
AA	72	75,8	

Nhận xét: Đa hình gen CYP2C9*3 có tỷ lệ kiểu gen đồng hợp kiểu dại cao nhất chiếm 93,7%, dị hợp chiếm 6,3% không có kiểu gen đồng hợp biến dị. Với gen VKORC1-1639G>A, kiểu gen đồng hợp biến dị chiếm đa số trong nghiên cứu với 75,8%, dị hợp là 23,2%, đồng hợp kiểu dại chiếm tỷ lệ thấp nhất với 2,1%.

IV. BÀN LUẬN

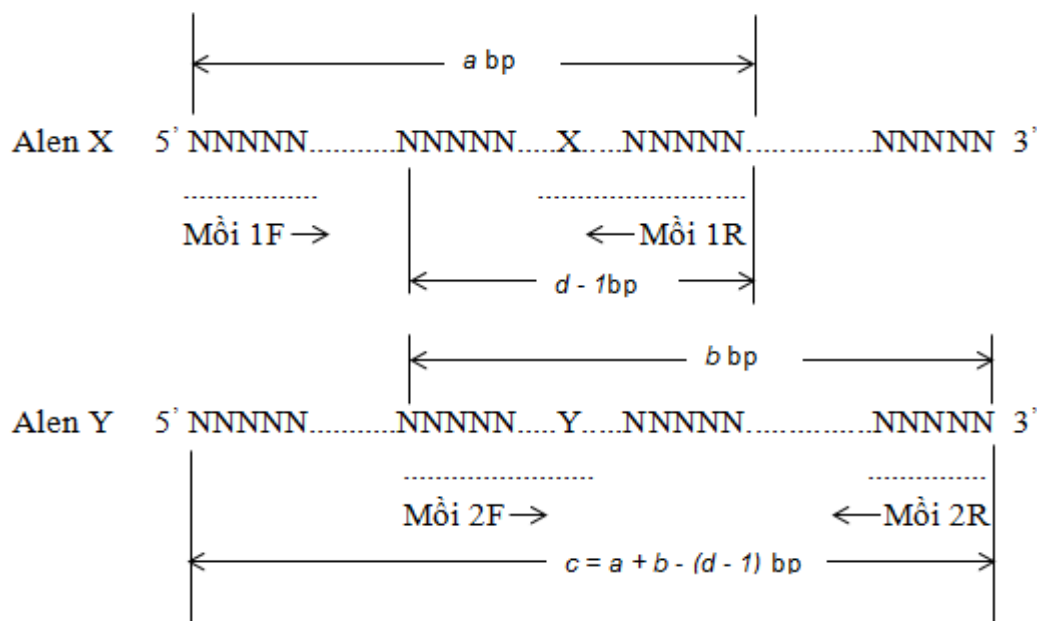
Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $57,8 \pm 10,5$. Nữ giới chiếm đa số trong nghiên cứu với 64,2%, nam giới chiếm tỷ lệ thấp hơn 35,8%. Chỉ số BMI trung bình của nhóm nghiên cứu là $21,3 \pm 2,6$ kg/m². Những kết quả nghiên cứu này tương đồng với nghiên cứu trước đây của chúng tôi trên đối tượng là bệnh nhân sau thay van tim cơ học [6]. Trong nghiên cứu này, đối tượng là bệnh nhân mắc bệnh lý tim mạch đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol, kết quả cho thấy bệnh nhân thay van tim nhân tạo bao gồm cả van sinh học và cơ học chiếm đa số trong nghiên cứu (87,4%), bệnh tim có rung nhĩ chiếm 11,5%, huyết khối tĩnh mạch sâu chiếm 1,1%. Kết quả này khác với nghiên cứu của tác giả Sripriya Natarajan với tỷ lệ thay van tim là 53%, huyết khối tĩnh mạch sâu là 23%, rung nhĩ là 6% [5]. Hiện nay, tỷ lệ bệnh nhân mắc bệnh tim có rung nhĩ và

huyết khối tĩnh mạch sâu khá cao, đây là một trong những bệnh lý có nguy cơ huyết khối, tuy nhiên việc được quan tâm chỉ định dùng thuốc chống đông còn hạn chế do những lo ngại về biến chứng khi dùng thuốc.

Nhiều phương pháp xác định các đa hình gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A được xây dựng như giải trình tự gen, enzym giới hạn (PCR-RFLP), real-time PCR, DNA microarray, mỗi phương pháp đều có những hạn chế về thời gian và chi phí [7]. Chính vì vậy, chúng tôi đã ứng dụng và phát triển một phương pháp xác định kiểu gen nhanh chóng và rẻ tiền là PCR-CTPP. Nghiên cứu này đề xuất xác định kiểu gen VKORC1-1639G>A và CYP2C9*3 bằng phương pháp PCR-CTPP để ứng dụng trên lâm sàng. Nguyên lý của phương pháp đã được xây dựng bởi tác giả Hamajima N năm 2000 và ứng dụng xác định được các đa hình gen khác nhau [2]. Một gen gồm hai alen X và Y, các alen bổ sung là X' và Y'. Các cặp mồi được thiết kế

bao gồm một cặp cho alen X và một cặp cho alen Y. Kích thước của các sản phẩm DNA được khuếch đại cụ thể cho mỗi alen tương ứng là abp và bbp . Các kích thước a và b phải đủ khác nhau để các sản phẩm được phân biệt bằng điện di trên gel. Đối với kiểu

gen XX , các dải a và c bp được quan sát thấy, trong khi đối với kiểu gen YY , các dải bằng b và c bp được quan sát, trong đó $c = a + b - (d - 1)$. Một kiểu gen dị hợp tử biểu hiện ba dải bằng a , b và c bp [7].



Hình 4.1. Nguyên lý của kỹ thuật PCR-CTPP

Ghi chú: a là kích thước alen X; b là kích thước alen Y; c là kích thước giữa các môi 1F và 2R cho cả hai alen; d là tổng kích thước của cặp môi 2F và 1R.

Khó khăn của phương pháp PCR-CTPP là tìm được nhiệt độ gắn môi phù hợp với tất cả các cặp môi. Chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm ở các nhiệt độ gắn môi từ $56^{\circ}C$ đến $64^{\circ}C$. Kết quả ghi nhận nhiệt độ gắn môi phù hợp với CYP2C9*3 là $58^{\circ}C$ và VKORC1-1639G>A là $63^{\circ}C$ để thấy được các băng đặc hiệu, sáng rõ trên gel điện di (Hình 1). Đối với đa hình gen CYP2C9*3 kiểu gen *1*1 gồm 2 băng DNA có kích thước 125bp và 287bp, kiểu gen *1*3 gồm 3 băng DNA có

kích thước 125bp, 200bp và 287bp. Với đa hình gen VKORC1-1639G>A kiểu gen GG gồm 2 băng DNA có kích thước 208bp và 284bp, kiểu gen GA gồm 3 băng DNA có kích thước 119bp, 208bp và 284bp, kiểu gen AA gồm 2 băng có kích thước 119bp và 284bp. Phương pháp PCR-CTPP có ưu điểm như độ chính xác cao, không mất nhiều thời gian và giá thành rẻ, tuy nhiên nhược điểm của phương pháp là nồng độ DNA quá thấp hoặc bị suy thoái qua thời gian đều ảnh hưởng đến độ thành công của kỹ thuật.

Trong nghiên cứu này, kỹ thuật PCR-CTPP được kiểm chứng lại bằng giải trình tự gen cho thấy độ chính xác cao của kỹ thuật.

Từ kết quả phân tích kiểu gen, chúng tôi đã xác định được tần số alen, kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A ở nhóm nghiên cứu. Kết quả ghi nhận đa hình gen CYP2C9*3 có tỷ lệ kiểu gen đồng hợp kiểu dại cao nhất chiếm 93,7%, dị hợp là 6,3% và không có kiểu gen đồng hợp biến dị. Với gen VKORC1-1639G>A, kiểu gen đồng hợp biến dị chiếm đa số trong nghiên cứu với 75,8%, dị hợp là 23,2%, đồng hợp kiểu dại chiếm tỷ lệ thấp nhất với 2,1%. Tỷ lệ alen biến dị của CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A lần lượt là 0,03 và 0,87. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu trước đây khi cho rằng một số nước Đông Nam Á trong đó có Việt Nam gen CYP2C9*3 chủ yếu là alen kiểu dại với tỷ lệ trên 90%, VKORC1-1639G>A lại chủ yếu là alen biến dị chiếm tỷ lệ dao động từ 70-90% [3]. Việc xác định các đa hình gen này có ý nghĩa quan trọng trong việc lựa chọn liều thuốc chống đông phù hợp với từng cá thể người bệnh mang lại hiệu quả điều trị.

V. KẾT LUẬN

Xác định được tần số alen, kiểu gen CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A bằng kỹ thuật PCR-CTPP. Tần số alen biến dị của CYP2C9*3 và VKORC1-1639G>A lần lượt là 0,03 và 0,87.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Buzoianu A.D, Militaru F.C, Vesa S.C, et al. (2013). The impact of the CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms on acenocoumarol dose requirements in a Romanian population. *Blood Cells Mol Dis*, 50(3), 166–170.
2. Hamajima N, Saito T, Matsuo K, et al. (2000). Polymerase Chain Reaction with Confronting Two-pair Primers for Polymorphism Genotyping. *Japanese Journal of Cancer Research*, 91(9), 865–868.
3. Kalpana S.R, Bharath G, Manjunath C.N, et al. (2016). Influence of VKORC1 and CYP2C9 Polymorphisms on Daily Acenocoumarol Dose Requirement in South Indian Patients With Mechanical Heart Valves. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*.
4. Kaur A, Khan F, Agrawal S.S, et al. (2013). Cytochrome P450 (CYP2C9*2,*3) & vitamin-K epoxide reductase complex (VKORC1 -1639G<A) gene polymorphisms & their effect on acenocoumarol dose in patients with mechanical heart valve replacement. *Indian J Med Res*, 137(1), 203–209.
5. Natarajan S, Ponde C.K, Rajani R.M, et al. (2013). Effect of CYP2C9 and VKORC1 genetic variations on warfarin dose requirements in Indian patients. *Pharmacological Reports*, 65(5), 1375–1382.
6. Pham T.T, Nhung P.T.H, Ta V.T, et al. (2018). VKORC1 and CYP2C9*3 Polymorphisms and Their Impacts to Acenocoumarol Dosage in Vietnamese Heart Valve Replacement Patients†. 10.
7. Tamura T, Katsuda N, and Hamajima N. (2014). A PCR method for VKORC1 G-1639A and CYP2C9 A1075C genotyping useful to warfarin therapy among Japanese. *SpringerPlus*, 3(1), 499.

KHẢO SÁT MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA SỰ HOẠT ĐỘNG CỦA HUMAN PAPILLOMA VIRUS DỰA TRÊN BIỂU HIỆN mRNA E6/E7 VỚI PHẾT TẾ BÀO CỔ TỬ CUNG TRONG SÀNG LỌC UNG THƯ CỔ TỬ CUNG

Phạm Trung Hà*, Phạm Hoàng Anh*, Đoàn Khánh Nguyệt*

TÓM TẮT

Mở đầu: Xét nghiệm chẩn đoán sự hoạt động của Human papilloma virus nguy cơ cao thông qua biểu hiện của RNA thông tin vùng gen E6/E7 (HPV mRNA E6/E7) giúp giảm tỷ lệ dương tính giả so với HPV DNA. Đây cũng là nghiên cứu tiên phong trong khảo sát mối liên quan giữa HPV mRNA E6/E7 với phết tế bào cổ tử cung (PTBCTC) khi bắt đầu triển khai ở Việt Nam.

Mục tiêu: Mối tương quan giữa tỷ lệ nhiễm HPV với phết tế bào cổ tử cung, qua đó đánh giá hiệu suất lâm sàng của chúng trong xác định tân sinh trong biểu mô cổ tử cung trên mức độ 2 (Cervical Intraepithelial Neoplasia upper grade 2 - CIN2+).

Đối tượng - phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả 4.151 phụ nữ có độ tuổi từ 15 đến 77 tuổi khám tại Bệnh viện Phụ sản Quốc Tế Sài Gòn từ tháng 10/2018 đến tháng 08/2020. Trong xét nghiệm HPV mRNA E6/E7, mục tiêu thu nhận là các phân tử mRNA từ sự biểu hiện vùng gen E6/E7. Điều này là điểm khác biệt so với các nghiên cứu dựa trên HPV DNA-chỉ ra sự hiện diện của virus HPV.

Kết quả: Tỷ lệ nhiễm HPV chung là 16,4%; trong đó nhiễm HPV các type 16, 18/45 chiếm 24,1%. Tỷ lệ dương tính HPV ở các trường hợp

có bất thường tế bào biểu mô cổ tử cung cao hơn so với các trường hợp âm tính với tổn thương trong biểu mô hay tổn thương ác tính ($P < 0,001$). HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC cho thấy mối tương quan thuận ở mức trung bình ($Kappa = 0,435$ và $r = 0,442$) và có hiệu suất lâm sàng không thua kém nhau trong xác định tân sinh trong biểu mô cổ tử cung trên mức độ 2.

Kết luận: Có mối tương quan thuận ở mức trung bình giữa HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC với 60,4% trường hợp PTBCTC bất thường có kết quả dương tính HPV mRNA E6/E7. Xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 được xem là dấu ấn hữu hiệu cho khả năng dự đoán các tiền tổn thương cổ tử cung trong sàng lọc ung thư cổ tử cung.

Từ khóa: HPV mRNA E6/E7, ung thư cổ tử cung.

SUMMARY

RELATIONSHIP BETWEEN ACTIVATION OF HUMAN PAPILLOMA VIRUS BASED ON EXPRESSION OF mRNA E6/E7 AND CERVICAL SMEARS IN CERVICAL CANCER SCREENING

Background: HPV mRNA E6/E7 is an in vitro nucleic acid amplification test for the qualitative detection of E6/E7 viral messenger RNA (mRNA), and this test showed fewer false-positive results compared to a DNA-based test. This is also the first research about the relationship between HPV mRNA E6/E7 and

*Bệnh viện Phụ sản Quốc Tế Sài Gòn

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Hoàng Anh
Email: anh.phamhoang@sihospital.com.vn

Ngày nhận bài: 25.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 26.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

cervical smear when it was started practicing in Viet Nam.

Objectives: Relationship between HPV infection and cervical smear results, therefore measuring their clinical performance in respect of detecting CIN2+.

Methods: Cross-sectional study described 4.151 cases of women (15-77 age) who visited Sai Gon international OBST-GYNEC hospital from October, 2018 to August, 2020. In HPV mRNA E6/E7 assay, the target is mRNA molecules from the expression of E6/E7 gene. This is distinct from other studies which based on the HPV DNA to detect the presence of HPV virus.

Results: The prevalence of HPV infection was 16.4%, and 24.1% had HPV types 16, 18/45 infection inside. The percentage of HPV infection in groups of abnormal cytology were higher than group of negative for intraepithelial lesion or malignancy (NILM) was. HPV mRNA E6/E7 assay and cervical smears showed a moderate positive correlation (Kappa = 0.435 and $r = 0.442$) and their clinical performance in respect of detecting CIN2+ was not inferior to each other.

Conclusions: Having a moderate positive correlation between HPV mRNA E6/E7 assay and cervical smears with 60.4% of abnormal cytology cases was found to be positive for HPV mRNA E6/E7. HPV mRNA E6/E7 test is considered to be an effective marker for the prediction of cervical intraepithelial lesion in cervical cancer screening.

Keyword: HPV mRNA E6/E7, cervical cancer.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư cổ tử cung là một trong những bệnh ung thư phổ biến đứng hàng thứ tư ở phụ nữ trên toàn thế giới [5]. Nhiễm virus

HPV nguy cơ cao kéo dài là điều kiện tiên quyết dẫn đến phần lớn các tiền tổn thương cổ tử cung và ung thư cổ tử cung [3,6]. Tuy nhiên, 90% các trường hợp nhiễm virus HPV là thoáng qua và có thể biến mất trong 2 năm. Sàng lọc ung thư cổ tử cung bằng xét nghiệm PTBCTC và HPV có thể làm giảm đáng kể tỷ lệ mắc ung thư cổ tử cung. Mặc dù xét nghiệm HPV DNA có độ nhạy cao nhưng độ đặc hiệu của nó tương đối thấp và không có ý nghĩa thực tế để dự đoán nguy cơ biến đổi ác tính của tổn thương cổ tử cung [3]. Vì vậy, việc ứng dụng các xét nghiệm tiên tiến hơn để phát hiện sớm ung thư cổ tử cung là cần thiết. Theo đó, xét nghiệm sự hoạt động của virus HPV thông qua mRNA E6/E7 (HPV mRNA E6/E7) mới được triển khai tại Việt Nam gần đây là phương pháp có độ nhạy tương đương và độ đặc hiệu vượt trội hơn so với xét nghiệm HPV DNA nhờ đánh giá sự hoạt động của gen sinh ung thư E6/E7 [7]. Mức độ biểu hiện cao liên tục của protein E6/E7 là điều kiện cần thiết của quá trình sinh ung thư [3]. Như vậy, HPV mRNA E6/E7 cùng với PTBCTC giúp tăng khả năng phát hiện nhóm đối tượng không có bất kỳ tổn thương nào liên quan đến lâm sàng ở thời điểm hiện tại nhưng có nguy cơ bị tổn thương và có thể diễn tiến thành ung thư xâm lấn sau này.

MỤC TIÊU

Mối tương quan giữa tỷ lệ nhiễm HPV với PTBCTC, qua đó đánh giá hiệu suất lâm sàng của chúng trong xác định tổn thương CIN2+ thông qua độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị tiên đoán dương (Positive predictive value-PPV), giá trị tiên đoán âm (Negative predictive value - NPV).

TỔNG QUAN XÉT NGHIỆM HPV mRNA

Ung thư cổ tử cung liên quan đến HPV,

tác nhân gây ra hơn 99% ung thư, là virus phổ biến lây truyền qua đường tình dục. Hiện nay đã phát hiện hơn 100 type HPV, trong đó có 14 type nguy cơ cao bao gồm 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68. Theo đó, dương tính với các type HPV 16, 18/45 báo hiệu nguy cơ cao bất thường tế bào cổ tử cung ở hiện tại hoặc tương lai; trong khi dương tính với 11 type HPV nguy cơ cao còn lại vẫn có rủi ro nhưng thấp hơn [1]. HPV type 16 và nhóm type 18/45 được chứng minh có liên quan đến 75% ung thư cổ tử cung và 94% liên quan đến ung thư biểu mô tuyến [7].

Nghiên cứu ATHENA (Addressing the Need for Advanced HPV Diagnostics) cho thấy nguy cơ gây tổn thương CIN2+ xảy ra ở phụ nữ dương tính với HPV type 16 và tế bào học âm tính là 9,5%, ở phụ nữ dương tính với HPV type 18 và tế bào học âm tính là 5,9% và ở phụ nữ có kết quả tế bào gai không điển hình không xác định được ý nghĩa và dương tính với các type HPV nguy cơ cao khác là 8,6% [3]. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu ATHENA dựa trên xét nghiệm sự hiện diện của HPV DNA nên trong thực tế tỷ lệ âm tính sẽ cao hơn so với nguy cơ được dự đoán. Điều này sẽ dẫn đến các thủ thuật xâm lấn không cần thiết và tăng gánh nặng tâm lý cho bệnh nhân bởi có những trường hợp chỉ nhiễm HPV thoáng qua và tự thoái triển [3].

FDA đã phê duyệt cho xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 định tính 14 type HPV nguy cơ cao và định type 3 chủng HPV 16 và nhóm type 18/45 thông qua sự biểu hiện của mRNA vùng gen sinh ung E6/E7. HPV mRNA E6/E7 có độ nhạy tương đương và giúp giảm nguy cơ dương tính giả tới 24% so với HPV DNA do đánh giá được sự hoạt động của virus HPV, ngoài ra việc mở rộng

xác định HPV type 45 trong nhóm type 18/45 cũng là điểm ưu việt hơn so với HPV DNA để đáp ứng mức độ sàng lọc ung thư cổ tử cung ngày càng chặt chẽ hơn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thiết kế nghiên cứu: hồi cứu cắt ngang mô tả.

2.2 Địa điểm nghiên cứu: Khoa xét nghiệm, Bệnh viện Phụ sản Quốc Tế Sài Gòn.

2.3 Thời gian thực hiện: từ tháng 01/2020 đến tháng 10/2020.

2.4 Đối tượng: Bệnh nhân đến khám và điều trị tại bệnh viện từ tháng 10/2018 đến tháng 08/2020 được chỉ định thực hiện Pap Thinprep và HPV mRNA E6/E7, soi cổ tử cung/sinh thiết (nếu có).

2.5 Cỡ mẫu: Công thức chọn cỡ mẫu

$$n = \frac{Z^2 \cdot 1-\alpha/2 \times p(1-p)}{d^2}$$

Trong đó: Z: hệ số tin cậy (với $\alpha = 0,05$ thì $Z_{0,975} = 1,96$);

p: Tần suất nhiễm HPV ở phụ nữ Thành phố Hồ Chí Minh (TP.HCM) là 10% (Trần Thị Lợi);

d: sai số cho phép = 0,02.

Vậy tổng số mẫu trong nghiên cứu được đề nghị là 865 đối tượng. Thực tế nghiên cứu khảo sát được 4.151 trường hợp.

2.6 Phương pháp thực hiện

Hai lọ mẫu PTBCTC được lấy cùng một bệnh nhân trong một lần. Một lọ được thực hiện xét nghiệm HPV mRNA trên hệ thống máy kỹ thuật sinh học phân tử Panther nhằm phát hiện 14 type HPV nguy cơ cao gồm 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66, 68 thông qua sự biểu hiện mRNA vùng gen E6/E7.

Nguyên lý xét nghiệm HPV mRNA gồm ba bước chính: bắt mục tiêu, khuếch đại mục tiêu bằng kỹ thuật khuếch đại đẳng nhiệt qua trung gian phiên mã (Transcription Mediated Amplification-TMA), phát hiện sản phẩm khuếch đại (amplicon) bằng thử nghiệm bảo vệ lai hóa (Hybridization Protection Assay-HPA). Đồng thời sử dụng kết hợp chứng nội (Internal Control-IC) để giám sát quá trình thu nhận, khuếch đại và phát hiện cũng như lỗi của người vận hành hoặc thiết bị. Mục tiêu được bắt giữ là các phân tử mRNA từ sự biểu hiện vùng gen E6/E7 do virus HPV “hoạt động” tạo ra. Điều này là điểm khác

biệt lớn nhất trong xét nghiệm HPV mRNA của nghiên cứu này so với các nghiên cứu khác dựa trên HPV DNA.

Một lọ được thực hiện xét nghiệm Pap Thinprep để đọc và phân loại tế bào học theo hệ thống Bethesda.

Xét nghiệm Pap Thinprep

Nguyên lý xét nghiệm Pap Thinprep: mẫu PTBCTC được xử lý bằng máy ThinPrep để làm tiêu bản hoàn toàn tự động, sau đó tiến hành nhuộm Papanicolaou, tiêu bản được Bác sĩ giải phẫu bệnh đọc kết quả phân loại tế bào học cùng với sự hỗ trợ của kính hiển vi quét tiêu bản tự động.

Bảng 1. Phân loại tế bào học cổ tử cung theo hệ thống Bethesda (2014) [8]

Kết quả chẩn đoán	Mô tả
Âm tính với tổn thương trong biểu mô hay tổn thương ác tính	
1. Negative for Intraepithelial Lesion or Malignancy (NILM)	Âm tính với tổn thương trong biểu mô hay tổn thương ác tính
Bất thường tế bào biểu mô ở tế bào gai	
2. Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance (ASC-US)	Tế bào gai không điển hình không xác định được ý nghĩa
3. Atypical Squamous Cells cannot exclude a High-grade squamous intraepithelial abnormality (ASC-H)	Tế bào gai không điển hình không thể loại trừ tổn thương trong biểu mô gai mức độ cao HSIL
4. Low-grade squamous intraepithelial lesions (LSIL) hay Cervical Intraepithelial Neoplasia grade 1 (CIN1)	Tổn thương trong biểu mô gai mức độ thấp hay tân sinh trong biểu mô độ 1
5. High-grade squamous intraepithelial lesions (HSIL) gồm CIN2, CIN3	Tổn thương trong biểu mô gai mức độ cao gồm tân sinh trong biểu mô độ 2 và 3
6. Carcinom tế bào gai	

Sinh thiết cổ tử cung được thực hiện khi soi cổ tử cung có kết quả bất thường. Kết quả sinh thiết sau khi đọc được so sánh mức độ phù hợp với mức độ biến đổi tế bào của kết quả xét nghiệm Pap Thinprep.

Nghiên cứu được tiến hành với sự chấp thuận của Hội đồng Y đức của Bệnh viện.

2.7 Phân tích thống kê

Số liệu được phân tích bằng phần mềm thống kê SPSS 25.0. Các thống kê gồm: $\bar{x}$, SD, tỷ lệ %, phép kiểm Chi bình phương với $P < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê; phân tích tương quan Pearson (r tương quan) và phép đo Cohen's kappa.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Tuổi trung bình là 39.2 ± 9.3 tuổi, tuổi nhỏ nhất là 15 tuổi và lớn nhất là 77 tuổi.

Bảng 2. Sự phân bố các type HPV dương tính

STT	Các type HPV	Số ca dương tính (n)	Tỷ lệ %
1	16	101	14,9
2	18/45	60	8,8
3	16, 18/45	3	0,4
4	11 type HPV nguy cơ cao	516	75,9
Tổng cộng		680	100

Tổng cộng có 680/4.151 ca có kết quả HPV mRNA E6/E7 dương tính, chiếm tỷ lệ 16,4%. Trong đó, tỷ lệ nhiễm HPV type 16 là 14,9%, HPV type 18/45 là 8,8%, đồng nhiễm HPV type 16, 18/45 chiếm 0,4% và tỷ lệ nhiễm HPV 11 type nguy cơ cao khác là 75,9%.

3.2 Mối liên quan giữa HPV mRNA E6/E7 với PTBCTC

Kết quả chẩn đoán PTBCTC

Bảng 3. Kết quả chẩn đoán PTBCTC

STT	Kết quả	Số ca (n)	Tỷ lệ %
1	NILM	3.648	87,9
2	ASC-US	340	8,2
3	ASC-H	11	0,3
4	LSIL	127	3,1
5	HSIL	25	0,6
Tổng cộng		4.151	100

Mối liên quan giữa HPV mRNA E6/E7 với PTBCTC

Trong 3.648 ca NILM có 376 ca dương tính với xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 (10,3%). Có 60,4% (304/503 ca) trường hợp với PTBCTC bất thường $\geq$ ASC-US gồm các trường hợp ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL có kết quả dương tính với HPV. Trong 340 ca ASC-US có 168 ca dương tính với HPV chiếm tỷ lệ 49,4%, tương tự tỷ lệ dương tính trên 11 ca ở các trường hợp ASC-H (100%), 105/127 ca LSIL (82,7%), 20/25 ca HSIL (80%). Tỷ lệ dương tính với xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 ở các trường hợp ASC-US, ASC-H, LSIL và HSIL cao hơn so với NILM ($P < 0,001$).

Bảng 4. Tỷ lệ nhiễm HPV với PTBCTC

Số thứ tự	PTBCTC	HPV mRNA E6/E7 (n,%)		
		Âm tính	Dương tính*	Tổng cộng
1	NILM	3.272 (89,7)	376 (10,3)	3.648 (100)

2	ASC-US	172 (50,6)	168 (49,4)	340 (100)
3	ASC-H	0	11 (100)	11(100)
4	LSIL	22 (17,3)	105 (82,7)	127 (100)
5	HSIL	5 (20)	20 (80)	25 (100)
Tổng cộng		3.471 (83,6)	680 (16,4)	4.151 (100)
*P < 0,001				

Bảng 5. Mối tương quan của xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC

Phương pháp	HPV mRNA E6/E7	
	Âm tính	Dương tính
NILM	3.272	376
≥ ASC-US	199	304
Tổng cộng	3.471	680
Hệ số Kappa = 0,435 (P < 0,001)		
Hệ số Pearson r = 0,442 (P < 0,001)		

Xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và xét nghiệm PTBCTC có sự tương đồng khi so sánh kết quả giữa chúng với nhau (Bảng 5, hệ số Kappa = 0,435, hệ số tương quan Pearson r = 0,442 (P < 0,001)).

Kết quả sinh thiết mô học của các trường hợp soi cổ tử cung bất thường phát hiện 42 ca có tổn thương CIN2+ với CIN2- (Cervical Intraepithelial Neoplasia lower grade 2) gồm các trường hợp tân sinh trong biểu mô cổ tử cung dưới mức độ 2.

Đối với xét nghiệm HPV mRNA: trong số 680 bệnh nhân dương tính với HPV có 28 ca (4,12%) có tổn thương CIN2+, trong 3.471 ca âm tính với HPV có 14 trường hợp có tổn thương CIN2+.

Đối với PTBCTC, các trường hợp biến đổi tế bào ≥ ASC-US được xem như dương tính và phát hiện 29/503 ca (5,77%) có tổn thương CIN2+. Trong 3.648 ca NILM, có 13 ca có tổn thương CIN2+.

Bảng 6. Mối tương quan của xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC với chẩn đoán mô học

Chẩn đoán	CIN2-	CIN2+	Tổng cộng
HPV mRNA E6/E7			
Âm tính	3.457	14	3.471
Dương tính	652	28	680
PTBCTC			
NILM	3.635	13	3.648
≥ ASC-US	474	29	503

Bảng 7. Độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV của xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC

	HPV mRNA E6/E7	PTBCTC
Độ nhạy	66,67	69,05
Độ đặc hiệu	84,13	88,46
PPV (+)	4,12	5,77
NPV (-)	99,6	99,64
Liên hệ giữa test/ bệnh (Fisher) $P < 0,005$, 95% CI		

Độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV của xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC trong phát hiện các tổn thương CIN2+ được thể hiện trên bảng 7.

IV. BÀN LUẬN

Tỷ lệ dương tính HPV ở đối tượng có PTBCTC bất thường chiếm 60,4%. Tỷ lệ dương tính này trong nghiên cứu của Ozer Birge là 55,3%. Như vậy, có hơn một nửa các trường hợp có PTBCTC bất thường có kết quả dương tính với xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và còn cao hơn ở các trường hợp ASC-H, LSIL và HSIL. Điều này cho thấy vai trò của HPV trong các biến đổi tiền ung thư và ung thư cổ tử cung, có nghĩa là tỷ lệ dương tính với xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 tăng lên khi có bất thường của PTBCTC và kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Ye-li Yao et al.

Trong nghiên cứu này, kết quả bất thường của PTBCTC $\geq$ ASC-US được xem là dương tính, chúng tôi tiến hành phép so sánh kết quả giữa HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC cho thấy hệ số Kappa là 0,435 và hệ số r tương quan là 0,442 ($P < 0,001$), như vậy có sự phù hợp và mối tương quan thuận ở mức trung bình giữa hai phương pháp này.

Trong xác định CIN2+, xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC có độ nhạy tương ứng là 66,67% so với 69,05%, độ đặc hiệu 84,13% so với 88,46%, PPV 4,12% so với 5,77%, NPV 99,6% so với 99,64% trong khoảng tin cậy 95%. Nghiên cứu của Ye-li Yao, xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 và tế

bào học với độ nhạy (89,52% so với 86,67%), độ đặc hiệu (48,96% so với 48,96%), PPV (39,00% so với 38,24%) và NPV (92,76% so với 90,97%, $P = 0,678$) trong phát hiện $\geq$ HSIL cho thấy hiệu suất tương đương giữa 2 xét nghiệm này. Nghiên cứu của chúng tôi, với độ đặc hiệu cao hơn và PPV thấp hơn là do sự khác nhau trong quần thể nghiên cứu và phương pháp nghiên cứu. Nghiên cứu của Ye-li Yao khảo sát trên các đối tượng đã nhiễm HPV DNA tức là có nguy cơ cao dương tính với HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC, đồng thời với nghiên cứu tiến cứu cho thấy sự theo dõi các đối tượng qua các xét nghiệm HPV DNA, HPV mRNA E6/E7, tế bào học và mô học. Nghiên cứu của chúng tôi, với phương pháp nghiên cứu cắt ngang mô tả và không có sự chọn lọc đối tượng ban đầu là có hay không nhiễm HPV bằng xét nghiệm HPV DNA nên tỷ lệ không mắc bệnh sẽ cao hơn dẫn đến độ đặc hiệu cao hơn, đồng thời với quá trình theo dõi và điều trị khi có bất thường tế bào học sát sao nên PPV (tỷ lệ phát hiện CIN2+) sẽ thấp hơn.

Một điểm đáng lưu ý đối với xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 trong phát hiện CIN2+ là NPV tương đối cao 99,6%. Kết quả NPV này tương tự so với các nghiên cứu của Ye-li Yao, Liu et al, Jian Li et al (tương ứng là

92,76%, 97,3% và 81,3% trong phát hiện CIN2+) và Ozer Birge (100% trong phát hiện CIN). Như vậy với NPV cao cho thấy nếu HPV mRNA E6/E7 được kiểm tra là âm tính thì những quần thể này không cần ngay lập tức soi cổ tử cung và can thiệp lâm sàng mà chỉ cần theo dõi định kỳ.

Với độ nhạy, độ đặc hiệu, PPV, NPV trong phát hiện tổn thương CIN2+ cho thấy hiệu suất của xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 không thua kém so với phương pháp PTBCTC cùng với giá trị tiên đoán âm (NPV) cao nên HPV mRNA E6/E7 có thể xem là một dấu ấn hữu hiệu cho khả năng dự đoán các tiền tổn thương cổ tử cung trong sàng lọc ung thư cổ tử cung.

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ HPV mRNA E6/E7 dương tính tăng lên khi có bất thường của PTBCTC: có 60,4% trường hợp PTBCTC bất thường $\geq$ ASC-US gồm các trường hợp ASC-US, ASC-H, LSIL, HSIL có kết quả dương tính HPV mRNA E6/E7 và còn cao hơn ở các trường hợp ASC-H, LSIL và HSIL.

HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC có mối tương quan thuận ở mức trung bình. Trong xác định CIN2+, hiệu suất lâm sàng của xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 không thua kém so với PTBCTC.

Xét nghiệm HPV mRNA E6/E7 được xem là một dấu ấn hữu hiệu cho khả năng dự đoán các tiền tổn thương cổ tử cung trong sàng lọc ung thư cổ tử cung.

KIẾN NGHỊ

Cần xác nhận thêm mối tương quan giữa HPV mRNA E6/E7 và PTBCTC bằng các nghiên cứu tiền cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Castle PE et al**, A Prospective Study of Age Trends in Cervical Human Papillomavirus Acquisition and Persistence in Guanacaste, Costa Rica. *The Journal of Infectious Diseases*. 2005 June; 191(11), 1808:1816.
2. **Jian Li et al**, Risk evaluation of cervical cancer progress by screening human papillomavirus DNA, E6/E7 mRNA and protein, and cell free ferrous protoporphyrin, *International journal of clinical* 2016, 9(10):19741-19748.
3. **Li Liu et al**, Role of E6/E7 mRNA in discriminating patients with high-risk human papilloma virus-positive associated with cytology-negative and atypical squamous cells of undetermined significance, *Biomedical Research* 2017, 28 (9): 3986-3990.
4. **Ozer Birge**, Detection of HPV E6/E7 mRNA Using Nuclisens Easyq HPV™ in Abnormal Cytology Specimens, *J Gynecol Women's Health* 2018, 10(4): JGWH.MS.ID.555794.
5. **Paolo Giorgi Rossi et al**, Prognostic Value of HPV E6/E7 mRNA Assay in Women with Negative Colposcopy or CIN1 Histology Result: A Follow-Up Study, *PLoS ONE* 2013, 8(2):e57600
6. **Ye-li YAO et al**, Human papillomavirus (HPV) E6/E7 mRNA detection in cervical exfoliated cells: a potential triage for HPV-positive women, *Zhejiang Univ-SciB* 2017 18(3):256-262.
7. **Clinical evaluation of the Aptima® HPV assay using the Panther™ system**, 2012, Hologic.
8. **Bài giảng Tế bào học**, 2018, Bộ môn Giải phẫu bệnh, Đại học Y Khoa Phạm Ngọc Thạch TP.HCM.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ MỘT SỐ ACID BÉO KHÔNG BẢO HÒA NHIỀU NỐI ĐÔI HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN MẠN LỌC MÁU CHU KỲ

Nguyễn Văn Kỳ¹, Hoàng Thị Minh², Vũ Quang Hợp²,
Phạm Văn Trân², Nguyễn Danh Khánh¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nồng độ một số acid béo không bão hòa nhiều nối đôi và mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân bệnh thận mạn lọc máu chu kỳ. Đối tượng: Gồm 32 người bình thường khỏe mạnh và 32 bệnh nhân bệnh thận mạn lọc máu chu kỳ (BTM LMCK) từ 12/2019 – 5/2020 tại khoa Thận Tiết niệu, Bệnh viện Quân y 103. Phương pháp nghiên cứu: Khám lâm sàng, cận lâm sàng, lựa chọn bệnh nhân theo tiêu chuẩn. Lấy máu định lượng nồng độ các acid béo không bão hòa nhiều nối đôi. **Kết quả:** Nồng độ các acid béo không bão hòa nhiều nối đôi (PUFA) của nhóm bệnh thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,05$): C18:2n-6 ($14,9 \pm 5,6$ $\mu\text{g/mL}$ so với $37,3 \pm 10,7$ $\mu\text{g/mL}$); C18:3n-3 ($0,1 \pm 0,1$ $\mu\text{g/mL}$ so với $0,36 \pm 0,18$ $\mu\text{g/mL}$); C20:2n-6 ($0,09 \pm 0,04$ $\mu\text{g/mL}$ so với $0,31 \pm 0,19$ $\mu\text{g/mL}$); C20:4n-6 ($0,88 \pm 0,32$ $\mu\text{g/mL}$ so với $1,36 \pm 0,19$ $\mu\text{g/mL}$); C20:5n-3 ($0,1 \pm 0,046$ $\mu\text{g/mL}$ so với $0,35 \pm 0,12$ $\mu\text{g/mL}$); C22:6n-3 ($0,4 \pm 0,28$ $\mu\text{g/mL}$ so với $1,73 \pm 0,66$ $\mu\text{g/mL}$). Nồng độ PUFA có mối tương quan với thời gian lọc máu, chỉ số BMI và CRP. **Kết luận:** Nồng độ PUFA của nhóm bệnh thấp hơn so với nhóm chứng ($p < 0,05$). EPA, AA,

DHA và tỷ lệ EPA+DHA/AA tương quan thuận mức độ chặt với BMI; tương quan nghịch mức độ chặt với thời gian lọc máu và tương quan nghịch mức độ vừa với nồng độ CRP.

Từ khóa: Suy thận mạn, acid béo không bão hòa

SUMMARY

STUDY ON THE CONCENTRATION OF SOME PLASMA POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN CHRONIC KIDNEY DISEASE AND CYCLIC DIALYSIS PATIENTS

Objective: To determine the concentration of some polyunsaturated fatty acids in combination with several clinical and subclinical features in chronic kidney disease and cyclic dialysis patients. **Methods:** Consisting of 32 healthy normal people and 32 chronic kidney disease and cyclic dialysis patients from 12/2019 - 5/2020 at the Department of Nephrology, Military Hospital 103. Clinical examination, subclinical to select patients. Intravenous blood collection to quantify the concentration of polyunsaturated fatty acids. **Results:** The concentration of polyunsaturated fatty acids (PUFA) of the disease group was statistically significantly lower than the control group ($p < 0.05$): C18:2n-6 ($14,9 \pm 5,6$ $\mu\text{g/mL}$ vs. $37,3 \pm 10,7$ $\mu\text{g/mL}$); C18:3n-3 ($0,1 \pm 0,1$ $\mu\text{g/mL}$ vs. $0,36 \pm 0,18$ $\mu\text{g/mL}$); C20:2n-6 ($0,09 \pm 0,04$ $\mu\text{g/mL}$ vs. $0,31 \pm 0,19$ $\mu\text{g/mL}$); C20:4n-6 ($0,88 \pm 0,32$ $\mu\text{g/mL}$ vs. $1,36 \pm 0,19$ $\mu\text{g/mL}$); C20: 5n-3 ($0,1 \pm 0,046$ $\mu\text{g/mL}$ vs. $0,35 \pm 0,12$ $\mu\text{g/mL}$);

¹Viện 69

²Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Văn Kỳ
Email: nguyenvankyhs69@gmail.com
Ngày nhận bài: 1.10.2020
Ngày phản biện khoa học: 15.10.2020
Ngày duyệt bài: 28.10.2020

C22:6n-3 ($0,4 \pm 0,28 \mu\text{g} / \text{mL}$ vs. $1,73 \pm 0,66 \mu\text{g} / \text{mL}$). Concentration of PUFA correlated with dialysis time, BMI and CRP. **Conclusion:** PUFA concentration of the patient group was lower than that of the control group ($p < 0.05$). EPA, AA, DHA and the ratio EPA + DHA / AA are positively correlated with BMI; negatively correlated with dialysis time and CRP concentration.

Key words: Chronic renal failure, unsaturated fatty acids.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Các acid béo không bão hòa nhiều nối đôi như omega 3 và omega 6 có tác dụng cải thiện hiệu quả bệnh tim mạch, chống xơ vữa động mạch, giảm suy nhược... Và mức PUFA trong huyết tương thấp có liên quan đến mức độ suy giảm chức năng thận [1]. Theo nghiên cứu của Nakamura và cộng sự (2008) trên đối tượng bệnh nhân BTM LMCK [2], nồng độ các acid béo không bão hòa nhiều nối đôi trong huyết tương ở bệnh nhân BTM LMCK giảm so với nhóm người khỏe mạnh ($p < 0,05$). Các nghiên cứu quan sát và can thiệp đã cho thấy có sự liên quan của nồng độ và tỷ lệ omega 3/omega 6 với thời gian lọc máu, chỉ số BMI hay CRP trong huyết tương [3]. Tuy nhiên tại Việt Nam chưa có một báo cáo nghiên cứu toàn diện nào về acid béo không bão hòa nhiều nối đôi trong huyết tương của nhóm đối tượng trên. Vì vậy, tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu xác định nồng độ một số acid béo không bão hòa nhiều nối đôi và mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân bệnh thận mạn lọc máu chu kỳ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Gồm 32 người bình thường khỏe mạnh và 32 bệnh nhân bệnh thận mạn lọc máu chu kỳ từ 12/2019 – 5/2020 tại khoa Thận Tiết niệu, Bệnh viện Quân Y 103. Bệnh nhân BTM LMCK được lựa chọn theo tiêu chuẩn do nhiều nguyên nhân khác nhau như viêm cầu thận mạn tính, viêm thận bể thận mạn tính, đái tháo đường... được LMCK ≥ 3 tháng. Các bệnh nhân này đều được lọc máu đủ, kiểm soát huyết áp, điều trị thiếu máu theo hướng dẫn của Hội Thận học Quốc tế. Loại trừ các bệnh nhân mắc các bệnh ác tính hoặc dùng thuốc ảnh hưởng đến chuyển hóa lipid. Nhóm chứng là người bình thường khỏe mạnh đến khám sức khỏe định kỳ tại khoa Khám bệnh, Bệnh viện Quân y 103.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Khám lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng để lựa chọn bệnh nhân theo tiêu chuẩn. Lấy máu 3 mL máu tĩnh mạch chống đông bằng heparin vào buổi sáng trước ăn và trước lần lọc máu đầu tiên trong tuần với nhóm bệnh. Định lượng hemoglobin (HGB), triglyceride, cholesterol toàn phần, LDL-C, HDL-C trên máy AU 5800 sử dụng kit của hãng Beckman. Định lượng nồng độ acid béo không bão hòa nhiều nối đôi trên hệ thống GC/MS Thermo Scientific theo phương pháp sắc ký khí với đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID).

Xử lý số liệu sử dụng phần mềm SPSS 22.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm bệnh và nhóm chứng được chỉ ra ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Đặc điểm về tuổi và giới giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

Chỉ số		Nhóm	Nhóm bệnh	Nhóm chứng	P
			n=32	n=32	
Tuổi			37,22±9,6	36,28±18,3	>0,05
(Nhỏ nhất-Lớn nhất)			21-59	17-69	
Giới	Nam (N%)		56,3%	81,3%	>0,05
	Nữ (N%)		43,7%	18,7%	

Như được chỉ ra ở bảng 3.1, nhóm chứng có độ tuổi tương ứng với nhóm bệnh ($p>0,05$). Sự khác biệt giữa tuổi trung bình và tỉ lệ giới tính giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$).

Một số đặc điểm hóa sinh giữa nhóm bệnh và nhóm chứng trong nghiên cứu được trình bày trong bảng 3.2.

Bảng 3.2. Đặc điểm hóa sinh giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

Chỉ số	Nhóm bệnh	Nhóm chứng	P
	(n=32)	(n=32)	
	$\bar{X} \pm SD$	$\bar{X} \pm SD$	
HGB (L/L)	97,5±18,36	147,56±10,7	<0,05
CRP (mg/L)	5,35±6,64	1,63±3,47	>0,05
TC (mmol/L)	4,47±1,14	5,55±1,74	>0,05
TG (mmol/L)	1,68±0,77	1,97±0,94	>0,05
HDL-C (mmol/L)	1,15±0,35	1,34±0,36	>0,05
LDL-C (mmol/L)	2,88±0,8	3,36±0,69	>0,05

Qua bảng 3.2 cho thấy tất cả các chỉ số trên (trừ HGB) giữa nhóm bệnh và nhóm chứng không có sự khác biệt.

Nồng độ các acid béo trong huyết tương giữa hai nhóm nghiên cứu được trình bày ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Nồng độ các acid béo trong huyết tương giữa hai nhóm nghiên cứu

STT	Acid béo	Nồng độ acid béo ($\bar{X} \pm SD$, $\mu\text{g/mL}$)		P
		Nhóm bệnh	Nhóm chứng	
1	C18:2n-6 (LA)	14,9±5,6	37,3±10,7	<0,05
2	C18:3n-3 (ALA)	0,1±0,1	0,36±0,18	<0,05
3	C20:2n-6	0,09±0,04	0,31±0,19	<0,05
4	C20:4n-6 (AA)	0,88±0,32	1,36±0,19	<0,05
5	C20:5n-3 (EPA)	0,1±0,046	0,35±0,12	<0,05
6	C22:6n-3 (DHA)	0,4±0,28	1,73±0,66	<0,05

Qua bảng 3.3 cho thấy các omega 3 như ALA, EPA, DHA có xu hướng giảm ở nhóm bệnh so với nhóm chứng ($p < 0,05$). Các omega 6 như LA và AA đều có xu hướng giảm ở nhóm bệnh so với nhóm chứng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Đánh giá mối liên quan giữa nồng độ một số acid béo không bão hòa với nhóm tuổi trên nhóm bệnh được trình bày trong bảng 3.4 dưới đây.

Bảng 3.4. Mối liên quan giữa nồng độ một số acid béo không bão hòa với nhóm tuổi trên nhóm bệnh

Acid béo	Nồng độ acid béo ($\bar{X} \pm SD, \mu\text{g/mL}$)		P
	≥ 40 tuổi (n=22)	< 40 tuổi (n=10)	
C20:4n-6 (AA)	0,915 $\pm$ 0,35	0,815 $\pm$ 0,29	$>0,05$
C20:5n-3 (EPA)	0,10 $\pm$ 0,05	0,085 $\pm$ 0,043	$>0,05$
C22:6n-3 (DHA)	0,417 $\pm$ 0,3	0,35 $\pm$ 0,2	$>0,05$
(EPA+DHA)/AA	0,52 $\pm$ 0,18	0,51 $\pm$ 0,13	$>0,05$

Qua bảng 3.4 có thể thấy nồng độ các acid béo không có sự khác biệt giữa 2 nhóm tuổi ($p > 0,05$).

Đánh giá tương quan pearson giữa nồng độ omega 3, omega 6, tỷ lệ omega3/6 với một số đặc điểm cận lâm sàng ở nhóm nghiên cứu trình bày trong bảng 3.5.

Bảng 3.5. Sự tương quan giữa nồng độ omega 3, omega 6, tỷ lệ omega 3/6 với một số đặc điểm cận lâm sàng

Yếu tố nguy cơ	Nồng độ Acid béo ($\bar{X} \pm SD, \mu\text{g/mL}$), n=32							
	EPA		DHA		AA		(EPA+DHA)/AA	
	r	p	r	p	r	p	r	p
HGB	0,24	$>0,05$	0,275	$>0,05$	0,314	$>0,05$	0,2	$>0,05$
CRP	-0,41	$<0,05$	-0,391	$<0,05$	-0,532	$<0,05$	-0,234	$>0,05$
TG	0,11	$>0,05$	0,02	$>0,05$	0,15	$>0,05$	-0,38	$>0,05$
HDL-C	-0,07	$>0,05$	-0,11	$>0,05$	-0,34	$>0,05$	-0,09	$>0,05$
LDL-C	0,129	$>0,05$	0,09	$>0,05$	0,107	$>0,05$	0,12	$>0,05$
TC	0,184	$>0,05$	0,113	$>0,05$	0,18	$>0,05$	0,104	$>0,05$
BMI	0,86	$<0,05$	0,928	$<0,05$	0,812	$<0,05$	0,855	$<0,05$
TGLM	-0,917	$<0,05$	-0,842	$<0,05$	-0,864	$<0,05$	-0,702	$<0,05$

* r : Hệ số tương quan, $p < 0,05$

Qua bảng 3.5 cho thấy chỉ số BMI tương quan thuận với cả 3 nồng độ EPA, AA, DHA với mức ý nghĩa $p < 0,05$. TGLM tương quan nghịch với nồng độ EPA, AA, DHA ($p < 0,05$). CRP tương quan nghịch, mức độ vừa với nồng độ EPA, AA, DHA ($p < 0,05$), với tỉ lệ (EPA+DHA)/AA ($p > 0,05$). HGB, triglycerid, HDL-C, LDL-C, cholesterol không có tương quan với nồng độ các omega.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ PUFA ở bệnh nhân BTM LMCK giảm so với nhóm chứng ($p < 0,05$) (bảng 3.3): C18:2n-6 ($14,9 \pm 5,6 \mu\text{g/mL}$ vs. $37,3 \pm 10,7 \mu\text{g/mL}$); C18:3n-3 ($0,1 \pm 0,1 \mu\text{g/mL}$ vs. $0,36 \pm 0,18 \mu\text{g/mL}$); C20:2n-6 ($0,09 \pm 0,04 \mu\text{g/mL}$ vs. $0,31 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$); C20:4n-6 ($0,88 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$ vs. $1,36 \pm 0,19 \mu\text{g/mL}$); C20:5n-3 ($0,1 \pm 0,046 \mu\text{g/mL}$ vs. $0,35 \pm 0,12 \mu\text{g/mL}$); C22:6n-3 ($0,4 \pm 0,28 \mu\text{g/mL}$ vs. $1,73 \pm 0,66 \mu\text{g/mL}$). Điều này phù hợp với các báo cáo trên thế giới đã công bố như của Nakamura vs cộng sự (2008) [2] hay Gollasch và cộng sự (2008) [4]. Sự giảm các acid béo không bão hòa nói chung so với nhóm chứng song song với giảm triglyceride có thể do suy dinh dưỡng, viêm và xơ vữa động mạch [5]. Đối với bệnh nhân BTM LMCK, quá trình lọc có thể ảnh hưởng đến các enzyme desaturase và elongase tạo ra các omega này. Hoạt động của desaturase được báo cáo là giảm ở bệnh nhân tiểu đường [6], nó cũng có thể bị ảnh hưởng bởi các bệnh khác như bệnh thận giai đoạn cuối. Ngoài ra có một số lý do để giải thích rằng omega 3, đặc biệt là EPA và DHA thấp trong huyết tương nhóm bệnh, quá trình LMCK có thể dẫn đến tăng quá trình peroxy hóa omega 3 [7]. Cuối cùng dẫn đến phá vỡ cấu trúc acid béo và mất chức năng sinh học. Bên cạnh đó, sự hấp thụ acid béo omega 3 có thể bị giảm do hậu quả của bệnh thận - liên quan đến hạn chế ăn kiêng kali.

Nồng độ các omega, tỷ lệ omega 3/omega 6 tương quan nghịch với thời gian lọc máu

($p < 0,05$) (Bảng 3.5). Có thể do quá trình viêm ở bệnh nhân BTM LMCK xảy ra thông qua sự giảm PUFA. Những biến đổi chiếm ưu thế là sự chuyển hóa của GLA (C18: 3n-6) thành DGLA (C20: 3n-6) và AA (C20: 4n-6). Khi bệnh thận mạn tiến triển, cùng với các chỉ số nhân trắc học xấu đi và tăng thải trừ K⁺, hoạt động của 6-desaturase giảm, làm giảm tổng hợp EPA và DHA, tỷ lệ C18: 3n-6 / C22: 4n-6 giảm mạnh sau 5 năm. Chỉ số này có thể được sử dụng để chẩn đoán tiến triển của bệnh [3]. Ngoài ra, một số yếu tố có thể góp phần vào thành phần FA bị thay đổi này: mất cảm giác thèm ăn và / hoặc hạn chế của thực hiện chế độ ăn kiêng, sự hiện diện của bệnh đồng mắc, mất omega 3 vào dịch lọc...

Chỉ số CRP tương quan nghịch với tỉ lệ EPA, DHA, AA ($p < 0,05$). Rasic-Milutinovic và cộng sự (2007) cũng đã nghiên cứu tác dụng của axit béo omega 3 (EPA + DHA 2,4 g / ngày) trong 8 tuần ở 35 bệnh nhân chạy thận nhân tạo (tuổi trung bình $54,50 \pm 11,99$ tuổi) cho thấy kết quả là có sự giảm đáng kể nồng độ của tất cả các dấu hiệu viêm ($p = 0,01$ đối với TNF- α , $p = 0,001$ đối với IL-6, $p = 0,001$ đối với hs-CRP và $p = 0,01$ đối với ferritin), trước khi thực hiện nghiên cứu ông cũng khảo sát thấy tương quan nghịch giữa EPA, DHA với CRP. Dựa vào kết quả nghiên cứu của mình, tác giả cũng cho kết luận tương tự [8].

Đồng thời nồng độ acid béo EPA, DHA, AA và omega 3/omega 6 huyết tương có mối tương quan nghịch với chỉ số BMI ($p < 0,05$). Điều này phù hợp với nhiều nghiên cứu cả

thuần tập lẫn can thiệp. Theo nghiên cứu của Sikorska-Wisniewska và cộng sự (2017) đánh giá sự tương quan giữa chỉ số mỡ cơ thể và nồng độ một số omega cho nghiên cứu can thiệp của Kooshki và cộng sự (2011) trên 34 người trưởng thành (21 nam và 13 nữ) được bổ sung hàng ngày 4 viên omega 3 đường uống (mỗi viên chứa 310 mg EPA và 210 mg DHA), kết quả được đánh giá sau 10 tuần cho thấy có sự tăng nhẹ chỉ số BMI của đối tượng nghiên cứu (từ $19,5 \pm 3$ lên 20 ± 3) mặc dù sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) có mối tương quan thuận giữa chúng với hệ số tương quan $r = 0,95$, $p < 0,05$ [9].

V. KẾT LUẬN

Nồng độ PUFA của nhóm bệnh thấp hơn so với nhóm chứng ($p < 0,05$). EPA, AA, DHA và tỷ lệ EPA+DHA/AA tương quan thuận mức độ chặt chẽ với BMI; tương quan nghịch mức độ chặt chẽ với thời gian lọc máu và tương quan nghịch mức độ vừa với nồng độ CRP.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lauretani F, et al.** Plasma polyunsaturated fatty acids and the decline of renal function. Clin Chem 2008; **54**(3): 475-81.
2. **Nakamura N, et al.** Serum lipid profile and plasma fatty acid composition in hemodialysis patients-comparison with chronic kidney disease patients. In vivo 2008; **22**(5): 609-611.
3. **Szczuko M, et al.** The C18: 3n6/C22: 4n6 ratio is a good lipid marker of chronic kidney disease (CKD) progression. Lipids in Health and Disease 2020; **19**: 1-14.
4. **Gollasch, B, et al.** Effects of hemodialysis on blood fatty acids. Physiological Reports 2020; **8**(2): e14332.
5. **Pecoits-Filho R, Lindholm B, and Stenvinkel P.** The malnutrition, inflammation, and atherosclerosis (MIA) syndrome—the heart of the matter. Nephrology Dialysis Transplantation 2002; **17**(suppl 11): 28-31.
6. **Brenner RR.** Hormonal modulation of $\Delta 6$ and $\Delta 5$ desaturases: case of diabetes. Prostaglandins, leukotrienes and essential fatty acids 2003; **68**(2): 151-162.
7. **Ikizler T, et al.** Plasma F2-isoprostane levels are elevated in chronic hemodialysis patients. Clinical nephrology 2002; **58**(3): 190-197.
8. **Rasic-Milutinovic Z, et al.** Effects of N-3 PUFAs supplementation on insulin resistance and inflammatory biomarkers in hemodialysis patients. Renal failure 2007; **29**(3): 321-329.
9. **Sikorska-Wisniewska M, et al.** Disorders of serum omega-3 fatty acid composition in dialyzed patients, and their associations with fat mass. Renal failure 2017; **39**(1): 406-412.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ HIGH SENSITIVITY C REACTIVE PROTEIN (hs-CRP) Ở BỆNH NHÂN SUY THẬN MẠN LỌC MÁU CHU KỲ TẠI BỆNH VIỆN BƯU ĐIỆN

Trần Văn Bảo¹, Vũ Mạnh Thùy¹, Nguyễn Đình Mạnh¹,
Trần Văn Thịnh¹, Hoàng Thị Minh², Phạm Văn Trân².

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nồng độ CRP độ nhạy cao (hs-CRP) ở bệnh nhân suy thận mạn giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 92 bệnh nhân suy thận mạn giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ tại Bệnh viện Bưu điện từ tháng 9 năm 2019 đến 12 năm 2019. **Kết quả:** Nồng độ trung bình hs-CRP là $5,16 \pm 6,61$ mg/L, trong đó giới nam là $4,69 \pm 5,51$ mg/L, giới nữ là $5,79 \pm 7,91$ mg/L. Theo nhóm tuổi; nhóm 20-40 tuổi là $3,43 \pm 3,85$ mg/L, từ 41-60 tuổi là $4,30 \pm 5,18$ mg/L, nhóm trên 60 tuổi là $8,85 \pm 9,92$ mg/L. **Kết luận:** Nồng độ hs-CRP tăng cao trong nhóm suy thận mạn giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ.

Từ khóa: suy thận, hs-CRP, lọc máu chu kỳ.

SUMMARY

STUDY ON HIGH SENSITIVITY C REACTIVE PROTEIN (hs-CRP) CONCENTRATION IN PATIENTS WITH END-STAGE RENAL FAILURE ON DIALYSIS AT HANOI POST HOSPITAL

¹Bệnh viện bưu điện;

²Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Trần Văn Bảo

Email: trvbao1964@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

Objective: To determine the hs-CRP concentration in patients with end-stage renal failure on dialysis. **Objects and methods:** Cross-sectional study on 92 patients with end-stage renal failure on dialysis at Ha Noi Post Hospital from September to December 2019. **Results:** Average hs-CRP concentration was 5.16 ± 6.61 mg/L, in which, men : 4.69 ± 5.51 mg/L, female : 5.79 ± 7.91 mg/L. By age group; 20-40 years old group : 3.43 ± 3.85 mg/L, from 41-60 years old : 4.30 ± 5.18 mg/L, group over 60 years : 8.85 ± 9.92 mg/L. **Conclusion:** hs-CRP level was elevated in the end-stage dialysis group.

Key words: renal failure, hs-CRP, cyclic dialysis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy thận giai đoạn cuối là hậu quả cuối cùng của các bệnh thận mạn tính do tổn thương thận mạn tính làm giảm sút từ từ số lượng nephron và sau đó suy giảm chức năng thận, hậu quả cuối cùng là suy thận hay bệnh thận giai đoạn cuối và không hồi phục. Quá trình này dẫn đến nhiều biến chứng, đặc biệt là biến chứng tim mạch[5]. Nhiều tác giả cho rằng, tỷ lệ bệnh nhân bệnh thận mạn chết vì tim mạch hơn bệnh nhân thận mạn đơn thuần [1]. Điều trị bệnh thận giai đoạn cuối có 3 phương pháp; điều trị nội khoa duy trì, lọc máu chu kỳ và ghép thận. Trong các phương pháp điều trị là lọc máu chu kỳ, nó cũng có một số biến chứng đặc biệt là vấn đề đề bệ nhiễm trong quá trình lọc máu.

Việt Nam tuy chưa có số liệu thống kê, song ước tính có khoảng 5 triệu người bị suy thận và hàng năm khoảng 26.000 người bị suy thận mạn tính giai đoạn cuối phải chạy thận nhân tạo có khoảng 8.000 ca mắc bệnh mới. Tại khoa Thận-Lọc máu bệnh viện Bưu điện hiện có 18 máy chạy thận, lọc máu chu kỳ cho 112 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối chia làm 3 ca trong ngày. Tuy vậy, việc đánh giá xét nghiệm hs-CRP còn hạn chế. Nhằm góp phần nâng cao hiệu quả và phối hợp điều trị triệu chứng lâm sàng, chúng tôi triển khai đề tài này với mục tiêu khảo sát chỉ số hs-CRP ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện trên 92 bệnh nhân bệnh thận mạn lọc máu chu kỳ (53 nam và 39 nữ) tại khoa Thận - Lọc máu bệnh viện Bưu điện. Loại trừ những bệnh nhân đang dùng kháng sinh, corticoid...

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp mô tả cắt ngang, lấy mẫu thuận tiện. Thu thập số liệu qua hồ sơ bệnh án. Lấy máu huyết thanh lúc đói trước khi lọc máu. Phân tích định lượng hs-CRP trên máy sinh hóa tự động Olympus AU400. Đánh giá nồng độ hs-CRP theo Phân loại nguy cơ tim mạch dựa vào nồng độ hs-CRP huyết thanh theo Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa bệnh tật Hoa Kỳ và Hội tim mạch Hoa Kỳ năm 2002 (CDC/AHA-2002) [6]:

Nguy cơ thấp: nồng độ hs-CRP huyết thanh < 1,0 mg/L.

Nguy cơ trung bình: nồng độ hs-CRP 1,0 mg/L-3 mg/L

Nguy cơ cao: nồng độ hs-CRP huyết thanh > 3,0 mg/L.

2.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu thu thập được xử lý bằng các thuật toán thống kê y học theo chương trình SPSS version 22.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm tuổi, giới của đối tượng nghiên cứu.

Nhóm tuổi		Giới tính						p
		Nam (n=53)		Nữ (n=39)		Chung (n=92)		
		n	%	n	%	n	%	
< 20 tuổi		0	0.0	1	2.6	1	1.1	> 0.05
20-40 tuổi		24	45.3	12	30.8	36	39.1	
40-60 tuổi		19	35.8	13	33.3	32	34.8	
> 60 tuổi		10	18.9	13	33.3	23	25.0	
Tổng		53	100.0	39	100.0	92	100.0	
Tuổi	X ±SD	46.96±13.38 (51%)		51.13±15.82 (49%)		48.80±14.54		> 0.05
	Min-Max	27-78		14-83		14-83		

Nhận xét: Không có sự khác biệt tuổi trung bình giữa nam và nữ với $p > 0.05$. Theo nhóm tuổi 20-40 chiếm 39 %, nhóm tuổi 40-60 chiếm 35%, nhóm trên 60 tuổi là 25%, có 1 trường hợp dưới 20 tuổi chiếm 1%.

3.2. Nồng độ hs-CRP của đối tượng nghiên cứu

3.2.1. Nồng độ hs-CRP của đối tượng nghiên cứu theo nhóm tuổi

Bảng 3.2. Nồng độ hs-CRP của nhóm nghiên cứu theo nhóm tuổi.

hs-CRP (mg/L)	Nhóm tuổi				
	< 20 tuổi (n=1)	20-40 tuổi (n=36)	40-60 tuổi (n=32)	> 60 tuổi (n=23)	Chung (n=92)
	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD	X±SD
	9.67±0.0.	3.43±3.85	4.30±5.18	8.85±9.92	5.16±6.61
p		p < 0.05			

Nhận xét: Giá trị hs-CRP trung bình có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm. Trừ nhóm < 20 tuổi do có 1 mẫu không tham gia so sánh.

3.2.2. Nồng độ hs-CRP của đối tượng nghiên cứu theo giới.

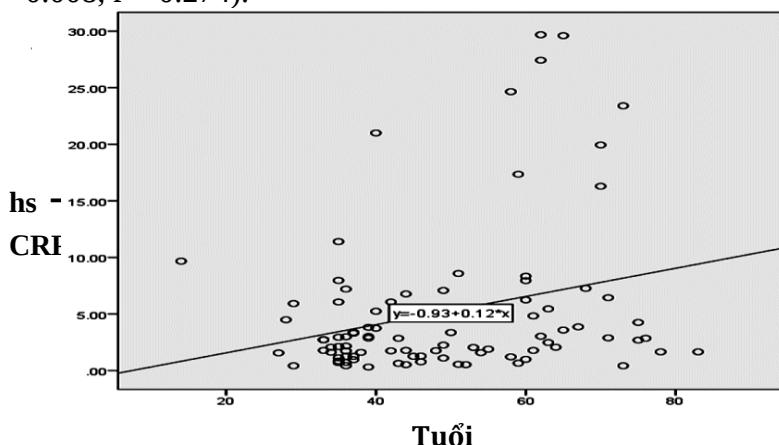
Bảng 3.3. Nồng độ hs-CRP nhóm nghiên cứu theo giới.

Giá trị hs-CRP (1-3 mg/L)	Giới tính			hs-CRP Trung bình (2 mg/L)
	Nam (n=53)	Nữ (n=39)	Chung (n=92)	
	X ±SD	X ±SD	X ±SD	
	4.69 ±5.51	5.79 ±7.91	5.16 ±6.61	2
p > 0.05			p < 0.001	

Nhận xét: Giá trị hs-CRP trung bình là 5.16 ± 6.61mg/L tăng có ý nghĩa thống kê với giá trị trung bình của người bình thường là 2mg/L (p <0.001. Giá trị trung bình của nam 4.69 ±5.51, giá trị trung bình của nữ 5.79 ±7.91. Không có sự khác biệt giữa nam và nữ (p >0.05).

3.2.3. Tương quan giữa hs-CRP và tuổi

Đối với nồng độ hs-CRP huyết thanh, kết quả nghiên cứu của của chúng tôi (Biểu đồ 3.1) cho thấy ở nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn có lọc máu chu kỳ có tương quan thuận với tuổi mức độ vừa (p = 0.008, r = 0.274).



Biểu đồ 3.1. Biểu đồ tương quan giữa hs-CRP với tuổi.

Nhận xét: hs-CRP có tương quan thuận với tuổi. Phương trình tương quan hs-CRP = 0.125*Tuổi – 0.926. Hệ số tương quan r = 0.275, p =0.008.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm tuổi, giới của nhóm đối tượng nghiên cứu

Độ tuổi mắc bệnh thận mạn và nhất là bệnh thận mạn giai đoạn cuối có khuynh hướng tăng dần vì các lý do được giải thích như: tuổi thọ trung bình của người dân tăng dần và quan trọng hơn là ngày nay với sự tiến bộ của các thể hệ máy, các kỹ thuật lọc máu tiên tiến ra đời có hiệu quả, đã góp phần làm cho tuổi thọ của bệnh nhân bệnh thận mạn kéo dài hơn.

Đề tài nghiên cứu được thực hiện trên 92 bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối tại khoa Thận Lọc Máu Bệnh viện Bưu Điện, thời gian từ tháng 09-12/2019. Độ tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi là 48.80 ± 14.54 , tuổi thấp nhất là 14 và cao nhất là 83. So sánh với những nghiên cứu khác ở trong nước trước đây không thấy có sự khác biệt. Kết quả về độ tuổi trung bình của chúng tôi tương tự với các tác giả khác như: Phạm Xuân Thu là 43.18 ± 14.80 Huỳnh Văn Dũng là 48.14 ± 14.70 , [5].

Trong tổng số 92 bệnh nhân tuổi nhỏ nhất 14, lớn nhất 83 tuổi. trong đó gồm 53 bệnh nhân nam với tuổi trung bình 46.96 ± 13.38 nhỏ nhất 27 tuổi, lớn nhất 78 tuổi. Số bệnh nhân nữ là 39 tuổi trung bình 51.13 ± 15.82 . Bệnh nhân nhỏ nhất 14 tuổi, lớn nhất 83 tuổi. Theo nhóm tuổi thấy nhóm tuổi từ 20-40 chiếm 39%, nhóm tuổi 40-60 chiếm 35% và trên 60 tuổi là 25%. Như vậy trong nhóm nghiên cứu chúng tôi thấy tỷ lệ nam nữ là tương đương nhau ($p > 0.05$), tuổi trung bình của nhóm theo giới cũng không có sự khác biệt với ($p > 0.05$) (bảng 3.1). Điều này giúp trong quá trình đánh giá các giá trị xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi yếu tố giới tính và tuổi.

Trong phân loại nhóm tuổi, chúng tôi thấy

lứa tuổi 20 - 40 chiếm tỷ lệ khá cao 39%, và nhóm 40-60 chiếm 35%. Đối tượng này là đối tượng trụ cột trong gia đình cũng như là lực lượng sản xuất chính của xã hội. Do vậy, rất cần tới sự quan tâm đến sức khỏe để sàng lọc cũng như điều trị.

4.2. Nồng độ hs-CRP của nhóm nghiên cứu.

4.2.1. Giá trị nồng độ hs-CRP theo giới.

Kết quả nghiên cứu (bảng 3.3) phân tích nồng độ hs-CRP theo giới kết quả cho thấy: Nồng độ hs-CRP trung bình của nam 4.69 ± 5.51 mg/L, nồng độ trung bình của nữ giới là 5.79 ± 7.91 mg/L, giá trị trung bình chung là 5.16 ± 6.61 mg/L. Giữa hai nhóm nam và nữ sự khác biệt giá trị trung bình không có ý nghĩa thống kê ($p > 0.05$).

Kết quả của chúng tôi tương tự như tác giả Nguyễn Văn Tuấn. Nồng độ hs-CRP trong nghiên cứu này không có sự khác biệt giữa nam so với nữ ở cả nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn có MLCT < 60 ml/ph/1,73m², nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn có MLCT ≥ 60 ml/ph/1,73m² và nhóm người bình thường [4]. Theo Trương Phi Hùng và Đặng Vạn Phước trên người bình thường cũng cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ HsCRP giữa nam so với nữ. Khi nghiên cứu trên bệnh nhân bệnh thận mạn chưa lọc máu tác giả Georgi Abraham cũng nhận thấy không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hs-CRP với yếu tố giới ở bệnh nhân bệnh thận mạn chưa lọc máu [1].

4.2.2. Giá trị nồng độ hs-CRP trung bình

Suy chức năng thận gắn liền với sự gia tăng các dấu ấn sinh học của viêm, bao gồm hs-CRP, IL-6,... Sự gia tăng này xuất hiện ngay cả khi không có các bằng chứng lâm sàng hoặc các bằng chứng tổn thương tim mạch. Viêm xuất hiện sớm trong bệnh lý

thận mạn và thúc đẩy quá trình hình thành xơ vữa động mạch. Sự gia tăng nồng độ các dấu ấn sinh học của viêm trong bệnh lý thận mạn có thể do tăng tổng hợp, giảm thanh thải hoặc cả hai cơ chế trên. Suy chức năng thận có thể trực tiếp gây ra tăng các dấu ấn sinh học của viêm thông qua cơ chế tăng tình trạng oxy hoá dẫn đến tích lũy các sản phẩm chuyển hoá đầu cuối của glycation (AGEs). Nồng độ các chất này tăng khi mức lọc cầu thận giảm gây ra hoạt hoá bạch cầu đơn nhân và tổng hợp các cytokin bao gồm hs-CRP.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự gia tăng có ý nghĩa thống kê nồng độ hs-CRP ở bệnh nhân bệnh thận mạn lọc máu chu kỳ so với giá trị quy chiếu về nguy cơ tim mạch. Giá trị quy chiếu bình thường có nồng độ hs-CRP <1mg/L, từ 1-3mg/L có nguy cơ nhẹ, trên 3mg/L có nguy cơ cao về tim mạch. Trong nhóm nghiên cứu với n=92, giá trị trung bình hs-CRP là 5.16 ± 6.61 mg/L, tăng có ý nghĩa với $p < 0,001$ (bảng 3.2).

Đối với nhóm tuổi. Giá trị hs-CRP huyết thanh của nhóm bệnh nhân nghiên cứu chia theo nhóm tuổi là: nhóm 20-40 tuổi (n=36) nồng độ hs-CRP trung bình là 3.43 ± 3.85 mg/L, nhóm tuổi 40-60 là 4.30 ± 5.18 mg/L, nhóm trên 60 tuổi là 8.85 ± 9.92 mg/L. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tuổi ($p < 0.05$), riêng nhóm < 20 tuổi (n=1) không đưa vào kiểm định. Có thể thấy, tuổi càng cao thì nồng độ trung bình của hs-CRP càng tăng.

Một số kết quả nghiên cứu ở nhóm người bình thường và nhóm người suy thận mạn chưa lọc cho kết quả ngược lại. Kết quả nghiên cứu của Trương Phi Hùng và Đặng Vạn Phước trên người bình thường cũng nhận thấy không có sự khác biệt nồng độ hs-CRP huyết thanh giữa 3 nhóm tuổi trên [6].

Nghiên cứu của Abraham Georgi trên bệnh nhân bệnh thận mạn chưa lọc máu cũng nhận thấy không có mối liên quan giữa nồng độ hs-CRP với tuổi [1]. Trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi đối tượng là những bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối đang lọc máu chu kỳ chúng tôi nhận thấy có sự tương quan thuận giữa tuổi với nồng độ hs-CRP. Điều này có sự khác biệt với nghiên cứu của các tác giả ở nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn chưa chạy thận. Điều khác biệt đó chúng tôi cho rằng; có sự tương quan này là do thời gian lọc máu tiến hành trong nhiều năm, các biến chứng bệnh thận mạn như suy kiệt do chế độ ăn hạn chế đạm, thiếu máu do bị ức chế erythropoietin... đã làm suy giảm chức năng miễn dịch của cơ thể, có thể một số biến chứng nhiễm trùng xuất hiện như viêm da, viêm phổi hay trong quá trình kỹ thuật lọc máu bệnh nhân luôn được đặt lưu cố định “câu tay” có thể là một trong những nguyên nhân làm tăng thêm yếu tố viêm phổi hợp.

4.2.3. Tăng nồng độ hs-CRP với nguy cơ tử vong tim mạch ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối.

Tăng hs-CRP được xác định là có giá trị dự báo nguy cơ bệnh tim mạch. Ở giai đoạn cuối của suy thận, xơ vữa động mạch là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở nhóm bệnh nhân này [10]. Bệnh nhân bị thận mạn giai đoạn cuối vấn đề liên quan đến hội chứng ure máu cao gây ra giải phóng cytokine viêm dẫn đến suy chức năng nội mạc cũng như gây tình trạng viêm kéo dài bao gồm tăng hs-CRP khoảng 20% đến 65% tùy từng nghiên cứu [2]. Ảnh hưởng của hs-CRP tại chỗ là làm giảm tổng hợp nitric oxid (NO), tăng bộc lộ thụ thể angiotensin II trong tế bào cơ trơn thành mạch, biệt hóa tế bào bằng cách hoạt hóa yếu tố nhân kappa B (NF- κ B), giải phóng yếu tố cơ mạch có

nguồn gốc nội mạch endothelin-1, giảm hoạt tính của nitric oxid trong tế bào nội mạch động mạch [7]. Vì vậy, viêm gây ra giảm chức năng thận bằng cách thúc đẩy suy chức năng tế bào nội mô, gây xơ vữa động mạch, cao huyết áp, tiểu đường và tổn thương cầu thận. Cuối cùng, điều trị kháng viêm cho thấy có hiệu quả trong việc bảo tồn chức năng thận[8].

V. KẾT LUẬN

Khảo sát nồng độ hs-CRP huyết thanh ở 92 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ tại khoa Thận – lọc máu Bệnh viện Bưu điện, từ tháng 9/2019 đến 12/2019, chúng tôi rút ra kết luận sau:

- Nồng độ hs-CRP trung bình: $5.16 \pm 6.61 \text{ mg/L}$ tăng có ý nghĩa so với giá trị quy chiếu với $p < 0.001$.
- Nồng độ hs-CRP của nam: $4.69 \pm 5.51 \text{ mg/L}$ và của nữ: $5.79 \pm 7.91 \text{ mg/L}$
- Không có sự khác biệt về nồng độ hs-CRP giữa nam và nữ ($p > 0.05$).

KHUYẾN NGHỊ

hs-CRP là một chỉ dấu đánh giá nguy cơ bệnh tim mạch, sự gia tăng hs-CRP có liên quan tới tình trạng viêm và bội nhiễm khác do tình trạng dinh dưỡng kém. Chính vì vậy, trong điều trị lọc máu cần kết hợp dùng kháng sinh, chống viêm phù hợp, theo dõi chặt chẽ biến chứng nguy cơ tim mạch.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Abraham Georgi, Sundaram Varun, Sundaram Vivek et al.** C- reactive protein, a valuable predictive marker in chronic kidney

- disease. Saudi J Kidney Dis Transpl. (2009)20;50 : pp,811-815.
2. **Arici Mustafa, Walls John.** End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? Kidney Int.(2001) 59: pp.407-414.
3. **KDOQI.** Association of Chronic Kidney Disease with Cardiovascular Disease. Kidney International Guideline, 2002.
4. **Nguyễn Văn Tuấn .** Nghiên cứu nồng độ TGF-beta1 và hs- CRP huyết thanh ở bệnh nhân bị bệnh thận mạn, Luận án tiến sĩ Y học (2015) Trường đại học Y Dược Huế, trang 52-60.
5. **Phạm Xuân Thu, Nguyễn Đình Dương, Lê Việt Thắng.** Nghiên cứu tỷ lệ, đặc điểm rối loạn lipid máu ở bệnh nhân suy thận mạn tính thận nhân tạo chu kỳ, Y học Thực hành số 8(2012), tr. 67-70.
6. **Smith C. Sidney, Anderson L.Jeffrey, Cannon III O.Richard et al(2004).** Application to Clinical and Public Health Practice. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease. Circulation.110, pp, 550-553.
7. **Suliman E.Mohamed,S.P.** Contribution of inflammation to vascular disease in chronic kidney disease patients. Saudi J kidney Dis Transplant (2008)19(3),pp,329-345.
8. **Tonelli Marcello,M.L.** Effect of pravastatin on loss of renal function in people with moderate chronic renal insufficiency and cardiovascular disease. J Am Soc.Nephron.(2003) 14,pp,1605-1613.
9. **Trương Phi Hùng, Đặng Vạn Phước.** Nghiên cứu nồng độ C-Reactive protein máu ở người bình thường. Y học Thành phố Hồ Chí Minh (2007)11,76-89.
10. **Vidt G.Donald .** Inflammation in Renal disease. Am J Cardiol (2006)97, pp, 20-27.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ KẼM HUYẾT THANH Ở BỆNH NHÂN THIẾU MÁU THIẾU SẮT TẠI BỆNH VIỆN BẠCH MAI

Nguyễn Thị Thùy*, Bùi Tuấn Anh*, Ngô Thị Mai Phương*

TÓM TẮT

Thiếu máu do thiếu sắt (IDA) là một vấn đề lớn của sức khỏe cộng đồng, đặc biệt là ở những Quốc gia kém phát triển và đang phát triển. Kẽm là yếu tố đồng hoạt động của một số enzym đóng vai trò trong chuyển hóa sắt, vì vậy thiếu kẽm có liên quan đến IDA. Trong nghiên cứu này chúng tôi xác định nồng độ kẽm huyết thanh ở 40 bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt và so sánh với 40 người ở nhóm chứng. **Kết quả:** nồng độ kẽm huyết thanh trung bình của nhóm IDA là $9,0 \pm 4,2 \mu\text{mol/L}$, thấp hơn của nhóm chứng ($10,7 \pm 5,5 \mu\text{mol/L}$), với $p < 0,05$. Không có sự tương quan giữa nồng độ kẽm huyết thanh với mức độ thiếu máu. Có sự tương quan nghịch có ý nghĩa giữa nồng độ kẽm và ferritin trong huyết thanh với $r = -0,533$; $p < 0,05$.

Kết luận: 1) Nồng độ kẽm huyết thanh ở những bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt thấp hơn có ý nghĩa so với ở những người nhóm chứng. 2) Có sự tương quan nghịch có ý nghĩa giữa nồng độ kẽm và ferritin huyết thanh ở bệnh nhân thiếu máu do thiếu sắt.

Từ khóa: Thiếu máu thiếu sắt (IDA), nồng độ kẽm huyết thanh

SUMMARY

STUDY ON SERUM ZINC LEVELS IN PATIENTS WITH IRON DEFICIENCY ANEMIA AT BACH MAI HOSPITAL

*Bệnh viện Bạch Mai

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Tuấn Anh

Email: anhbuituanhs@yahoo.com

Ngày nhận bài: 5.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

Iron deficiency anemia (IDA) is a major public health problem, especially in underdeveloped and developing countries. Zinc is the co-factor of several enzymes and plays a role in iron metabolism, so zinc deficiency is associated with IDA. In this study, we measured the level of serum zinc in IDA then compare our result with those of a healthy control group.

Results: we found that serum zinc levels were significantly lower in IDA patients ($9.0 \pm 4.2 \mu\text{mol/L}$) than in the control subjects ($10.7 \pm 5.5 \mu\text{mol/L}$; $p < 0.05$). In the IDA patient group, there was no statistical correlation between the levels of anemia and serum zinc levels. There was a significant inverse correlation between serum zinc and ferritin concentrations.

Conclusion: 1) Serum zinc levels were significantly lower in iron deficiency anemia patients than in the control subjects ($p < 0.05$). 2) There was a significant inverse correlation between serum zinc and ferritin concentrations in iron deficiency anemia patients.

Key words: serum zinc, Iron deficiency anemia.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu sắt là một trong những vấn đề dinh dưỡng phổ biến nhất và có liên quan đến các vấn đề sức khỏe bao gồm sự phát triển bất thường về tâm thần và vận động ở trẻ sơ sinh, giảm khả năng làm việc, tăng nguy cơ sinh non, và trong các trường hợp thiếu máu trầm trọng, tăng tử vong ở mẹ và trẻ sơ sinh [1]. Chẩn đoán, phòng ngừa và điều trị thiếu sắt là một mục tiêu lớn trong sức khỏe cộng

đồng, đặc biệt là ở nước có thu nhập trung bình.

Kẽm được tìm thấy trong cấu trúc của metalloprotein và hơn 300 loại enzym. Kẽm là yếu tố đồng hoạt động của một số các enzym và đóng một vai trò quan trọng trong việc ổn định màng tế bào, tổng hợp protein, tăng trưởng các mô bình thường và chuyển hóa axit nucleic [2]. Sắt và kẽm là một số chất vô cơ cần thiết cho sự phát triển bình thường và duy trì hoạt động sinh học [3]. Kẽm có chức năng như chất xúc tác trong chuyển hóa sắt, hoạt động của axit enzyme alpha - aminolevulinic dehydratase, hoạt động như một chất điều hòa chính trong sự phát triển của tế bào hồng cầu bằng cách điều chỉnh sự biểu hiện gen cụ thể đối với chuỗi erythroid, thực hiện quy định phiên mã tạo hồng cầu, hỗ trợ sự tăng sinh của các nguyên bào hồng cầu chưa trưởng thành, và tạo hồng cầu bình thường bằng cách đóng một vai trò tiềm năng trong sự phát triển nối tiếp của các tế bào gốc tạo máu và tế bào megakaryocytes [4].

Cho đến nay ở Việt Nam vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về nồng độ kẽm ở bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt. Do vậy chúng tôi thực hiện đề tài: “Nghiên cứu nồng độ kẽm ở bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt tại Bệnh viện Bạch Mai” với 2 mục tiêu:

1. Khảo sát nồng độ kẽm huyết thanh của bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt tại bệnh viện Bạch Mai so với nhóm chứng.

2. Đánh giá sự liên quan giữa nồng độ kẽm huyết thanh với các thông số Hóa sinh và huyết học ở những bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tất cả bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt được khám và điều trị tại Trung tâm Huyết học và truyền máu bệnh viện Bạch Mai.

Thời gian: từ tháng 3 đến tháng 9 năm 2020

Địa điểm: khoa Hóa sinh bệnh viện Bạch Mai; Trung tâm Huyết học và truyền máu bệnh viện Bạch Mai.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế: nghiên cứu mô tả cắt ngang

- Mẫu nghiên cứu:

+ Chọn mẫu thuận tiện

+ **Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân:** bệnh nhân được chẩn đoán là thiếu máu thiếu sắt:

Hb<130 (nam) , Hb<120 (nữ) Hb<110 (trẻ em), MCV <80 fL, MCH <26 pg / tế bào, Fe huyết thanh <8 µmol/L, ferritin huyết thanh <30 ng / mL.

+ **Tiêu chuẩn loại trừ:** Bệnh nhân bị bệnh ác tính, phụ nữ mang thai hoặc cho con bú, bỏng diện rộng, viêm da tróc vảy, hội chứng kém hấp thu đường ruột, nghiện rượu, nhiễm HIV, suy giáp, bệnh thận mãn tính hoặc đang mắc bệnh lý nhiễm

- Chỉ tiêu nghiên cứu:

+ Chỉ tiêu chung: Tuổi, giới

+ Chỉ tiêu cận lâm sàng: Công thức máu, hóa sinh máu

- **Thu thập số liệu:** Mẫu máu được lấy vào chống đông bằng lithiumheparin và ly tâm ở tốc độ 3500 vòng / phút trong 10 phút, và các mẫu huyết tương được bảo quản ở âm 80°C cho đến ngày phân tích. Phân tích nồng độ kẽm được đo bằng phương pháp so màu trên máy phân tích AU 5800 của hãng Beckman Coulter tại khoa Hóa sinh bệnh viện Bạch Mai.

Xử lý số liệu: Phần mềm SPSS 20.0

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

3.1.1 Phân bố nhóm IDA theo giới

Đặc điểm về giới ở các bệnh nhân nhóm thiếu máu thiếu sắt và nhóm đối chứng được thể hiện ở Bảng 3.1.1.

Bảng 3.1.1. Đặc điểm về giới ở nhóm bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt

		Nhóm bệnh	
		n	%
Giới	Nam	8	20
	Nữ	32	80
Tổng		40	100

Kết quả bảng 3.1.1 cho thấy tỷ lệ IDA ở nữ (80%) cao hơn so với nam (20%).

Đặc điểm về tuổi và giới ở các bệnh nhân nhóm thiếu máu thiếu sắt và nhóm đối chứng được thể hiện ở Bảng 3.1.2.

Bảng 3.1.2: Đặc điểm tuổi và giới giữa nhóm IDA và nhóm đối chứng

		Nhóm		p
		Bệnh	Chứng	
Giới	Nam	8	8	
	Nữ	32	32	
Tuổi (năm)	≤ 19	5	4	
	> 19	35	36	
	Trung bình	41,45 ± 30,47	47,25 ± 34,02	
				0,112

Kết quả ở bảng 3.1.2 cho thấy không có sự khác biệt về tuổi và giới giữa nhóm IDA và nhóm chứng

3.2. Nồng độ kẽm huyết thanh của đối tượng nghiên cứu

3.2.1. Sự liên quan nồng độ kẽm với nhóm tuổi và mức độ thiếu máu ở bệnh nhân IDA

Đặc điểm nhóm tuổi và mức độ thiếu máu ở bệnh nhân IDA được thể hiện ở Bảng 3.2.1.

Bảng 3.2.1: Đặc điểm nhóm tuổi và mức độ thiếu máu ở bệnh nhân IDA

		Nhóm bệnh		p
		n	Zn (μmol/L)	
Nhóm tuổi	<19 tuổi	5	10,8 ± 4,1	0,038
	>19 tuổi	35	8,8 ± 3,8	
Mức độ thiếu máu Hb (g/L)	Nhẹ (90 - 120 g/L)	22	9,24 ± 4,0	0,141
	Vừa (60 - <90 g/L)	15	8,43 ± 3,5	
	Nặng (<60 g/L)	3	10,83 ± 4,9	

Kết quả bảng 3.2.1 cho thấy nồng độ kẽm ở nhóm <19 tuổi cao hơn nhóm ≥19 tuổi, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nồng độ kẽm không có sự khác biệt ở các mức độ thiếu máu với p>0.05.

3.2.2. Nồng độ kẽm trung bình ở nhóm bệnh IDA và nhóm đối chứng

Nồng độ kẽm trung bình ở nhóm bệnh IDA và nhóm đối chứng được thể hiện ở Bảng 3.2.2.

Bảng 3.2.2. Nồng độ kẽm trung bình ở nhóm bệnh IDA và nhóm đối chứng

Thông số XN	Nhóm		p
	Bệnh IAD ($\mu\text{mol/L}$)	Chứng ($\mu\text{mol/L}$)	
Zn	$9,0 \pm 4,2$	$10,7 \pm 5,5$	0,004

Kết quả ở bảng 3.2.2 cho thấy nồng độ kẽm huyết thanh của nhóm bệnh nhân IDA thấp hơn so với nhóm đối chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

3.2.3. Sự tương quan kẽm huyết thanh với các thông số cận lâm sàng

Sự tương quan kẽm huyết thanh với các thông số cận lâm sàng được thể hiện ở Bảng 3.2.3.

Bảng 3.2.3. Sự tương quan kẽm huyết thanh với các thông số cận lâm sàng

Thông số XN	Nhóm bệnh	
	R	p
HC	-0,047	0,773
Hb	-0,182	0,261
MCV	-0,01	0,953
MCH	-0,153	0,388
Fe	0,011	0,946
TIBC	0,254	0,113
Ferritin	-0,533	0,000

Kết quả ở bảng 3.2.3 cho thấy nồng độ kẽm huyết thanh ở nhóm bệnh tương quan nghịch với nồng độ ferritin.

IV. BÀN LUẬN**4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu**

Nghiên cứu của chúng tôi cũng có tỷ lệ nữ mắc IDA cao hơn nam và không có sự khác biệt về độ tuổi và giới của nhóm IDA và nhóm chứng.

4.2. Nồng độ kẽm trong huyết thanh bệnh nhân IDA

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự khác biệt giữa nồng độ kẽm với nhóm tuổi bệnh nhân. Nhóm <19 tuổi có nồng độ kẽm trung bình là $10,8 \pm 4,1$

($\mu\text{mol/L}$), nhóm >19 tuổi là $8,8 \pm 3,8$ ($\mu\text{mol/L}$), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Nồng độ kẽm trung bình của nhóm IDA là $9,0 \pm 4,2$ ($\mu\text{mol/L}$) thấp hơn của nhóm chứng là $10,7 \pm 5,5$ ($\mu\text{mol/L}$) với $p < 0,05$. Kết quả này phù hợp với một số nghiên cứu: Năm 1997, Ece và cộng sự đã nghiên cứu nồng độ kẽm trong huyết thanh ở những trẻ em thiếu sắt. Kết quả cho thấy nồng độ kẽm trong huyết thanh ở nhóm IDA thấp hơn so với nhóm đối chứng ($p = 0,017$) [5]. Năm 2016 Kelkitli và cộng sự cho thấy rằng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh

nhân IDA có nồng độ kẽm huyết thanh (103,51 $\mu\text{g} / \text{dL}$) thấp hơn so với đối với các nhóm đối chứng khỏe mạnh (256,92 $\mu\text{g} / \text{dL}$) [6]. Hơn nữa, năm 2019 Ahmed Y nghiên cứu nồng độ kẽm ở 30 bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt và đánh giá mối tương quan giữa nồng độ kẽm với các triệu chứng lâm sàng cho thấy có nồng độ kẽm ở nhóm bệnh 43,4 $\pm 7,9 \text{ mg/dL}$ thấp hơn nhóm chứng là 94,7 $\pm 16,75 \text{ mg/dL}$; $p < 0,0001$.

Trong nghiên cứu của chúng tôi cũng khảo sát mối liên quan giữa nồng độ kẽm và các chỉ số hóa sinh và huyết học, trong đó nồng độ kẽm có tương quan nghịch chặt với ferritin và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

V. KẾT LUẬN

Dựa trên kết quả NC sự thay đổi nồng độ kẽm trong máu trên 40 bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt tại BV Bạch Mai từ tháng 3/2020 đến tháng 9/2020, chúng tôi đưa ra một số kết luận sau:

1. Nồng độ kẽm huyết thanh ở những bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt thấp hơn một cách có ý nghĩa hơn so với những người ở nhóm chứng.

2. Có sự tương quan nghịch có ý nghĩa giữa nồng độ kẽm và ferritin huyết thanh ở bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hershko C, Camaschella C.** How I treat unexplained refractory iron deficiency

anemia. *Blood* 2014; **123**(3): 326-333

2. **Onal S, Naziroglu M, Colak M, Bulut V, Flores-Arce MF (2011)** Effects of different medical treatments on serum copper, selenium and zinc levels in patients with rheumatoid arthritis. *Biol Trace Elem Res* 2011; **142**(3): 447-455

3. **Gurgoze MK, Olcucu A, Aygun AD, Taskin E, Kilic M .** Serum and hair levels of zinc, selenium, iron, and copper in children with iron-deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 2006; **111**(1-3): 23-29

4. **Osawa M, Yamaguchi T, Nakamura Y, Kaneko S, Onodera M, Sawada K, Jegalian A, Wu H, Nakauchi H, Iwama A.** Erythroid expansion mediated by the Gfi-1B zinc finger protein: role in normal hematopoiesis. *Blood* 2002; **100**(8): 2769-2777

5. **Ece A, Uyanik BS, Işcan A, Ertan P, Yiğitoğlu MR:** Increased serum copper and decreased serum zinc levels in children with iron deficiency anemia. *Biol Trace Elem Res* 1997; **59**: 31-39

6. **Kelkitli E, Ozturk N, Aslan NA, et al.:** Serum zinc levels in patients with iron deficiency anemia and its association with symptoms of iron deficiency anemia. *Ann Hematol* 2016; **95**: 751-756

7. **Abdelhaleim A, Amer A Y, Abdo Soliman J S.** Association of Zinc Deficiency with Iron Deficiency Anemia and its Symptoms: Results from a Case-control Study. *Cureus* 2019 Jan; **11**(1): e3811.

ĐÁNH GIÁ TÌNH TRẠNG THIẾU MÁU THIẾU SẮT Ở PHỤ NỮ MANG THAI ĐẾN KHÁM VÀ QUẢN LÝ THAI NGHÉN TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN HẢI PHÒNG

Phạm Thị Thu Trang*, Trần Văn Tâm*, Lưu Vũ Dũng*

TÓM TẮT

Thiếu máu thiếu sắt gây hậu quả nặng nề với sức khỏe người lớn đặc biệt là thai phụ và sự phát triển của thai nhi, tăng nguy cơ tai biến và tử vong mẹ trong cả thời kỳ mang thai và sinh nở. **Mục tiêu:** 1. Khảo sát nồng độ Hemoglobin, Hematocrit và Ferritin ở những phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng. 2. Đánh giá tình trạng thiếu sắt thiếu máu thiếu sắt ở những phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 4296 phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện phụ sản Hải Phòng từ 1-6/2020. **Kết quả:** Giá trị trung bình của Hemoglobin, Hematocrit là: 120.98 ± 0.16 (g/L), 35.12 ± 0.04 (%) và giá trị trung vị của Ferritin: 54.87 ($\mu\text{g/L}$). Bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt là 233 (5.43%), trong đó bệnh nhân 0.75% là thiếu máu trung bình dự trữ sắt cạn kiệt ($n=32$, 92.47 ± 6.0), 2.47%, thiếu máu nhẹ dự trữ sắt cạn kiệt ($n=106$, 104.94 ± 2.9) và 0.11% thiếu máu trung bình thiếu dự trữ sắt huyết thanh ($n=5$, 92.80 ± 5.8), 2.1% thiếu máu nhẹ thiếu dự trữ sắt huyết thanh ($n=90$, 105.94 ± 2.8). Có mối tương quan cao có ý nghĩa giữa Hb và Hct ($r=0.957$, $p<0.001$). **Kết luận:** Tỷ lệ thiếu máu thiếu sắt ở phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh

viện Phụ sản Hải Phòng là 5.43% và có mối tương quan cao giữa nồng độ Hemoglobin và Hematocrit trong đánh giá mức độ thiếu máu.

SUMMARY

ASSESSMENT OF IRON DEFICIENCY ANEMIA IN PREGNANT WOMEN WHO COME FOR MEDICAL EXAMINATION AND MANAGEMENT AT HAIPHONG OBSTETRICS HOSPITAL

Iron deficiency anemia has serious consequences on the health of adults, especially pregnant women and fetal development, increasing the risk of complications and maternal mortality during pregnancy and childbirth. **Subjects and method:** Cross sectional descriptive study on 4296 pregnant women who come for examination and management at Haiphong Obstetrics Hospital from 1-6/2020. **Purposes:** 1. Evaluate the concentration of Hemoglobin, Hematocrit and Ferritin of subjects. 2. Assessment of iron deficiency anemia situation of subjects. **Results:** Average of Hemoglobin, Hematocrit, Ferritin values were: 120.98 ± 0.16 (g/L), 35.12 ± 0.04 (%) and 54.87 ($\mu\text{g/L}$). The patients who have iron deficiency anemia were 233 (5.43%). There was a significant high correlation between Hb and Hct ($r=0.957$, $p<0.001$). **Conclusion:** The incidence of iron deficiency anemia in women who visited and managed pregnancy at Haiphong Obstetrics Hospital was 5.43% and there was a high correlation between the concentration of

*Bệnh viện sản Hải Phòng

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Thị Thu Trang

Email: phamtrangshyhp@gmail.com

Ngày nhận bài: 27.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 27.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

hemoglobin and Hematocrit in assessing the situation of anemia.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu máu do nguyên nhân thiếu sắt là loại thiếu máu dinh dưỡng hay gặp, bệnh thường xảy ra ở phụ nữ có thai và trẻ nhỏ [1]. Theo WHO 2008, hơn 1,6 tỷ người trên toàn cầu bị thiếu máu thì 50% là thiếu máu do thiếu sắt và một nửa các trường hợp thiếu máu ở phụ nữ có thai là do thiếu sắt [2]. Báo cáo của Viện Dinh dưỡng, 2009-2010 cho thấy tỷ lệ thiếu máu ở phụ nữ tuổi sinh đẻ là 28,8%, phụ nữ mang thai là 36,5%. Nguyên nhân chính thiếu máu phụ nữ Việt Nam là do thiếu sắt, chiếm từ 22-86,3% ở một số vùng nông thôn và miền núi [5]. Hậu quả của thiếu máu thiếu sắt rất nặng nề đối với sức khỏe người lớn và sự phát triển của thai nhi, tăng nguy cơ tai biến và tử vong mẹ trong cả thời kỳ mang thai và sinh nở [4]. Với các ảnh hưởng nặng nề của thiếu máu do thiếu sắt trên phụ nữ mang thai, việc phòng ngừa, phát hiện sớm và có kế hoạch điều trị kịp thời sẽ là can thiệp có hiệu quả trong việc nâng cao sức khỏe và giảm tỷ lệ tử vong ở bà mẹ và

trẻ em. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu mục tiêu:

1. *Khảo sát nồng độ Hemoglobin (Hb), Hematocrit (Hct) và Feritin ở những phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng.*

2. *Đánh giá tình trạng thiếu sắt thiếu máu thiếu sắt ở những phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu (ĐTNC): tất cả phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng tại bệnh viện Phụ sản Hải Phòng từ 1-6/2020.

2.2. Thời gian và địa điểm: Bệnh viện Phụ sản Hải Phòng từ 1-6/2020.

2.3. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang có sử dụng dữ liệu hồi cứu

2.4. Cỡ mẫu: Chọn toàn bộ bệnh án đủ tiêu chuẩn nghiên cứu trong thời gian trên.

2.5. Các chỉ số nghiên cứu và tiêu chuẩn đánh giá

2.5.1. Đánh giá tình trạng thiếu máu:

Thiếu máu Hb < 11,0 (g/dL) & Hct < 30%			
Hb	Thiếu máu nhẹ	Thiếu máu trung bình	Thiếu máu nặng
	10-10,9	7,0 – 9,9	<7,0

2.5.2. Chẩn đoán thiếu máu thiếu sắt: ĐTNC có thiếu máu và thiếu sắt [4].

Ferritin (µg/L)		
Dự trữ sắt thấp	Thiếu dự trữ sắt Ferritin huyết thanh	Dự trữ sắt cạn kiệt
< 30	15 - 30	< 15

2.6. Phân tích số liệu: Số liệu được thu thập và phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.7. Đạo đức nghiên cứu: Mọi thông tin về đối tượng đều được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu khoa học.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

N= 4296	Mean $\pm$ SD
Tuổi (năm)	28.34 $\pm$ 4.93
Chiều cao (cm)	157.51 $\pm$ 4.66
Cân nặng (kg)	56.06 $\pm$ 8.391
BMI	22.63 $\pm$ 3.09

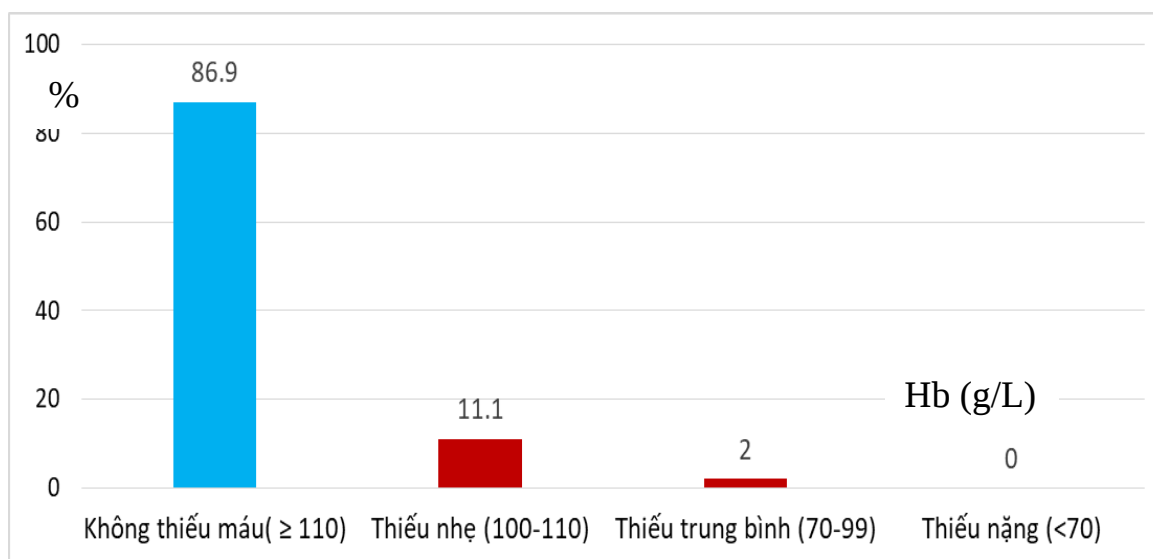
Nhận xét: tuổi trung bình của ĐTNC: 28.34 $\pm$ 4.93, chiều cao trung bình: 157.51 $\pm$ 4.66, cân nặng trung bình: 56.06 $\pm$ 8.391 và BMI trung bình: 22.63 $\pm$ 3.09.

3.2. Đặc điểm thiếu máu của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.2. Đặc điểm chỉ số Hb của ĐTNC

Hb (g/L)	n	Mean
	4296	120.98 $\pm$ 0.16

Nhận xét: Giá trị trung bình của Hb của ĐTNC là: 120.98 $\pm$ 0.16 (g/L)



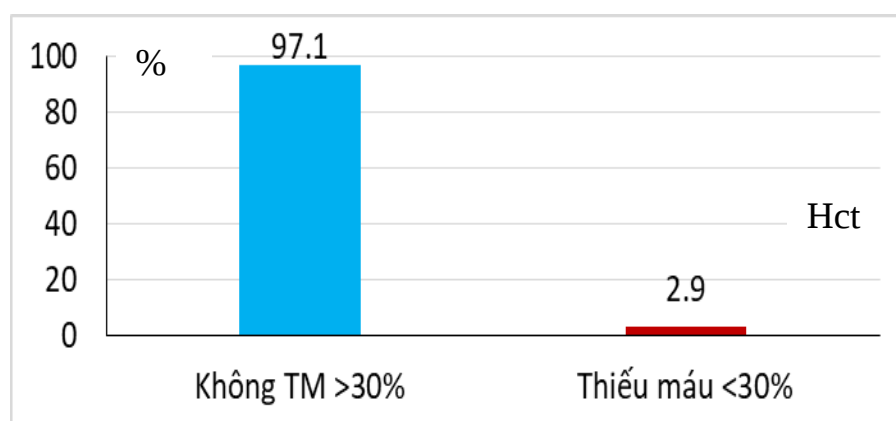
Hình 3.1. Đặc điểm thiếu máu theo Hb của ĐTNC

Nhận xét: 85 ĐTNC bị thiếu máu trung bình (2%, Hb: 70-99 g/L), 478 ĐTNC bị thiếu máu nhẹ (11.1%, Hb: 100-110 g/L), 3733 ĐTNC không bị thiếu máu (86.9 %, Hb $\geq$ 110 g/L).

Bảng 3.3. Đặc điểm chỉ số Hct của ĐTNC

Hct (%)	n	Mean $\pm$ SD
	4296	35.12 $\pm$ 0.04

Nhận xét: Giá trị trung bình của Hct của ĐTNC là: 35.12 $\pm$ 0.04 (%).



Hình 3.2. Đặc điểm thiếu máu theo Hct của ĐTNC

Nhận xét: Theo chỉ số Hct, 4170 ĐTNC không thiếu máu chiếm 97.1% (Hct>30%) và 126 ĐTNC thiếu máu chiếm 2.9% (Hct<30%).

Bảng 3.4. Phân loại thiếu máu theo Hb và Hct của ĐTNC

		Hct (%)				Tổng	
		Thiếu máu (<30)		Không thiếu máu (>30)		n	%
Hb (g/L)	Mức độ thiếu máu	n	%	n	%		
	Trung bình (70-99) $\bar{x} \pm SD$: 92.22 $\pm$ 6.4	76	1.8	9	0.2	9	2.0
	Nhẹ (100-110) $\bar{x} \pm SD$: 105.8 $\pm$ 2.8	50	1.2	478	10.0	428	11.1
	Không thiếu máu (>110) $\bar{x} \pm SD$: 123.6 $\pm$ 8.5	0	0.0	3733	86.9	3733	86.9
Tổng		126	3.0	4170	97.0	4296	100.0

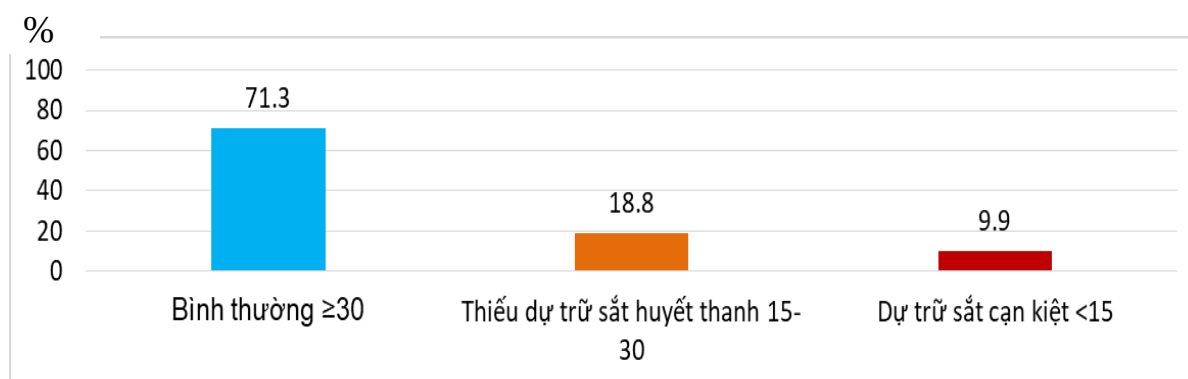
Nhận xét: Theo Hb (<110g/L), Hct (<30%), có 126 ĐTNC (3.0%), trong đó thiếu máu nhẹ có 50 ĐTNC (1.2%), thiếu máu trung bình có 76 ĐTNC (1.8%). Theo Hb<110g/L, Hct >30% có 487 ĐTNC (10.2%), trong đó thiếu máu nhẹ có 478 ĐTNC (10.0%), thiếu máu trung bình có 9 ĐTNC (0.2%). ĐTNC không thiếu máu (Hb>110g/L, Hct >30%) có 3733 (86.9%).

3.3. Tình trạng sắt của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.5. Đặc điểm nồng độ Ferritine của ĐTNC

Ferritin (μ g/L)	
n	Trung vị
4296	54.87

Nhận xét: Nồng độ Ferritine trung vị của ĐTNC: 54.87, giá trị cao nhất là 9801.0 μ g/L và giá trị nhỏ nhất là 5.01 μ g/L

**Hình 3.3. Đặc điểm mức độ sắt của ĐTNC**

Nhận xét: 3063 ĐTNC có tình trạng dự trữ sắt bình thường (71.3%, $88.73 \mu\text{g/L}$). 806 ĐTNC có tình trạng thiếu dự trữ sắt huyết thanh (18.8%, $\bar{x} \pm \text{SD}$ 22.04 ± 4.24 , giá trị trung vị: $22.06 \mu\text{g/L}$). 427 ĐTNC có tình trạng dự trữ sắt cạn kiệt (9.9%, $\bar{x} \pm \text{SD}$: 11.6 ± 2.28 , giá trị trung vị: $11.92 \mu\text{g/L}$).

Bảng 3.6. Đặc điểm thiếu máu thiếu sắt ĐTNC

Ferritin ($\mu\text{g/L}$)		Hb (g/L)			Tổng
		Thiếu máu trung bình	Thiếu máu nhẹ	Bình thường	
Dự trữ sắt cạn kiệt <15	n	32	106	289	427
	%	0.75	2.47	6.72	9.94
	$\bar{x} \pm \text{SD}$	92.47 ± 6.0	104.94 ± 2.9		
Thiếu dự trữ ferritin huyết thanh (15-30)	n	5	90	711	806
	%	0.11	2.1	16.55	18.76
	$\bar{x} \pm \text{SD}$	92.80 ± 5.8	105.94 ± 2.8		
Bình thường (>30)	n	48	282	2733	3063
	%	1.12	6.57	63.62	71.31

Nhận xét: 427 bệnh nhân dự trữ sắt cạn kiệt (9.94%), trong đó 0.75% là thiếu máu trung bình ($n=32$, 92.47 ± 6.0), 2.47% thiếu máu nhẹ ($n=106$, 104.94 ± 2.9). 806 bệnh nhân thiếu dự trữ sắt huyết thanh (18.76%), trong đó 0.11% thiếu máu trung bình ($n=5$, 92.80 ± 5.8), 2.1% thiếu máu nhẹ ($n=90$, 105.94 ± 2.8).

Bảng 3.7. Mối tương quan giữa mức độ chỉ số Hb, Hct và Ferritin của ĐTNC

	Ferritin	Hb	Hct
Ferritin	1	$r = -0.015$ $p = 0.331$	$r = -0.029$ $p = 0.062$
Hb	$r = -0.015$ $p = 0.331$	1	$r = 0.957$ $p < 0.001$

Nhận xét:

- Không có mối tương quan có ý nghĩa giữa Ferritine và Hb, Hct ($p > 0.05$)
- Có mối tương quan rất cao giữa Hb và Hct ($p < 0.001$)

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của ĐTNC: Nghiên cứu trên 4296 phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện phụ sản Hải Phòng trong thời gian từ 1-6/2020, tuổi trung bình của ĐTNC: 28.34 ± 4.93 , chiều cao trung bình: 157.51 ± 4.66 cm, cân nặng trung bình: 56.06 ± 8.391 kg, BMI trung bình: 22.63 ± 3.09 (Bảng 3.1). Kết quả nghiên cứu cao hơn so với với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp Anh, 2018. Do ĐTNC của Nguyễn Thị Diệp Anh là những phụ nữ có thai lần đầu, sống tại huyện Cẩm Khê Phú Thọ [4].

4.2. Tình trạng thiếu máu của ĐTNC

* Tỷ lệ thiếu máu: Giá trị trung bình của Hb của 4296 ĐTNC là: 120.98 ± 0.16 (g/L) và giá trị trung bình của Hct là: 35.12 ± 0.04 (%) (Bảng 3.2, 3.3). Giá trị Hb của nghiên cứu này thấp hơn với nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp Anh, 2018 ($129.0 \pm 1,2$ (g/L)) và Đinh Thị Phương Hoa, 2013 ($13.0 \pm 1,2$ (g/L)). Điều này có thể lý giải do sự phân bố dân cư ở các khu vực khác nhau, đặc điểm huyết học cũng khác nhau [4, 5].

* Tỷ lệ thiếu máu: Theo chỉ số Hb, nghiên cứu không có ĐTNC thiếu máu nặng, 2% bị thiếu máu trung bình (n=85), 11.1% bị thiếu máu nhẹ (n=478) và 86.9% không bị thiếu máu (n=3733) (Hình 3.1). Theo chỉ số Hct, 2.9% thiếu máu (n=126) và 97.1% không thiếu máu (n=4170) (Hình 3.2). Kết hợp Hb và Hct, 3.0% thiếu máu (n= 126), trong đó 1.8% thiếu máu trung bình (n=76) và 1.2% thiếu máu nhẹ (n=50) (Bảng 3.4). Khi $Hb < 110g/L$, $Hct > 30\%$, 0.2% thiếu máu trung bình (n=9), 10.0%, thiếu máu nhẹ (n=478) (Bảng 3.4). ĐTNC không thiếu máu ($Hb > 110g/L$, $Hct > 30\%$) là 86.9% (n= 3733) (Bảng 3.4).

Nếu chỉ căn cứ vào $Hct < 30\%$ sẽ bỏ sót 10.2% bệnh nhân thiếu máu và 10.0% bệnh nhân được xếp vào nhóm thiếu máu nhẹ với ($Hb < 110g/L$, $Hct > 30\%$). Nghiên cứu đã chứng minh có sự tương quan cao và có ý nghĩa thống kê giữa chỉ số Hb và Hct đánh giá tình trạng thiếu máu của ĐTNC ($r = 0.957$, $p < 0.0001$) (Bảng 3.7, Hình 3.4).

Theo chỉ số Hb, không có ĐTNC thiếu máu nặng, chủ yếu là bị thiếu máu nhẹ (n=478, 11.1%) và chỉ có 2% bị thiếu máu trung bình (n=85) (Hình 3.1). Kết quả nghiên cứu tương tự kết quả nghiên cứu của Đinh Thị Phương Hoa, 2013 phần lớn là thiếu máu nhẹ (90/105), chỉ có 14% là thiếu máu vừa và không có thiếu máu nặng [5]. Điều đáng chú ý là thiếu máu nhẹ thường không có biểu hiện lâm sàng vì thế các ĐTNC cũng như bác sĩ lâm sàng có thể không để ý, quan tâm đến. Vì vậy việc khám, xét nghiệm sàng lọc là rất quan trọng nhằm phát hiện sớm thiếu máu và có giải pháp phòng và điều trị thích hợp.

4.3. Tình trạng thiếu máu thiếu sắt của ĐTNC: Ferritin huyết thanh là một chỉ số được sử dụng để đánh giá lượng sắt dự trữ vì ferritin liên hệ chặt chẽ với cả tổng lượng sắt dự trữ trong mô, tủy xương. Nồng độ ferritin của nghiên cứu cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp Anh ($42.8\mu g/L$), Trương Hồng Sơn, 2012 trên nhóm phụ nữ tuổi sinh đẻ 18-35 tuổi, 2012 ($31.2\mu g/L$) và kết quả điều tra tại 6 tỉnh trên toàn quốc, 2009 ($28.8\mu g/L$) [4]. Có thể là do vùng nghiên cứu 6 tỉnh năm 2009 cũng như vùng nghiên cứu của Trương Hồng Sơn (ở Lai Châu và KonTum) là những vùng đặc biệt khó khăn trong cả nước, vẫn còn khá phổ biến tình trạng thiếu ăn, chất lượng bữa ăn còn kém. Tỷ lệ thiếu sắt dự trữ và nồng độ ferritin dự trữ sắt cạn kiệt trong nghiên cứu

này là 28.7% thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp Anh, 2015 (37.9%), nhưng cao hơn so với kết quả của Trương Hồng Sơn, 2012 (23.8%) và kết quả tổng điều tra trên toàn quốc, 2014-2015 do viện Dinh dưỡng tiến hành (23,6%) (Hình 3.3) [4, 7].

4.4. Tình trạng thiếu máu thiếu sắt của ĐTNC:

Nồng độ Hb trung bình của nhóm phụ nữ bị thiếu máu trung bình dự trữ sắt cạn kiệt là 92.47 ± 6.0 g/L (9.94%), nhóm thiếu máu nhẹ dự trữ sắt cạn kiệt là 2.47%. (104.94 ± 2.9). Đồng thời nhóm thiếu máu thiếu dự trữ sắt huyết thanh là 0.11% (92.80 ± 5.8), thiếu máu nhẹ thiếu dự trữ sắt huyết thanh là 2.1% (105.94 ± 2.8). Vậy tỷ lệ bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt trong nghiên cứu là 233 (5.43%) và bệnh nhân có thiếu máu nhưng dự trữ sắt bình thường là 330 (7.69%). Kết quả nghiên cứu của số bệnh nhân thiếu máu và thiếu máu thiếu sắt thấp hơn so (13.13%, 5.43%) với nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệp Anh, 2015 (20.7%, 9.2%)[4]. Nghiên cứu đã chỉ ra mối tương quan cao giữa Hb và Hct tuy nhiên không có mối tương quan có ý nghĩa giữa Hb và Hct với Ferritin như kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thị Diệp Anh ($r = 0,128$ $p = 0,011$), kết quả khác biệt này có thể do đặc điểm ĐTNC và địa dư khác nhau, thời gian của hai nghiên cứu (Bảng 3.7) [4].

Như vậy, tỷ lệ phụ nữ mang thai bị thiếu máu thiếu sắt tuy không cao như một số báo cáo trước nhưng bác sĩ lâm sàng cũng như bệnh nhân có thể dễ chủ quan và bỏ qua vì chưa có biểu hiện lâm sàng giai đoạn này. Do vậy, việc bổ sung sắt cho nhóm đối tượng này là rất cần thiết, vì những phụ nữ này khi có thai, nhu cầu tăng thêm 29mg sắt mỗi ngày sẽ làm tăng nguy cơ bị thiếu máu.

V. KẾT LUẬN

- 4296 phụ nữ đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện phụ sản Hải phòng trong thời gian từ 1-6/2020, tuổi trung bình của ĐTNC: 28.34 ± 4.93 , chiều cao trung bình: 157.51 ± 4.66 cm, cân nặng trung bình: 56.06 ± 8.391 kg, BMI trung bình: 22.63 ± 3.09 .

- Giá trị trung bình của Hb là: 120.98 ± 0.16 (g/L), giá trị trung bình của Hct là: 35.12 ± 0.04 (%) và giá trị trung vị của Ferritin: 54.87 (μ g/L).

- Bệnh nhân thiếu máu thiếu sắt là 233 (5.43%), trong đó bệnh nhân 0.75% là thiếu máu trung bình dự trữ sắt cạn kiệt ($n=32$, 92.47 ± 6.0), 2.47%, thiếu máu nhẹ dự trữ sắt cạn kiệt ($n=106$, 104.94 ± 2.9) và 0.11% thiếu máu trung bình thiếu dự trữ sắt huyết thanh ($n=5$, 92.80 ± 5.8), 2.1% thiếu máu nhẹ thiếu dự trữ sắt huyết thanh ($n=90$, 105.94 ± 2.8).

- Có mối tương quan cao có ý nghĩa giữa Hb và Hct ($r = 0.957$ $p < 0.001$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lynch S R (2005)**, The impact of iron fortification on nutritional anaemia. Best Pract Res Clin Haematol, 18 (2): p. 46-333.
2. **WHO Library Cataloguing-in-Publication Data (2008)**, "Worldwide prevalence of anaemia 1993-2005: WHO Global Database on Anaemia", Edited by Bruno de Benoist, Erin McLean, Ines Egli and Mary Cogswell.
3. **WHO/CDC (2007)**, "Assessing the iron status of populations. In: Report of a joint World Health Organization/Centers for Disease Control and Prevention technical consultation on the assessment of iron status at the population level, 2nd ed. "Geneva, World Health Organization and Centers for Disease Control and Prevention, , pp. 1-30.

4. Nguyễn Thị Diệp Anh (2015), "Nghiên cứu một số chỉ số hóa sinh liên quan đến tình trạng dinh dưỡng sắt, Vit.A ở phụ nữ mang thai được bổ sung thực phẩm", Luận án tiến sĩ y học.
5. Đinh Thị Phương Hoa (2013), "Tình trạng dinh dưỡng, thiếu máu và hiệu quả bổ sung sắt hàng tuần ở phụ nữ 20-35 tuổi tại huyện Lục Nam tỉnh Bắc Giang", Luận án tiến sĩ y học.
6. Thái Dương Hồng, Phạm Mai Hương and và Vũ Bích Văn (2008), "Bước đầu đánh giá tình trạng thiếu máu trong nhân dân xã Linh Sơn - Đồng Hỷ - Thái Nguyên", Kỷ yếu các công trình nghiên cứu khoa học- Chuyên ngành huyết học truyền máu năm 2008, Tập 344(Số 2/2008), pp. tr. 388-393.
7. Trương Hồng Sơn (2012), Hiệu quả can thiệp cộng đồng bằng bổ sung sớm đa vi chất dinh dưỡng trên phụ nữ tại một số xã thuộc tỉnh Kom Tum và Lai Châu. Luận án Tiến sĩ Dinh dưỡng – Viện Dinh dưỡng.

SO SÁNH NỒNG ĐỘ LDL-C ĐO BẰNG PHƯƠNG PHÁP ĐO TRỰC TIẾP VỚI PHƯƠNG PHÁP ƯỚC LƯỢNG SỬ DỤNG CÔNG THỨC FRIEDEWARD TẠI KHOA XÉT NGHIỆM ĐA KHOA BỆNH VIỆN VIỆT TIỆP

Phạm Minh Khánh¹, Phạm Thị Thu Trang^{1,2},
Hoàng Thị Thanh Loan², Hoàng Văn Tiệp²,
Nguyễn Văn Hùng², Vũ Thị Trang Linh¹,
Nguyễn Anh Ngọc¹, Đặng Thị Hồng¹, Đỗ Ngọc Hải^{1,2}

TÓM TẮT

Có hai phương pháp xác định nồng độ Low-Density Lipoprotein cholesterol (LDL-C): ước lượng nồng độ LDL-C theo công thức Friedewald và phương pháp đo nồng độ LDL-C trực tiếp.

Mục tiêu: So sánh giá trị nồng độ LDL-C đo bằng phương pháp đo trực tiếp với phương pháp ước lượng sử dụng công thức Friedewald.

Đối tượng và phương pháp: nghiên cứu mô tả cắt ngang trên những bệnh nhân đến khám và

điều trị, có chỉ định làm các xét nghiệm bộ mỡ máu tại Khoa khám bệnh Đa khoa, bệnh viện Hữu Nghị Việt Tiệp tháng 12/2019.

Kết quả: Nồng độ LDL-C đo trực tiếp và tính toán bằng công thức Friedewald có sự tương quan mạnh ($r = 0.786$, $p < 0.01$). So với phương pháp đo trực tiếp, LDL-C nội suy thấp hơn khoảng 0.72 mmol/L, chênh lệch này tăng dần theo nồng độ Triglyceride (TG), đạt 0.48 mmol/L ở nhóm TG thấp (dưới 4.5 mmol/L) và 0.89 mmol/L ở nhóm TG cao (trên 4.5 mmol/L); toàn bộ có ý nghĩa thống kê với $p < 0.01$.

Kết luận: LDL-C nội suy thấp hơn hơn so với phương pháp đo trực tiếp (0.72 mmol/L), hai phương pháp có sự tương quan mạnh ($r = 0.786$, $p < 0.01$). Nên đo nồng độ LDL-C bằng phương pháp trực tiếp nếu có thể, tránh việc ảnh hưởng đến chẩn đoán lâm sàng của bệnh nhân.

¹Trường Đại học Y Dược Hải Phòng,

²Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Ngọc Hải
Email: dongochai@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 27.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

SUMMARY**COMPARISON OF LDL-C LEVELS DIRECTLY-MEASURED VERSUS FRIEDEWALD-ESTIMATED AT VIETTIEP HOSPITAL**

There are two methods which determine the concentration of Low-Density Lipoprotein cholesterol (LDL-C): Friedewald formula and measured directly method.

Purposes: Comparing Low-Density Lipoprotein cholesterol (LDL-C) levels measured directly versus calculated using Friedewald formula.

Subjects and Methods: A retrospective descriptive study was conducted using retrospective data from patients having total lipid profile diagnostic test at Viet Tiep Hospital in 12/2019. LDL-C trực tiếp huyết thanh/ huyết tương được loại bỏ cholesterol gắn với các lipoprotein khác LDL và đo trên máy ADVIA 1800

Results: LDL-C acquired by direct measurement and calculated by Friedewald formula was highly correlated ($r = 0.786$, $p < 0.01$). Compared with Friedewald LDL-C, direct LDL-C was higher by 0.72 mmol/L, this disparity increased along with Triglyceride level, being at 0.48 mmol/L among low Triglyceride group (under 4.5 mmol/L) and 0.89 mmol/L among high Triglyceride group (over 4.5 mmol/L); all $p < 0.01$.

Conclusion: Recommendation to use direct LDL-C measurement whenever possible to avoid hindering clinical diagnosis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay có hai phương pháp xác định nồng độ Low - Density Lipoprotein cholesterol (LDL-C): ước lượng nồng độ LDL-C theo công thức và phương pháp đo nồng độ LDL-C trực tiếp.

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu đã chỉ ra công thức Friedewald có một số hạn chế: nồng độ LDL-C đã thấp hơn thực tế ở những bệnh nhân có mức TG cao [1] và cao hơn thực tế ở những bệnh nhân có mức TG thấp [2]. Kết quả LDL-C tính toán cũng bị ảnh hưởng với những mẫu bệnh phẩm chứa nhiều chylomicron và bệnh phẩm của bệnh nhân mắc rối loạn chuyển hóa lipid máu [3]. Công thức này đã được báo cáo không nên dùng cho một số nhóm bệnh nhân, điển hình như bệnh nhân đái tháo đường, bệnh nhân bệnh lý gan hoặc thận kể cả khi nồng độ Triglycerid dưới 400 mg/dL [4].

Số lượng nghiên cứu đánh giá vai trò của hai phương pháp xác định nồng độ LDL-C còn hạn chế tại Hải Phòng, vì vậy đề tài thực hiện với mục tiêu:

So sánh giá trị nồng độ LDL-C trên tất cả bệnh nhân đến khám tại Khoa Khám bệnh Đa khoa của Bệnh viện Việt Tiệp bằng phương pháp đo trực tiếp với phương pháp ước lượng sử dụng công thức Friedewald.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Những bệnh nhân đến khám và điều trị, có chỉ định làm các xét nghiệm bộ mỡ máu (Cholesterol TP, TG High density lipoprotein (HDL-C), LDL-C) tại Khoa khám bệnh Đa khoa Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp tháng 12/2019.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp, Hải Phòng tháng 12/2019.

2.3. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang có sử dụng dữ liệu hồi cứu.

2.4. Cơ mẫu: Chọn toàn bộ bệnh án đủ tiêu chuẩn nghiên cứu trong thời gian trên.

2.5. Căn cứ nghiên cứu:

- Công thức tính LDL-C từ cholesterol toàn phần (TC), HDL-C và triglycerid:

$LDL-C = TC - HDL-C - TG / 2.2$ (mmol/L) [5]

- Phương pháp đo LDL-C trực tiếp trong huyết thanh/ huyết tương thông qua việc loại bỏ cholesterol gắn với các lipoprotein khác LDL và đo nồng độ LDL-C bằng máy ADVIA 1800.

2.6. Phân tích số liệu: Số liệu được phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.7. Đạo đức nghiên cứu: Mọi thông tin đều giữ bí mật cho mục đích nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu (ĐTNC)

Bảng 3.1. Đặc điểm chung ĐTNC

N=119	(n, %)
Nam	55 (46.2%)
Nữ	64 (46.2%)
Tuổi trung bình	62.1 ± 11.5

Nhận xét: tuổi trung bình của 119 ĐTNC: 62.1 ± 11.5, trong đó bệnh nhân 46.2% là nam (n=55), 53.8% là nữ (n=64).

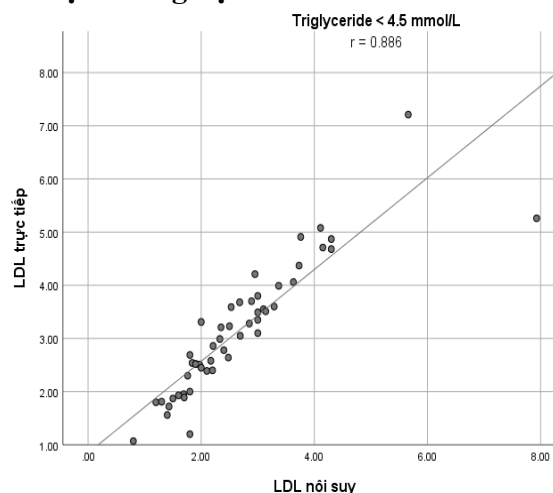
Bảng 3.2. Đặc điểm nồng độ Triglycerid (TG)

TG > 4.5 mmol/L	68 (57.1%)
Mean ± SD	4.1 ± 2.57

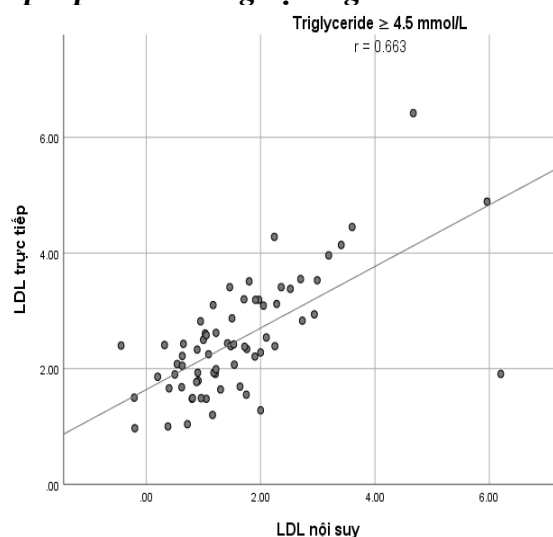
Nhận xét: Nồng độ TG trung bình: 4.1 ± 2.57, 68 ĐTNC có nồng độ TG >4.5 mmol/L (57.1%)

3.2. Kết quả so sánh công thức Friedewald và phương pháp đo trực tiếp

xác định nồng độ LDL-C



Biểu đồ 3.2. Sự tương quan giữa 2 phương pháp đo khi nồng độ Trig < 4.5 mmol/L



Biểu đồ 3.3. Sự tương quan giữa 2 phương pháp đo khi nồng độ TG > 4.5 mmol/L

Nhận xét: nhóm ĐTNC có nồng độ TG <4.5 (mmol/L), có sự tương quan mạnh giữa kết quả LDL đo trực tiếp và LDL nội suy ($r = 0.886$). Sự tương quan này giảm xuống khi nồng độ TG tăng lên (>4.5 mmol/L) ($r = 0.663$).

Bảng 3.3. So sánh giữa hai kết quả đo ở nhóm Trig < 4.5 mmol/L

TG(mmol/L)	n,%	LDL-C trực tiếp (mmol/L) Mean $\pm$ SD	LDL-C nội suy (mmol/L) Mean $\pm$ SD	Chênh lệch tuyệt đối	P [95% CI]
<1.5	17 (33)	2.82 $\pm$ 1.06	2.44 $\pm$ 0.97	0.38 $\pm$ 0.15	<0.01 [0.32 – 0.64]
1.5 - <3	25 (49)	3.22 $\pm$ 1.28	2.67 $\pm$ 1.02	0.55 $\pm$ 0.4	
3 - <4.5	9 (18)	3.47 $\pm$ 1.13	2.99 $\pm$ 2	0.48 $\pm$ 1.22	
Tổng	51 (100)	3.13 $\pm$ 1.19	2.65 $\pm$ 1.22	0.48 $\pm$ 0.56	

(Sử dụng Paired T-test)

Nhận xét: so sánh LDL nội suy và LDL đo trực tiếp ở nhóm TG thấp (dưới 4.5 mmol/L), chênh lệch tuyệt đối của hai phương pháp này là 0.48 $\pm$ 0.56mmol/L. Nồng độ LDL-C nội suy (2.65 $\pm$ 1.22 mmol/L) thấp hơn phương pháp đo trực tiếp (3.13 $\pm$ 1.19 mmol/L). Chênh lệch tuyệt đối tăng khi nồng độ TG tăng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0.01).

Bảng 3.4. So sánh kết quả đo ở nhóm TG > 4.5 mmol/L

TG(mmol/L)	(n,%)	LDL-C trực tiếp (mmol/L) Mean $\pm$ SD	LDL-C nội suy (mmol/L) Mean $\pm$ SD	Chênh lệch tuyệt đối	p [95% CI]
≤ 4.5 - <5.5	23 (34)	2.65 $\pm$ 1.2	1.88 $\pm$ 1.05	0.78 $\pm$ 0.5	<0.01 [0.67 – 1.11]
5.5 - ≤ 6.5	19 (28)	2.41 $\pm$ 0.76	1.74 $\pm$ 1.34	0.66 $\pm$ 1.3	
≥ 6.5	26 (38)	2.41 $\pm$ 0.93	1.25 $\pm$ 1.24	1.16 $\pm$ 0.88	
Tổng	68 (100)	2.49 $\pm$ 0.98	1.6 $\pm$ 1.22	0.89 $\pm$ 0.93	

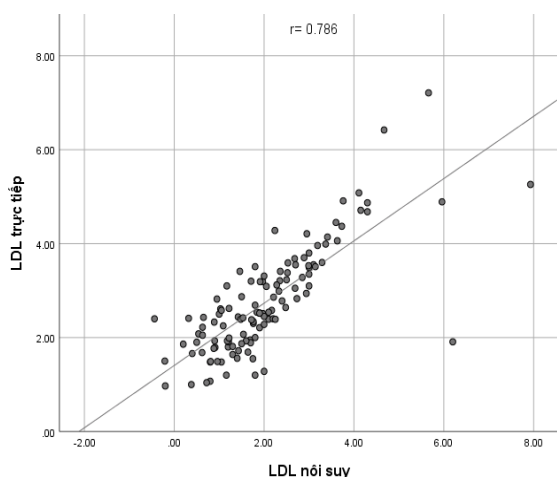
(Sử dụng Paired T-test)

Nhận xét: LDL-C nội suy thấp hơn giá trị đo trực tiếp, với chênh lệch tuyệt đối là 0.89 $\pm$ 0.93 (mmol/L). Sự chênh lệch thể hiện lớn nhất khi TG > 6.5 mmol/L (1.16 $\pm$ 0.88 mmol/L). Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (p<0.01).

Bảng 3.5. Chênh lệch giữa hai kết quả đo trên toàn bộ ĐTNC

TG (mmol/L)	n	LDL-C trực tiếp (mmol/L) Mean $\pm$ SD	LDL-C nội suy (mmol/L) Mean $\pm$ SD	Chênh lệch tuyệt đối	P [95% CI]
<1.5	17	2.82 $\pm$ 1.06	2.44 $\pm$ 0.97	0.38 $\pm$ 0.15	<0.01 [0.57 – 0.86]
1.5 - <3	25	3.22 $\pm$ 1.28	2.67 $\pm$ 1.02	0.55 $\pm$ 0.4	
3 - <4.5	9	3.47 $\pm$ 1.13	2.99 $\pm$ 2	0.48 $\pm$ 1.22	
≤ 4.5 - <5.5	23	2.65 $\pm$ 1.2	1.88 $\pm$ 1.05	0.78 $\pm$ 0.5	
5.5 - ≤ 6.5	19	2.41 $\pm$ 0.76	1.74 $\pm$ 1.34	0.66 $\pm$ 1.3	
≥ 6.5	26	2.41 $\pm$ 0.93	1.25 $\pm$ 1.24	1.16 $\pm$ 0.88	
Tổng	119	2.77 $\pm$ 1.12	2.05 $\pm$ 1.32	0.72 $\pm$ 0.82	

(Sử dụng Paired T-test)



Biểu đồ 3.4. Sự tương quan giữa hai kết quả đo LDL-C trên toàn bộ ĐTNC.

Nhận xét: kết quả đo LDL-C trực tiếp và LDL-C nội suy có chênh lệch tuyệt đối là 0.72 ± 0.82 (mmol/L). Sự chênh lệch tăng dần theo nồng độ TG, cao nhất ở nhóm TG > 6.5 mmol/L, có tương quan khá mạnh ($r = 0.786$). Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0.01$), tương đồng với kết quả nghiên cứu của Lindsey và cộng sự [6].

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu là so sánh giá trị nồng độ LDL-C bằng phương pháp đo trực tiếp với phương pháp sử dụng công thức Friedewald trên 119 mẫu máu.

Độ tuổi trung bình là 62.08 ± 11.45 , 55 ĐTNC là nam (47%), 62 ĐTNC là nữ giới (53%).

Kết quả cho thấy mối tương quan khá mạnh giữa hai phương pháp đo được nghiên cứu, kết quả thu được bằng công thức Friedewald có xu hướng thấp hơn kết quả đo trực tiếp. Xu hướng này tăng lên theo nồng độ TG.

Nhóm Triglyceride thấp, có sự tương quan mạnh giữa kết quả hai phương pháp đo, tuy nhiên LDL nội suy vẫn thấp hơn 0.48 ± 0.56 mmol/L. Sự chênh lệch này tăng dần

theo nồng độ TG, lớn nhất ở nhóm TG cao hơn 6.5 mmol/L (1.16 ± 0.88). Kết quả của nghiên cứu này hoàn toàn tương đồng với Lindsey và cộng sự, 19343 mẫu huyết tương đã được phân tích và đo trực tiếp bằng máy Olympus AU640 theo phương pháp thử nghiệm đồng nhất (homogenous assay) [6]. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy LDL tính toán bằng công thức Friedewald thấp hơn đo trực tiếp 0.51 ± 0.31 mmol/L và hệ số tương quan mạnh ($r = 0.94$). Theo nghiên cứu được thực hiện bởi Mora S. và cộng sự, nồng độ LDL-C đo trực tiếp thấp hơn LDL-C nội suy từ 0.13 – 0.49 mmol/L [7]

V. KẾT LUẬN

Kết quả nồng độ LDL-C đo trực tiếp và tính toán bằng công thức Friedewald có sự tương quan mạnh ($r = 0.786$, $p < 0.01$). So với phương pháp đo trực tiếp, LDL-C nội suy thấp hơn khoảng 0.72 mmol/L, chênh lệch này tăng dần theo nồng độ Triglyceride, đạt 0.48 mmol/L ở nhóm Triglyceride thấp (dưới 4.5 mmol/L) và 0.89 mmol/L ở nhóm Triglyceride cao (trên 4.5 mmol/L); toàn bộ có ý nghĩa thống kê với $p < 0.01$.

KHUYẾN NGHỊ:

Nên đo nồng độ LDL-C bằng phương pháp trực tiếp nếu có thể, tránh việc ảnh hưởng đến chẩn đoán lâm sàng của bệnh nhân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anwar M, Khan DA, Khan FA. Comparison of Friedewald formula and modified Friedewald formula with direct homogeneous assay for low density lipoprotein cholesterol estimation. J Coll Physicians Surg Pak. 2014;24(1):8-12.
2. DeLong DM, DeLong ER, Wood PD,

- Lippel K, Rifkind BM.** A comparison of methods for the estimation of plasma low-and very low-density lipoprotein cholesterol: the Lipid Research Clinics Prevalence Study. *Jama*. 1986;256(17):2372-2377.
3. **McNamara JR, Cohn JS, Wilson PW, Schaefer EJ.** Calculated values for low-density lipoprotein cholesterol in the assessment of lipid abnormalities and coronary disease risk. *Clin Chem*. 1990;36(1):36-42.
4. **Rubiés-Prat J, Reverter JL, Sentí M, et al.** Calculated low-density lipoprotein cholesterol should not be used for management of lipoprotein abnormalities
5. **Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS.** Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499-502.
6. **Lindsey CC, Graham MR, Johnston TP, Kiroff CG, Freshley A.** A Clinical Comparison of Calculated versus Direct Measurement of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Level. *Pharmacother J Hum Pharmacol Drug Ther*. 2004;24(2):167-172.
7. **Mora S, Rifai N, Buring JE, Ridker PM.** Comparison of LDL Cholesterol Concentrations by Friedewald Calculation and Direct Measurement in Relation to Cardiovascular Events in 27331 Women. *Clin Chem*. 2009;55(5):888-894. doi:10.1373/clinchem.2008.117929

NGHIÊN CỨU CÔNG THỨC TÍNH LDL-CHOLESTEROL VÀ SO SÁNH GIÁ TRỊ CỦA NÓ VỚI GIÁ TRỊ CỦA CÁC CÔNG THỨC THƯỜNG ĐƯỢC SỬ DỤNG

Trịnh Thị Quế¹, Phan Thanh Nguyên¹, Hoàng Văn Thanh¹,
Lê Văn Trường², Nguyễn Văn Thế²,
Bùi Văn Thường¹, Phạm Thiện Ngọc³

TÓM TẮT

LDL-C là một chỉ số xét nghiệm quan trọng trong việc đánh giá nguy cơ tim mạch và là mục tiêu chính trong việc theo dõi điều trị các bệnh lý

tim mạch. **Mục tiêu:** đánh giá mối tương quan giữa kết quả LDL-C trực tiếp với 4 công thức của Cordova, Friedewald, Chen và Vujovic thường được sử dụng trên thế giới, từ đó có thể đưa ra công thức tính tối ưu cho xét nghiệm LDL-C. **Đối tượng & phương pháp:** 1002 mẫu máu làm xét nghiệm lipid máu ở người đến khám bệnh tại bệnh viện đa khoa MEDLATEC, phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang. Kết quả: sự tương quan giữa kết quả LDL-C trực tiếp với các công thức của Cordova, Friedewald, Chen và Vujovic lần lượt là $r = 0,68; 0,88; 0,80; 0,84$ trong đó công thức của Friedewald được

¹Bệnh viện đa khoa MEDLATEC

²Bệnh viện Y học cổ truyền bộ công an

³Trường đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trịnh Thị Quế

Email: que.trinhthi@medlatec.com

Ngày nhận bài: 20.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 25.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

đánh giá là hiệu quả nhất trong 4 công thức tính. Công thức được rút ra từ nghiên cứu là LDL gián tiếp = $0,89 \times \text{Cholesterol} - 0,30 \times \text{Triglycerid} - 0,51 \times \text{HDL-C} + 0,09$. **Kết luận:** công thức mới được tính toán có độ nhạy độ đặc hiệu, độ chính xác cân bằng và F1 score cao, có thể được đưa vào sử dụng trong lâm sàng tuy nhiên cần cỡ mẫu lớn hơn để thẩm định lại phương pháp, công thức của Friedewald nên được sử dụng vì có giá trị cao nhất trong ngưỡng chẩn đoán lâm sàng.

SUMMARY

STUDY ON THE FORMULA FOR LDL-CHOLESTEROL CALCULATION AND COMPARE ITS VALUE WITH THAT OF THE COMMONLY USED FORMULAS

LDL-C is an important indicator in the evaluation of cardiovascular risk and a primary target in the management of cardiovascular diseases. Objective: Evaluating the correlation between direct LDL-C results with 4 commonly used formulas: Cordova, Friedewald, Chen and Vujovic, from which to give the optimal formula for LDL-C test. Subjects: 1002 blood samples of patients who had lipid profile test at MEDLATEC General Hospital. Methods: descriptive cross sectional study. Results: the correlation between direct LDL-C results with the formulas of Cordova, Friedewald, Chen and Vujovic are $r = 0.68; 0.88; 0.80; 0.84$ in which Friedewald's formula is considered to be the most effective among the 4 formulas. The formula drawn from the study is indirect LDL = $0.89 \times \text{Cholesterol} - 0.30 \times \text{Triglycerid} - 0.51 \times \text{HDL-C} + 0.09$. Conclusion: the newly calculated formula has high specificity and sensitivity, equal accuracy and high F1 score, which can be used for clinical purpose, however, a larger sample size is required to validate the method. Friedewald's formula should be used

because it has the highest value within the clinical diagnostic range.

Từ khóa: LDL-C, Cholesterol, lipid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Low-density lipoprotein (LDL) là một trong bốn thành phần Lipid thường được sử dụng để theo dõi nồng độ lipid máu gồm: Cholesterol, Triglycerid, HDL-C và LDL-C. LDL-C mang cholesterol từ gan, qua máu, đến các mô của cơ thể, nơi nó được lưu trữ [1]. Nồng độ cholesterol LDL (LDL-C) trong huyết thanh cao có liên quan đến tỷ lệ mắc bệnh mạch vành và bệnh mạch vành (CHD) là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trên toàn thế giới [2]. Tổ chức NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III) đã khuyến cáo sử dụng LDL-C là thông số chính để đánh giá nguy cơ tim mạch và là mục tiêu điều trị chính [3]. Do đó, việc đo lường chính xác LDL-C là rất quan trọng để phòng ngừa và quản lý các bệnh tim mạch (CVD).

Tiêu chuẩn vàng để đo LDL-C là phương pháp siêu ly tâm và tủa polyanion [4]. Phương pháp này tốn kém và không thuận tiện cho phòng thí nghiệm thông thường, vì vậy nó chỉ giới hạn trong các phòng thí nghiệm phân tích lipid chuyên biệt. Việc đo trực tiếp LDL-C bằng xét nghiệm hóa sinh vẫn còn đắt đối với phòng xét nghiệm ở các nước đang phát triển như chúng ta. Ngoài ra, phương pháp đo trực tiếp cho thấy kém hiệu quả với mức nồng độ TG cao bởi việc ảnh hưởng của chính nồng độ lipid lên phương pháp đo. Để giải quyết những vấn đề này, nhiều công thức khác nhau để tính LDL-C đã được phát triển. Trong số này, công thức của Friedewald cho thấy hiệu suất tốt hơn, vì vậy nó đã được các phòng thí nghiệm trên toàn thế giới sử dụng rộng rãi [5]. Công thức này

được tính từ HDL-C, cholesterol toàn phần (TC) và TG, với công thức LDL-C (mg/dl) = TC – HDL- (TG/5) và LDL-C (mmol /L)= TC– HDL- (TG/2,2) [5]. Tuy nhiên, công thức này có độ chính xác thấp đối với các trường hợp nồng độ TG cao do sự hiện diện của chylomicrons, sự hiện diện của rối loạn phân tử lipid (tăng lipid máu loại III) hoặc ở những bệnh nhân mắc các bệnh kèm theo bao gồm suy thận, tiểu đường và bệnh gan. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu công thức tính LDL-C từ các kết quả LDL-C được đo trực tiếp trên hệ thống tự động của Abbott và so sánh với một số công thức tính thường được sử dụng trên thế giới với các mục tiêu sau.

1. So sánh tương đồng giữa kết quả phân tích trực tiếp và 4 công thức của Cordova, Friedewald, Chen và Vujovic thường được sử dụng.

2. Xây dựng một công thức phù hợp để áp dụng cho các phòng Lab không có điều kiện chạy trực tiếp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Đánh giá chỉ số trung bình của các chỉ số lipid

Từ 1002 số liệu nghiên cứu chúng tôi phân tích các chỉ số trung bình như sau:

Bảng 1. Đánh giá trung bình các chỉ số xét nghiệm lipid máu

Chỉ số	Giá trị	Mean ± SD (mmol/L)	p	Minimum	Maximum	Phân vị		
						25%	50%	75%
Triglycerid		3,35 ± 2,39		0,47	17,67	1,95	2,71	4,19
Cholesterol		5,23 ± 1,08		2,16	10,00	4,53	5,07	6,00
HDL- Cholesterol		1,12 ± 0,29		0,27	2,43	1,00	1,00	1,23
LDL trực tiếp		3,17 ± 1,01		0,14	8,14	2,51	3,10	3,80
LDL_Cordova		3,08 ± 0,80	0,000	1,08	6,50	2,56	3,03	3,56
LDL_Friedewald		3,44 ± 0,93	0,000	1,11	7,71	2,81	3,43	3,99
LDL_Chen		3,37 ± 0,87	0,001	1,20	7,25	2,79	3,35	3,88
LDL_Vujovic		3,60 ± 0,94	0,000	1,30	7,90	2,96	3,58	4,17

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng và địa điểm nghiên cứu

Gồm 1002 mẫu máu được thu thập từ bệnh nhân và người khám sức khỏe đến khám bệnh tại Bệnh viện Đa khoa MEDLATEC từ tháng 1.2019 đến tháng 9.2020.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

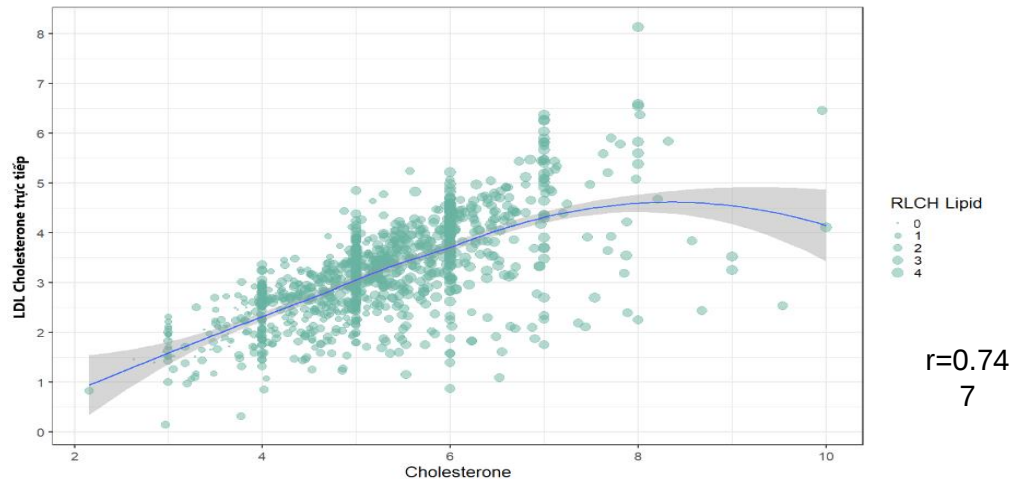
- Phương pháp mô tả cắt ngang. Các đối tượng đến khám bệnh tại bệnh viện đa khoa MEDLATEC đồng ý tham gia nghiên cứu được thu thập các mẫu máu để làm xét nghiệm bộ mỡ máu gồm 4 thông số: Triglycerid, Cholesterol, HDL-C và LDL-C.

- Phương pháp phân tích: các mẫu máu sau khi được thu thập được phân tích trên máy hóa sinh tự động Achitech của Abbott.

- Phân tích số liệu: các số liệu được phân tích trên phần mềm SPSS 20.0 để tính các chỉ số như Mean, SD, độ tin cậy p, chỉ số tương quan r.

Bảng 1 cho thấy giá trị trung bình của LDL-C là 3,17 mmol/L với khoảng 50% giá trị nằm trong khoảng từ 2,51 – 3,80 mmol/L. So sánh với giá trị LDL được ước tính gián tiếp từ công thức Cordova có giá trị trung bình thấp hơn là 3,08 và khoảng 50% giá trị nằm trong khoảng 2,56 đến 3,56 mmol/L. Trong khi đó giá trị LDL được ước tính bằng công thức Chen, Friedewald và Vujovic có giá trị trung bình cao hơn nhóm ước tính trực tiếp với giá trị cụ thể 3,37 mmol/L, 3,44 mmol/L và 3,60 mmol/L tương ứng với $p \leq 0,001$.

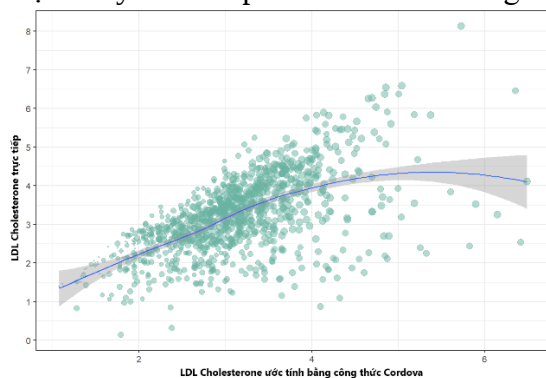
3.2 Phân tích tương quan giữa Cholesterol với LDL trực tiếp



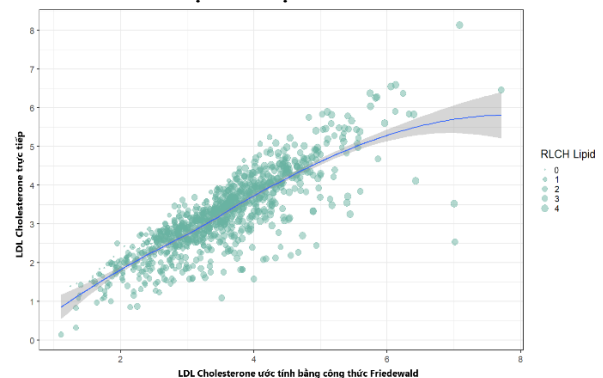
Biểu đồ 1: Mối liên quan giữa Cholesterol toàn phần với LDL-C trực tiếp

3.3 Phân tích tương quan giữa LDL-C tính gián tiếp với LDL-C trực tiếp

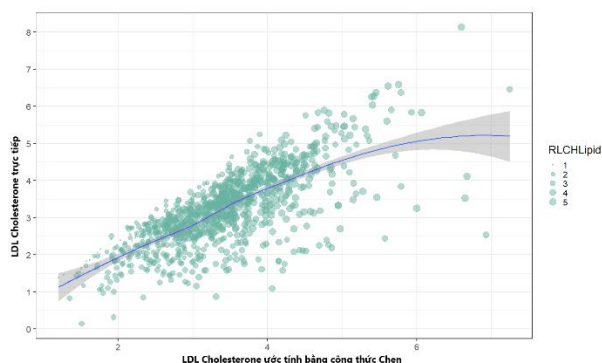
Từ hướng dẫn của Bộ Y tế về chẩn đoán rối loạn Lipid máu, chúng tôi phân loại cho ra 5 mức độ rối loạn chuyển hóa lipid với mức 0 là không có chỉ số nào rối loạn, và tình trạng rối loạn chuyển hóa lipid có các mức tương ứng từ 1 đến 4 chỉ số bị rối loạn.



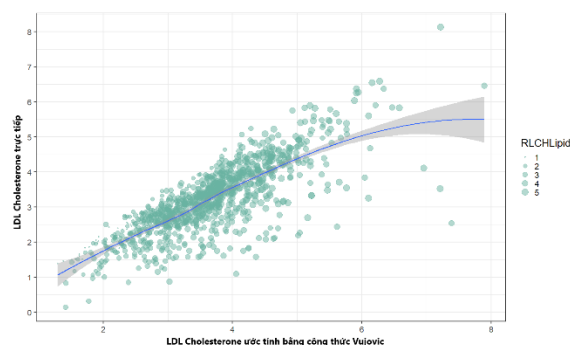
Biểu đồ 2: Mối liên quan giữa LDL-C trực tiếp với công thức Cordova



Biểu đồ 3: Mối liên quan giữa LDL-C trực tiếp với công thức Friedewald



Biểu đồ 4: Mối liên quan giữa LDL-C trực tiếp với công thức Chen



Biểu đồ 5: Mối liên quan giữa LDL-C trực tiếp với công thức Vujovic

Bảng 2: Giá trị hệ số tương quan tuyến tính giữa LDL-C trực tiếp với các công thức tính

Công thức	r
LDL-C trực tiếp	1
Công thức Cordova	0,68
Công thức Friedewald	0,88
Công thức Chen	0,80
Công thức Vujovic	0,84

Từ cả 4 biểu đồ cho thấy mức tương quan giữa LDL-C trực tiếp với các công thức gián tiếp có tương quan chặt chẽ chủ yếu trong khoảng nhỏ hơn 4 đối với công thức của Cordova và nhỏ hơn 5 đối với 3 công thức còn lại. Bảng 2 cho thấy hệ số tương quan của kết quả phân tích trực tiếp với các công thức tính dao động từ 0,68 đến 0,88.

3.4 Mô hình dự báo

Từ 1002 kết quả xét nghiệm triglycerid, Cholesterol, HDL-C và LDL-C chúng tôi xây dựng mô hình ước tính chỉ số LDL-C kết quả cho thấy:

Bảng 3. Mô hình dự báo chỉ số LDL-C

LDL-C trực tiếp				
Dự báo	Beta	95% CI	p	df
(Intercept)	0,09	-0,06 – 0,25	0,242	998
Triglycerid (mmol/l)	- 0,30	-0,31 – -0,29	<0,001	998
Cholesterol (mmol/l)	0,89	0,86 – 0,92	<0,001	998
HDL-C (mmol/l)	-0,51	-0,61 – -0,41	<0,001	998
n	1002			
R ²	0,828			

Từ đó ta có công thức tính:

LDL gián tiếp = 0.89*Cholesterol - 0.30*Triglycerid - 0.51*HDL-C + 0,09
(MEDLATEC, Predict). Mô hình này giải

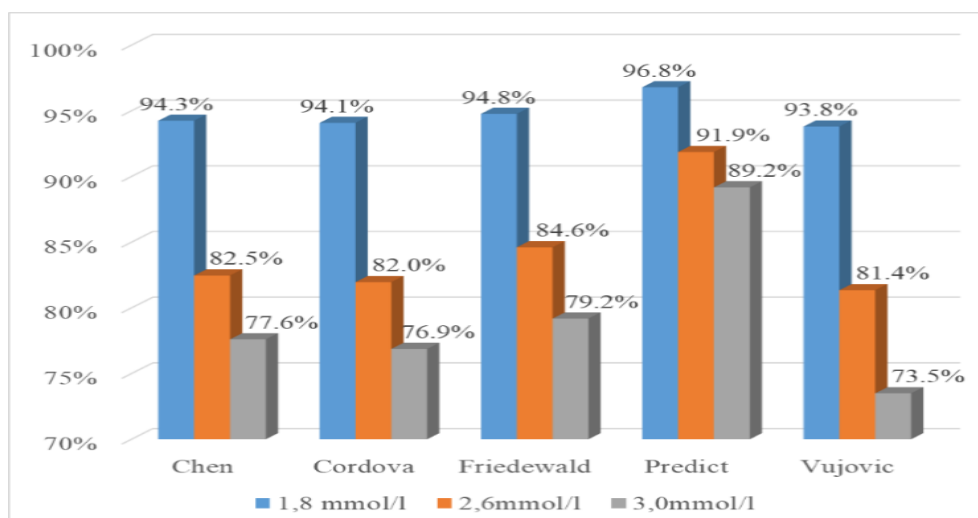
thích được 82,8% các dao động của giá trị LDL-C.

3.5 Đánh giá chất lượng của các giá trị dự báo

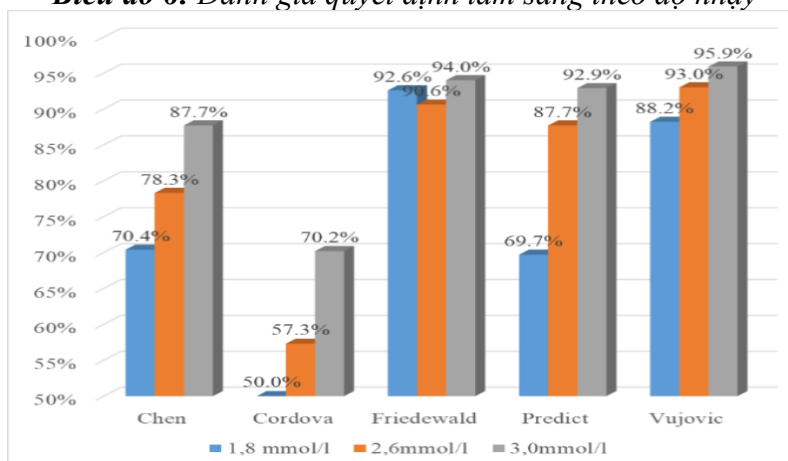
Theo khuyến cáo của ASC 2019 các ngưỡng của LDL-C thực sự đáng quan tâm là ngưỡng lớn hơn 1,8 mmol/L khuyến cáo về thay đổi chế độ dinh dưỡng và sử dụng thuốc khi cần thiết với nhóm có từ 5 yếu tố nguy cơ trở lên và nhóm nguy cơ cao và rất cao có chỉ định sử dụng thuốc. Giá trị LDL-C là 2,6 mmol/L và 3,0 mmol/L cũng là các ngưỡng giá trị quan trọng trong khuyến cáo chẩn

đoán và sử dụng thuốc điều trị rối loạn chuyển hóa lipid. Từ đó chúng tôi sử dụng 3 ngưỡng của LDL-C là 1,8mmol/L, 2,6 mmol/L và 3,0 mmol/L để đánh giá các ngưỡng quyết định lâm sàng sẽ thay đổi như thế nào nếu sử dụng công thức ước tính LDL-C.

3.5.1 Đánh giá ngưỡng lâm sàng theo độ nhạy và độ đặc hiệu



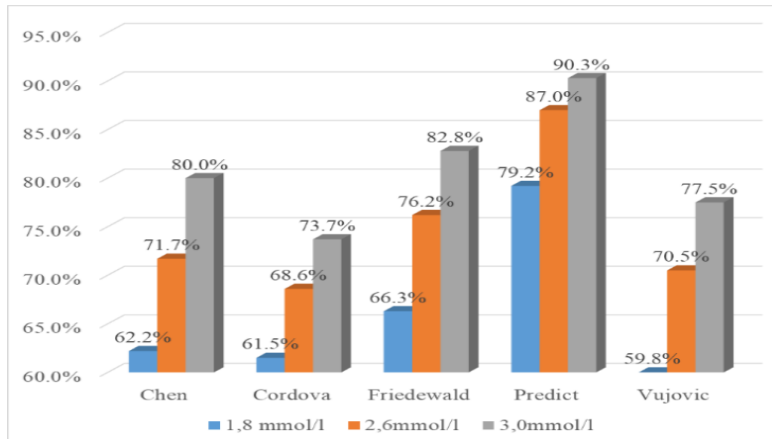
Biểu đồ 6: Đánh giá quyết định lâm sàng theo độ nhạy



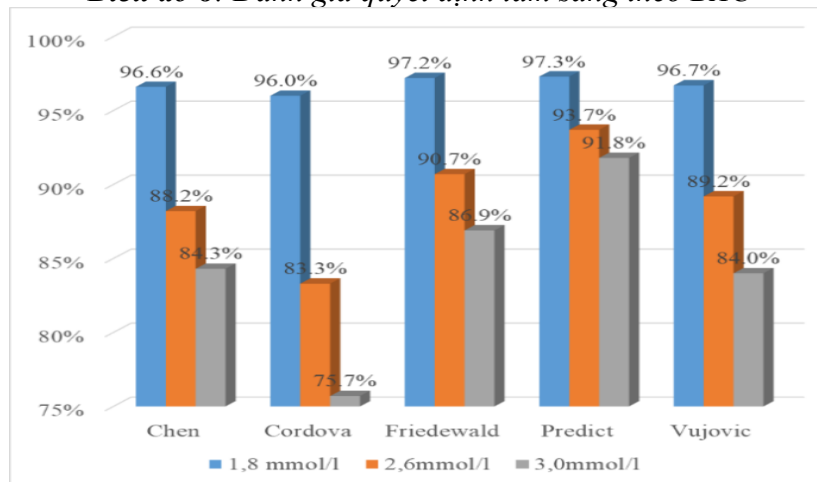
Biểu đồ 7: Đánh giá quyết định lâm sàng theo độ đặc hiệu

Từ 2 biểu đồ trên cho thấy công thức của chúng tôi có giá trị cao nhất về độ nhạy cho việc đánh giá quyết định lâm sàng và công thức của **Friedewald** cho giá trị cao nhất về độ đặc hiệu ở cả 3 ngưỡng cho việc quyết định lâm sàng.

3.5.2 Đánh giá ngưỡng lâm sàng theo BAC và F1 Score



Biểu đồ 8: Đánh giá quyết định lâm sàng theo BAC



Biểu đồ 9: Đánh giá quyết định lâm sàng theo F1 score

Biểu đồ 8 cho thấy giá trị dự báo bằng mô hình của chúng tôi (predict) cho chỉ số Balanced accuracy (BAC) đạt mức cao nhất ở cả 3 ngưỡng quyết định lâm sàng là 1,8 mmol/L, 2,6 mmol/L và 3,0 mmol/L. Biểu đồ 9 cho thấy giá trị dự báo bằng mô hình của chúng tôi cho chỉ số F1 score đạt mức cao nhất ở cả 3 ngưỡng quyết định lâm sàng.

IV. BÀN LUẬN

Lipid lưu hành trong máu ở dạng vận chuyển lipoprotein. Các có 5 dạng lipoprotein được phân chia theo trọng lượng phân tử và thành phần các lipid bao gồm: CM, VLDL, IDL, LDL, HDL. Trong đó

LDL-C là một yếu tố quan trọng nhất trong việc đánh giá nguy cơ tim mạch và việc quyết định điều trị bằng việc điều chỉnh chế độ ăn hay phải can thiệp bằng thuốc và theo dõi trong quá trình dùng thuốc. Việc đánh giá không chính xác có thể làm sai số trong việc phân loại điều trị và tiên lượng bệnh nhân [3]. Kết quả phân tích trực tiếp cũng có nhưng sai số nhất định. Các mẫu có nồng độ triglyceride >1,293 mg/dL (14,61 mmol/L) không nên sử dụng để định lượng LDL-C. Xét nghiệm LDL-C cũng có nguy cơ bị nhiễu bởi các chất như: ascorbic acid, bilirubin, gamma globulin, và hemoglobin (package insert Abbott). Vì vậy việc đo

lượng chính xác kết quả LDL-C rất có giá trị cho quyết định lâm sàng, ngoài ra việc thiết lập được công thức tính cũng có giá trị giảm chi phí và có thể khắc phục được tình trạng nhiều khi đo lường trực tiếp.

Kết quả phân tích từ bảng 1 cho thấy giá trị trung bình trong nhóm đối tượng nghiên cứu là có nồng độ trung bình LDL-C là $3,17 \pm 1,01$ mmol/L. Kết quả này có sự khác biệt đáng kể với nghiên cứu của Azam Karkhaneh [6] LDL-C là $2,53 \pm 0,63$ mmol/L ở quần thể người Iran. Theo tác giả Nishtha Wadhwa [7] nồng độ LDL-C trung bình là $3,11 \pm 1,05$ mmol/L tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi. Như vậy nồng độ lipid trung bình ở các quần thể người khác nhau có thể có kết quả không giống nhau, vì vậy cần có các ngưỡng quyết định lâm sàng khác nhau theo từng quốc gia.

Từ biểu đồ 1 cho thấy có sự tương quan giữa nồng độ Cholesterol và nồng độ LDL-C khá chặt, tuy nhiên ở mức Cholesterol >6 mmol/L thì việc đo lường trực tiếp có thể bị ảnh hưởng hoặc tỷ lệ thành phần trong phân tử LDL-C có thể không còn tương quan với nồng độ Cholesterol. Từ biểu đồ 2; 3; 4; 5 cho thấy cả 4 công thức tính toán LDL-C của Cordova, Friedewald, Chen và Vujovic đều có mối tương quan khá tốt với kết quả chạy trực tiếp với r từ 0,68 đến 0,88 tuy nhiên mối tương quan chỉ chặt chẽ khi nồng độ LDL-C $<4-4,5$ mmol/L. Với mức nồng độ LDL cao công thức tính có thể đưa lại một kết quả hữu ích hơn cho việc quyết định lâm sàng. Vì vậy chúng ta nên thiết lập công thức theo phân chia mức nồng độ của triglycerid và cholesterol.

Dựa theo 4 tiêu chí để đánh giá quyết định lâm sàng là sensitivity, specificity, BAC và F1 score chúng tôi thấy rằng mô hình chúng tôi tự xây dựng đem lại độ chính xác cao hơn

ở $\frac{3}{4}$ chỉ số đánh giá chất lượng mô hình. Trong đó có chỉ số sensitivity có giá trị đến quyết định lâm sàng có hay không điều trị. Chỉ số F1 score, BAC đánh giá mức độ cân bằng của mô hình đều cho thấy tính ưu việt của mô hình do chúng tôi xây dựng.

Tuy nhiên, hạn chế của mô hình này là cỡ mẫu chưa thực sự lớn (1002 đối tượng) và chưa có kiểm chứng lại trên nhóm độc lập khác. Từ nghiên cứu này, chúng tôi sẽ tiếp tục thực hiện những nghiên cứu lớn hơn để từ đó có thể đưa ra được công thức ước tính phù hợp nhất với người Việt Nam.

Nhằm mục đích đưa ra khuyến nghị cho công thức sử dụng trong thời điểm hiện tại, chúng tôi xét đến các công thức đã có sẵn, trong nhóm này chúng tôi thấy rằng công thức Friedewald thể hiện ưu việt nhất do có cả 4 chỉ số là sensitivity, specificity, BAC và F1 score đều đạt ở mức cao. Công thức Friedewald không những giúp hạn chế những trường hợp âm tính giả bị bỏ sót điều trị mà còn giúp loại bỏ những trường hợp dương tính giả bị điều trị khi chưa có chỉ định.

V. KẾT LUẬN

1. Công thức tính toán cho xét nghiệm LDL-C được tính từ nguồn mẫu phân tích LDL gián tiếp = $0.89 \times \text{Cholesterol} - 0.30 \times \text{Triglycerid} - 0.51 \times \text{HDL-C} + 0,09$ có thể được áp dụng với độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

2. Công thức của Friedewald được đánh giá tối ưu nhất trong 4 công thức đã sử dụng trước đó, vì vậy có thể sử dụng công thức của Friedewald trong khi thẩm định lại công thức mới được tính toán.

Khuyến nghị

Cần kiểm chứng lại công thức trên một nhóm độc lập khác trước khi đưa vào sử dụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Colpo A. LDL cholesterol: “bad” cholesterol or bad science? J Am Physicians Surg 2005; 10(3): 83.
2. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, et al. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. Ann Transl Med 2016; 4(13): 256.
3. Expert Panel on Detection E. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). JAMA 2001; 285(19): 2486.
4. Rifai N, Warnick GR, Dominiczak MH. Handbook of lipoprotein testing. Amer Assoc for Clinical Chemistry 2000.
5. Puavilai W, Laoragpongse D. Is calculated LDL-C by using the new modified Friedewald equation better than the standard Friedewald equation? J Med Assoc Thai 2004; 87(6): 589-593.
6. Azam Karkhaneh, Molood Bagherieh, Solmaz Sadeghi, et al. Evaluation of eight formulas for LDL-C estimation in Iranian subjects with different metabolic health statuses. Lipids in Health and Disease 2019; 231: 18.
7. Nishtha Wadhwa, Radhika Krishnaswamy (2016). Comparison of LDL-Cholesterol Estimate using Various Formulae with Directly Measured LDL-Cholesterol in Indian Population. Journal of Clinical and Diagnostic Research 2016; 10(12): 11-13.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ NEUTROPHIL GELATINASE ASSOCIATED LIPOCALIN (NGAL) NIỆU Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2

Hà Nguyễn Tường Vân*, Phan Thị Minh Phương*,
Trần Hữu An*, Lê Thị Thu Hà*, Nguyễn Phúc Duy Quang*

TÓM TẮT

Đái tháo đường gây ra nhiều biến chứng ở bệnh lý tim mạch, mắt, mạch máu, thần kinh nhưng bệnh thận do đái tháo đường là biến chứng thường gặp với tỷ lệ cao. **Đối tượng:** 75 bệnh nhân đái tháo đường type 2 được chẩn đoán và điều trị tại Bv TW Huế. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, **Mục tiêu:** Xác định

nồng độ NGAL niệu và khảo sát mối tương quan giữa nồng độ NGAL niệu với creatinin huyết thanh, mức lọc cầu thận. **Kết quả:** Nồng độ NGAL niệu của nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận cao hơn nhóm không có tổn thương thận, ($p < 0,01$). Nồng độ NGAL niệu trung bình ở bệnh nhân có thời gian phát hiện ĐTĐ từ 5 năm trở lên cao hơn ở bệnh nhân có thời gian phát hiện bệnh ĐTĐ dưới 5 năm, ($p < 0,05$). Có sự tương quan thuận mức độ vừa giữa nồng độ NGAL niệu với nồng độ creatinin huyết thanh ($r = 0,401$; $p = 0,010$) và tương quan nghịch mức độ vừa với mức lọc cầu thận (MLCT) ($r = -0,419$; $p = 0,007$) ở nhóm bệnh

*Bệnh viện Trung ương Huế

Chịu trách nhiệm chính: Lê Thị Thu Hà
Email: thuha91964@gmail.com

Ngày nhận bài: 20.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 26.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận. Nồng độ NGAL niệu có sự tương quan nghịch mức độ vừa với MLCT ($r = -0,419$; $p = 0,007$) ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận. **Kết luận:** Nồng độ NGAL niệu trung bình của nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận cao hơn nhóm không có tổn thương thận có ý nghĩa thống kê. Có sự tương quan thuận mức độ vừa giữa nồng độ NGAL niệu với nồng độ creatinin huyết thanh và tương quan nghịch mức độ vừa với mức lọc cầu thận.

SUMMARY

RESEARCH ON URINARY NEUTROPHIL GELATINASE- ASSOCIATED LIPOCALIN CONCENTRATION (NGAL) IN TYPE 2 DIABETIC

Diabetes mellitus causes many complications in cardiovascular, ocular, vascular, neurological diseases, but diabetic nephropathy is a common complication with high rates. **Subjects:** 75 patients with type 2 diabetic patients were diagnosed and treated at Hue Central Hospital. **Methods:** A cross-sectional descriptive study. **Objects:** To determine urinary NGAL concentrations and to investigate correlations between urinary NGAL concentrations and serum creatinin, glomerular filtration level. **Results:** The concentration of the uNGAL was a higher in the type 2 diabetic with renal injury than the group without renal injury, ($p < 0.01$). The average concentration of the uNGAL in patients with period of detection diabetic over five years was higher than in patients with a period of detection of disease less than five years, ($p < 0.05$). There is correlation proportional to medium level between the uNGAL concentrations and the concentration of serum creatinin ($r = 0.401$; $p = 0.010$) and correlation contrast level with a kidney filter level (MLCT) ($r = -0.419$; $p = 0.007$) in the type 2 patients group who had renal injury. The

concentrations of the urinary NGAL have a moderate correlation with MLCT ($r = -0.419$; $p = 0.007$) in the type 2 diabetic group that had kidney damage. **Conclusions:** The average urinary NGAL concentration was significantly higher in of type 2 diabetic patients with renal injury than that those without significant renal impairment. There was a moderate correlation between urinary NGAL concentration and serum creatinin concentration and inverse correlation with glomerular filtration level.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đái tháo đường là một trong những vấn đề khẩn cấp về sức khỏe toàn cầu lớn nhất trong thế kỷ XXI [1]. Bệnh đái tháo đường gây ra nhiều biến chứng trong đó bệnh thận do đái tháo đường là biến chứng thường gặp với tỷ lệ cao, gia tăng theo thời gian phát hiện bệnh [2]. Đây là nguyên nhân hàng đầu của suy thận giai đoạn cuối, lọc thận và ghép thận ở các nước phát triển [3]. Neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) là một protein có trọng lượng phân tử 25 kDa thuộc nhóm lipocalin, chủ yếu do tế bào biểu mô ống thận tiết ra, được lọc tự do qua cầu thận, và được tái hấp thu bởi ống lượn gần. NGAL niệu là một dấu ấn sinh học có liên quan tới mức lọc cầu thận và mức độ tổn thương ống thận [4], tăng ngay cả ở những bệnh nhân đái tháo đường không có albumin niệu. Vì vậy chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài nhằm mục tiêu: “Xác định nồng độ NGAL niệu và khảo sát mối tương quan giữa nồng độ NGAL niệu với creatinin huyết thanh, mức lọc cầu thận huyết tương trên bệnh nhân đái tháo đường type 2 có tổn thương thận tại Bệnh viện Trung ương Huế”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu: Lấy mẫu thuận tiện 75 bệnh nhân đái tháo đường type 2

được chẩn đoán và điều trị tại Bệnh viện Trung Ương Huế chia làm 2 nhóm:

+ Nhóm 1: 40 bệnh nhân đái tháo đường type 2 có ACR ≥ 30 mg/g

+ Nhóm 2: 35 bệnh nhân đái tháo đường type 2 có ACR < 30 mg/g

1.1. Tiêu chuẩn chọn đối tượng:

Chẩn đoán ĐTĐ theo tiêu chuẩn của Hiệp hội ĐTĐ Hoa Kỳ (ADA) năm 2017, áp dụng hai tiêu chí theo chuẩn của ADA 2017 [5]: Glucose huyết tương lúc đói ≥ 126 mg/dL (7mmol/L), sau tối thiểu 8 giờ nhịn đói; và HbA1c $\geq 6,5\%$.

1.2. Chẩn đoán đái tháo đường type 2: Bệnh nhân đã được chẩn đoán trước đó và đang được điều trị theo hướng ĐTĐ type 2.

1.3. Chẩn đoán tổn thương thận

- Không tổn thương thận khi:

+ Albumin niệu bình thường: tỷ albumin/creatinin niệu (ACR) < 30 mg/g

- **Dấu ấn tổn thương thận theo KDIGO 2012 khi:**

+ Có albumin niệu: ACR ≥ 30 mg/g [6]

1.4. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân đái tháo đường có các biến chứng nặng, cấp tính như: ĐTĐ nhiễm toan ceton, ĐTĐ tăng áp lực thẩm thấu, đột quỵ não giai đoạn cấp tính.

- Bệnh nhân nhiễm trùng đường tiểu

- Phụ nữ có thai

- Người đang sử dụng thuốc làm tăng glucose máu.

- Người mắc các bệnh về máu như thiếu máu, thalassemia,...

- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

3. Xử lý số liệu: Lưu trữ và xử lý số liệu trên Microsoft Office Excel 2010.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Nồng độ NGAL niệu trên đối tượng nghiên cứu

Chỉ số Nhóm	NGAL niệu Dương tính ($> 131,7$ ng/mL)		NGAL niệu Âm tính ($\leq 131,7$ ng/mL)	
	n	Tỷ lệ (%)	n	Tỷ lệ (%)
Nhóm 1 (ACR ≥ 30 mg/g)	21	52,5	19	47,5
Nhóm 2 (ACR < 30 mg/g)	0	0	35	100,0
Chung	21	28,0	54	72,0

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ NGAL niệu của nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận cao hơn nhóm không có tổn thương thận ($163,78 \pm 240,06$ ng/mL so với $16,20 \pm 15,57$). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$); nồng độ NGAL niệu trung bình ở các đối tượng có kết quả dương tính ($277,71 \pm$

$287,37$ ng/mL) cao hơn hẳn ở các đối tượng có kết quả âm tính ($23,82 \pm 26,04$ ng/mL). Đặc biệt có 21 trường hợp NGAL niệu dương tính ($> 131,7$ ng/mL), và tất cả đều thuộc nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận, chiếm tỷ lệ 52,5% trong nhóm bệnh nhân này. Đồng thời 100% nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 không có tổn thương thận

đều có NGAL niệu âm tính ($\leq 131,7$ ng/mL).

Bolignano D. và cs (2009) nghiên cứu cho kết quả NGAL niệu tăng dần theo các nhóm từ nhóm chứng khỏe mạnh, nhóm bệnh nhân ĐTD có albumin niệu bình thường, albumin niệu lượng vừa và cao nhất ở nhóm bệnh thận ĐTD [6,5 ng/mL (1,8 - 22,3)]; [51,1 ng/mL (6,2 - 170,9)]; [105,9 ng/mL (45,8 - 300,6)]; [255,6 ng/mL (133,3 - 768,2)]. Và sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

Tác giả Woo K.-S. và cs (2012) nghiên cứu trên 31 bệnh nhân bệnh thận ĐTD mạn tính và 36 người khỏe mạnh thấy nồng độ NGAL niệu ở nhóm bệnh thận ĐTD mạn tính cao hơn hẳn nhóm chứng có ý nghĩa thống kê (96,0 [2,7 - 975,2] ng/mL so với 18,8 [1,3 - 81,9] ng/mL; $p = 0,02$) [7].

Cần Lương Thắng cùng cộng sự (2016) nghiên cứu trên 66 bệnh nhân ĐTD type 2 chia làm hai nhóm có tổn thương thận, không có tổn thương thận và nhóm thứ ba gồm 30 người khỏe mạnh cho kết quả nồng độ NGAL niệu giữa ba nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với các nồng độ tương ứng là $48,1 \pm 77,6$ ng/mL; $37,0 \pm 65,2$ ng/mL; $10,6 \pm 9,6$ ng/mL [4]. De Carvalho J. A. M. và cộng sự (2016) nghiên cứu trên 117 bệnh nhân ĐTD type 2 chia ra làm ba nhóm dựa vào ACR: dưới 10 mg/g ($29,5 \pm 8,8$ ng/mL), 10–30 mg/g ($51,7 \pm 10,9$ ng/mL) và trên 30mg/g ($71,0 \pm 9,6$ ng/mL) Sự khác biệt về nồng độ NGAL niệu giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) [9]. Theo nghiên cứu của nhóm tác giả Wu J. và cộng sự năm 2017 cho rằng nồng độ NGAL niệu cao hơn

đáng kể trong nhóm bệnh nhân ĐTD type 2 có albumin niệu bình thường, lượng vừa và lượng nhiều so với nhóm chứng, và nồng độ NGAL niệu liên quan độc lập với albumin niệu ở bệnh nhân ĐTD type 2. Kết quả này cũng tương tự tác giả Kim S. S. và cs (2012) [10]. Tác giả Kaul A. và cộng sự (2018) nghiên cứu giá trị của NGAL máu và NGAL niệu trên nhóm chứng không bị bệnh ĐTD và ba nhóm bệnh nhân bị ĐTD type 2 có creatinin huyết thanh bình thường (nhóm albumin niệu bình thường, albumin niệu lượng vừa, và nhóm albumin niệu lượng nhiều). Có sự khác biệt đáng kể về giá trị trung bình của NGAL máu và NGAL niệu giữa bệnh nhân ĐTD so với nhóm chứng khỏe mạnh. Điều này cho thấy NGAL có thể là dấu ấn hữu ích để phát hiện giai đoạn đầu của bệnh thận ĐTD ngay cả khi creatinin huyết thanh là bình thường. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng như của các tác giả khác, cho thấy nồng độ trung bình của NGAL niệu có khác nhau giữa các công trình nghiên cứu, một phần là do đối tượng nghiên cứu khác nhau về chủng tộc, địa lý cũng như phương pháp chọn mẫu, cỡ mẫu, phân loại mẫu và phương pháp khác nhau giữa các tác giả. Tuy nhiên nồng độ trung bình của NGAL niệu có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân ĐTD type 2 có tổn thương thận so với nhóm không có tổn thương thận. Như vậy NGAL niệu có thể là một dấu ấn để phát hiện tổn thương thận sớm ở bệnh nhân ĐTD type 2.

2. Phân bố nồng độ NGAL niệu trung bình theo tuổi ở bệnh nhân ĐTD type 2

Tuổi (năm)	N	NGAL niệu (ng/mL) ($\bar{X} \pm SD$)	p
< 45	2	10,75 ± 9,12	> 0,05
Từ 45 đến dưới 60	16	50,38 ± 57,71	
≥ 60	57	110,36 ± 213,51	
Tổng	75	94,91 ± 189,67	

Nhóm bệnh nhân của chúng tôi có 75 bệnh nhân ĐTD type 2 có độ tuổi trung bình là 66,12 ± 11,14 tuổi. Nồng độ NGAL niệu trung bình ở nhóm bệnh dưới 45 tuổi là 10,75 ± 9,12 ng/mL; nhóm bệnh từ 45 đến dưới 60 tuổi là 50,38 ± 57,71 ng/mL; và ở nhóm bệnh từ 60 tuổi trở lên là 110,36 ± 213,51 ng/mL. Trong kết quả của chúng tôi ghi nhận có sự tăng lên của nồng độ NGAL niệu cùng với sự tăng lên của độ tuổi. Tuy nhiên nồng độ trung bình của NGAL niệu giữa các nhóm tuổi khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này có thể lý giải là tuổi thọ con người càng tăng thì càng gia tăng bệnh tật, đồng thời chức năng thận cũng suy giảm theo thời gian vì nhiều nguyên nhân khác nhau. NGAL niệu lại là một chỉ điểm phát hiện tổn thương thận sớm và tăng lên khi chức năng thận giảm.

Theo nghiên cứu của chúng tôi thì nồng độ NGAL niệu trung bình ở giới tính nam (110,46 ± 250,20 ng/mL) cao hơn ở giới tính nữ (85,10 ± 141,26 ng/mL). Và sự khác biệt

này cũng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Theo tác giả Gala-Błądzińska A. và cộng sự (2017) nghiên cứu trên 115 bệnh nhân ĐTD type 2 có độ tuổi trung bình 60,0 ± 15,5 tuổi, với ACR < 300 mg/g và MLCT ≥ 60 ml/phút/1,73 m²

tại phòng khám chuyên khoa thận từ năm 2014–2015. Không có sự tương quan giữa nồng độ NGAL niệu và tuổi. Xét về giới tính thì bệnh nhân ĐTD type 2 nữ [18,3 (8,7 – 44,8) ng/mL] có nồng độ NGAL niệu cao hơn bệnh nhân nam [14,2 (6,1 – 24,8) ng/mL]. Và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p = 0,035$) [13]. Nếu so về nồng độ NGAL niệu trung bình của nam và nữ ở tác giả Gala-Błądzińska A. thì kết quả của chúng tôi cao hơn nhiều, có thể do cách chọn đối tượng nghiên cứu khác nhau. Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là bệnh ĐTD type 2 có tổn thương thận và không tổn thương thận; còn ở tác giả chỉ giới hạn ở nhóm ĐTD type 2 có ACR < 300 mg/g và MLCT ≥ 60 ml/phút/1,73 m².

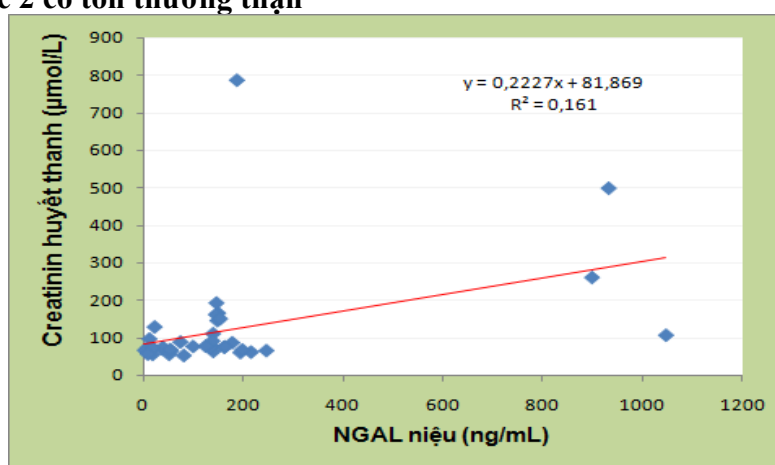
3. Phân bố nồng độ NGAL niệu trung bình theo thời gian phát hiện bệnh ở bệnh nhân ĐTD type 2

Thời gian phát hiện bệnh ĐTD	N	NGAL niệu (ng/mL) ($\bar{X} \pm SD$)	p
< 5 (năm)	40	43,40 ± 58,93	< 0,05
≥ 5 (năm)	35	153,77 ± 260,05	
Tổng	75	94,91 ± 189,67	

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ NGAL niệu trung bình ở bệnh nhân có thời gian phát hiện bệnh ĐTĐ từ 5 năm trở lên ($153,77 \pm 260,05$ ng/mL) cao hơn ở bệnh nhân có thời gian phát hiện bệnh ĐTĐ dưới 5 năm ($43,40 \pm 58,93$ ng/mL). Và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Điều này có thể được lý giải do bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận rơi vào nhóm có thời gian phát hiện bệnh từ 5 năm trở lên có 23 bệnh nhân chiếm đến 57,5% trong tổng số bệnh nhân ĐTĐ type 2 mà chúng tôi nghiên cứu. Đồng thời thời gian phát hiện bệnh càng lâu thì tần suất và mức độ xảy ra các biến chứng càng nặng, trong đó có biến chứng thận.

Kết quả của chúng tôi tương đồng với kết quả của tác giả Kaul A. và cs (2018) có sự tương quan thuận giữa NGAL niệu với thời gian phát hiện bệnh. Ngược lại thì có các tác giả cho kết quả không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ NGAL niệu với thời gian phát hiện bệnh như nhóm tác giả Wu J. và cộng sự nghiên cứu năm 2017 trên 293 bệnh nhân ĐTĐ type 2 ($p = 0,051$); cũng như nghiên cứu của tác giả Żyłka A. năm 2018 ($r = 0,19$, $p = 0,1$) [57]. Tương tự có Gala-Błądzińska A. và cộng sự (2017) nghiên cứu trên 115 bệnh nhân ĐTĐ type 2 cũng không có sự tương quan giữa nồng độ NGAL niệu với thời gian phát hiện bệnh.

4. Tương quan giữa nồng độ NGAL niệu với creatinin huyết thanh ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận



Trong nghiên cứu của chúng tôi nồng độ NGAL niệu có sự tương quan thuận mức độ vừa với creatinin huyết thanh ($r = 0,401$; $p = 0,010$); theo phương trình $y = 0,2227x + 81,869$ ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận.

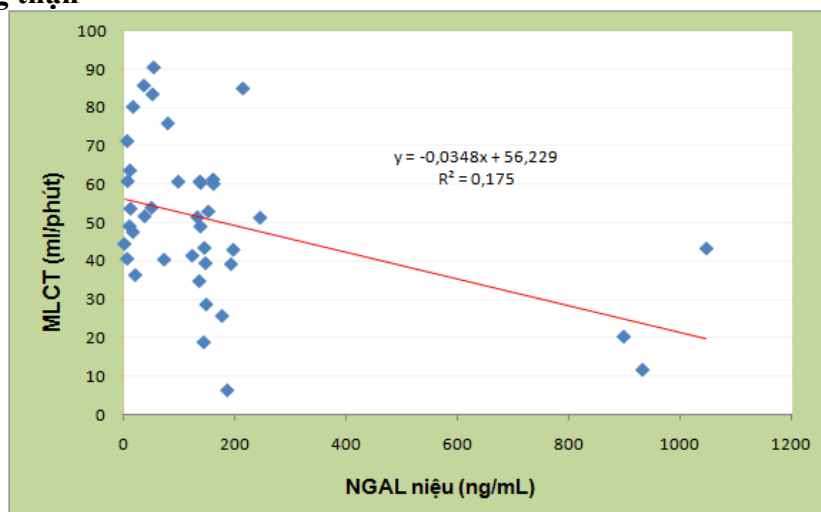
Tác giả Bolignano D. và cs nghiên cứu

trên 56 bệnh nhân ĐTĐ type 2 năm 2009 cho thấy nồng độ NGAL niệu tương quan thuận với mức độ khá chặt chẽ với creatinin huyết thanh ($r = 0,65$; $p < 0,05$). Theo tác giả Yang Y.-H. và cộng sự nghiên cứu năm 2009, nồng độ NGAL niệu tương quan thuận mức độ khá chặt chẽ với nồng độ creatinin huyết

thanh ($r = 0,57$; $p < 0,001$). Theo nghiên cứu của nhóm tác giả Wu J. và cộng sự năm 2017 trên 293 bệnh nhân ĐTĐ type 2 cho thấy có mối tương quan thuận giữa nồng độ

NGAL niệu với nồng độ creatinin huyết thanh. Tuy nhiên mối tương quan này ở mức độ ít ($r = 0,187$; $p < 0,001$)

5. Tương quan giữa nồng độ NGAL niệu với MLCT ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận



Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ NGAL niệu có sự tương quan nghịch mức độ vừa với MLCT ($r = -0,419$; $p = 0,007$) theo phương trình $y = -0,0348x + 56,229$ ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận.

Kết quả nghiên cứu của Bolignano D. và cs năm 2009 cho thấy nồng độ NGAL niệu tương quan nghịch với mức độ rất chặt với MLCT ($r = -0,72$; $p < 0,005$) [26].

Theo tác giả Woo K.-S. và cs (2012) cũng ghi nhận có sự tương quan nghịch mức độ khá chặt chẽ giữa nồng độ NGAL niệu và MLCT ($r = -0,5634$; $p < 0,0001$). Theo tác giả Yang Y.-H. và cs nghiên cứu năm 2009, nồng độ NGAL niệu tương quan nghịch mức độ khá chặt chẽ với nồng độ creatinin huyết thanh ($r = -0,57$; $p < 0,001$).

V. KẾT LUẬN

1. Nồng độ NGAL niệu trên bệnh nhân đái tháo đường type 2

- Nồng độ NGAL niệu trung bình của nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận cao hơn nhóm không có tổn thương thận có ý nghĩa thống kê ($163,78 \pm 240,06$ ng/mL so với $16,20 \pm 15,57$ ng/mL; $p < 0,01$).

- Có sự tăng lên của nồng độ NGAL niệu cùng với sự tăng lên của độ tuổi. Tuy nhiên nồng độ trung bình của NGAL niệu giữa các nhóm tuổi khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Nồng độ NGAL niệu trung bình ở bệnh nhân có thời gian phát hiện bệnh ĐTĐ từ 5 năm trở lên ($153,77 \pm 260,05$ ng/mL) cao hơn ở bệnh nhân có thời gian phát hiện bệnh ĐTĐ dưới 5 năm ($43,40 \pm 58,93$ ng/mL). Và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

2. Mối liên quan và tương quan giữa NGAL niệu với creatinin huyết thanh và mức lọc cầu thận.

- Có sự tương quan thuận mức độ vừa giữa nồng độ NGAL niệu với albumin niệu ($r = 0,408$; $p = 0,009$), với nồng độ creatinin huyết thanh ($r = 0,401$; $p = 0,010$) và tương quan nghịch mức độ vừa với MLCT ($r = -0,419$; $p = 0,007$) ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận.

- Có sự tương quan thuận mức độ rất chặt giữa nồng độ NGAL niệu với ACR ($r = 0,801$; $p < 0,001$) ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tổn thương thận.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Han C. N., Whiting D., Forouhi N. et al (2015), "The Seventh edition of the IDF Diabetes Atlas", IDF Diabetes Atlas Committee, Seventh Edition pp. 8-144.
2. Colagiuri., Donggo., Gregg E. et al (2016), Global report on diabetes, World Health Organization, Geneva, pp 6-88.
3. Gluhovschi C., Gluhovschi G., Petrica L. et al (2016), "Urinary biomarkers in the assessment of early diabetic nephropathy", Journal of diabetes research, 2016, pp. 1-14.
4. Cấn Lương Thắng, Phạm Văn Trân, Huỳnh Quang Thuận và cộng sự (2016), "Nghiên cứu sự thay đổi nồng độ neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) nước tiểu ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 có biến chứng thận", Tạp chí Y học Việt Nam, tập 445, tr. 62-68.
5. Cefalu W. T., Bakris G. C., Blonde L. et al (2017), "Standards of Medical Care in Diabetes-2017", The Journal of clinical and applied research and education, 40 (1), pp. 20-142.
6. Eknoyan G., Lameire N. et al (2013), "KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease", Kidney international, 3 (1), pp. 1-163.
7. Woo K.-S., Choi J.-L., Kim B.-R. et al (2012), "Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels in comparison with glomerular filtration rate for evaluation of renal function in patients with diabetic chronic kidney disease", Diabetes & metabolism journal, 36 (4), pp. 307-313.
8. Cấn Lương Thắng, Phạm Văn Trân, Huỳnh Quang Thuận và cộng sự (2016), "Nghiên cứu sự thay đổi nồng độ neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) nước tiểu ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 có biến chứng thận", Tạp chí Y học Việt Nam, tập 445, tr. 62-68.

ỨNG DỤNG PHƯƠNG PHÁP SIX SIGMA TRONG KIỂM SOÁT CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HbA1C

Trần Thị Anh Thu*, Nguyễn Hữu Huy*,
Nguyễn Thị Băng Sương***, Nguyễn Hoàng Bắc**

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Hemoglobin A1c (HbA1c) là thành phần chính của hemoglobin gắn đường, đã được sử dụng để theo dõi đường huyết trong nhiều năm và trong chẩn đoán bệnh đái tháo đường ngày nay. Six Sigma là sự kết hợp của độ chệch, độ chụm và tổng sai số cho phép nhằm đánh giá chất lượng xét nghiệm.

Mục đích: Đánh giá hệ thống quản lý chất lượng của các xét nghiệm HbA1c trên máy TOSOH G11 và Premier thông qua giá trị Six Sigma và tỉ lệ chỉ số mục tiêu chất lượng (QGI).

Phương pháp: Giá trị Six Sigma được xác định bởi giá trị biến thiên (CV) lấy từ kết quả nội kiểm tra, bias lấy từ kết quả ngoại kiểm tra. Nếu giá trị Six Sigma ≥ 6 , từ 3 đến 6, và < 3 được đánh giá lần lượt là đẳng cấp thế giới, tốt và không thể chấp nhận. Tỉ lệ chỉ số mục tiêu chất lượng được tính dựa trên giá trị Bias% và CV% của mỗi xét nghiệm.

Kết quả: TOSOH có giá trị Six Sigma > 5 . Premier có giá trị Six Sigma đạt mức 3 ở nồng độ 1. Chỉ số QGI chỉ ra vấn đề ở xét nghiệm này là độ đúng và độ lặp lại.

Kết luận: Có thể sử dụng thang Sigma để thường xuyên đánh giá hiệu năng của các xét nghiệm dựa trên các dữ liệu nội kiểm và ngoại

kiểm sẵn có của phòng xét nghiệm. Hiệu năng của các xét nghiệm dựa trên thang Sigma còn hữu ích để so sánh sự tương đồng của các xét nghiệm được thực hiện trên hai hay nhiều máy.

Từ khóa: Six Sigma, HbA1C

SUMMARY

APPLICATION OF SIGMA METRICS FOR THE ASSESSMENT OF QUALITY CONTROL IN HbA1C TEST

Background: Hemoglobin A1c, (HbA1c) which is the major constituent of glycated hemoglobin, has been used in the follow-up of retrospective glycemia for years and in the diagnosis of diabetes mellitus nowadays. Sigma metrics is the combination of bias, precision and total allowable error that ensures a general evaluation of analytical quality.

Objects: The assessment of quality control system of HbA1C test in TOSOH and Premier analyzers by Sigma metrics and the Quality Goal Index ratio (QGI).

Methods: CLIA is used for Total Allowable Error (TEa). Sigma values were determined from coefficient of variation (CV) from Internal Quality Control (IQC) results and bias resulting from External Quality assessment (EQA) results. If the sigma values are ≥ 6 , between 3 and 6, and < 3 , they are classified as “world-class”, “good” and “unacceptable”, respectively. QGI ratio is calculated by Bias% and CV% of each assay.

Results: Tosoh analyzer has a Sigma value > 5 , but Premier has Sigma value 3 in level 1. QGI ratio show that this problem is accuracy and precision.

*Đại học Y Dược TP. HCM.

**Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Băng Sương
Email: suongnguyenmd@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 26.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

Conclusion: The analytical method performance can be frequently assessed by Sigma metrics based on the available data of internal and external quality control in clinical laboratory. The sigma values of the method is also useful for comparability assesment between instruments.

Keywords: Six sigma, HbA1C

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hemoglobin A1c (HbA1c) là một phân nhóm của HbA1, trong đó valin có chuỗi N tận (N-terminal Val) của phân tử hemoglobin này sẽ phản ứng với glucose thông qua phản ứng glycosyl hóa không cần enzym xúc tác và không thuận nghịch để tạo nên sản phẩm amadori gọi là HbA1c bị glycosyl hóa (hay HbA1c)[1].

HbA1c quan trọng để theo dõi tính hiệu quả của việc kiểm soát chế độ ăn và quá trình điều trị bệnh tiểu đường. Vì tuổi thọ trung bình của một tế bào hồng cầu khoảng 120 ngày, nên giá trị đo hemoglobin A1c có thể phản ánh nồng độ glucose máu trung bình hàng ngày trong hai đến ba tháng trước và cung cấp chỉ báo kiểm soát đường huyết tốt hơn nhiều so với xét nghiệm glucose máu hoặc nước tiểu. Quan trọng hơn, chỉ số HbA1c còn dự báo nguy cơ biến chứng vi mạch, và việc hạ thấp nồng độ HbA1c (bằng cách kiểm soát chặt đường huyết) làm giảm có ý nghĩa tốc độ tiến triển của các biến chứng vi mạch [2].

Six sigma là công cụ mới nhất ở thời điểm hiện tại cho việc quản lý chất lượng phòng xét nghiệm. Thang điểm Six Sigma được dùng để đo lường chất lượng khách quan bằng số liệu, thông qua giá trị sai số toàn bộ cho phép (TEa), bias và CV. Phương pháp Six Sigma được áp dụng rộng rãi trong các ngành công nghiệp, kinh doanh và y tế trong

quá trình đánh giá và quản lý chất lượng nhằm giảm giá thành sản phẩm, đơn giản hóa quy trình, hạn chế các lỗi có thể xảy ra. Six Sigma hướng dẫn quản lý và cải thiện quá trình phân tích [3]. Giá trị Six Sigma chỉ ra bao nhiêu lỗi có thể xảy ra, điểm Six Sigma càng cao thì ít lỗi xảy ra hơn. Đó là lý do Six Sigma trở thành giải pháp tốt nhất cho vấn đề quản lý chất lượng phân tích.

Bên cạnh đó, để đạt được sự cải tiến chất lượng cho các xét nghiệm tự động này, chúng ta cần hiểu rõ nguyên nhân gốc rễ của các lỗi có thể mắc phải trong hệ thống quản lý chất lượng, tỉ lệ chỉ số mục tiêu chất lượng (QGI) sẽ chỉ ra lỗi nằm ở độ đúng hay độ lặp lại. Trên thế giới, phương pháp sigma (Sigma quality metrics) được áp dụng vào đánh giá hiệu năng phương pháp của các xét nghiệm hoá sinh từ những năm 2000 [4]. Tuy nhiên, tại Việt Nam việc áp dụng thang Sigma trong quản lý chất lượng xét nghiệm còn khá mới mẻ, đặc biệt ở nhóm xét nghiệm HbA1C. Vì thế, trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào giai đoạn phân tích với mục đích:

- Tính giá trị Six Sigma của xét nghiệm HbA1C trên hệ thống máy phân tích TOSOH G11 và Premier
- Tính tỉ lệ chỉ số mục tiêu chất lượng của phân tích để đánh giá kết quả trên hệ thống máy phân tích TOSOH G11 và Premier nhằm hướng dẫn kỹ thuật viên xác định đúng vấn đề chất lượng còn tồn đọng tại phòng xét nghiệm.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

- Nghiên cứu hồi cứu, được thực hiện tại Khoa Xét Nghiệm– Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Dữ liệu được hồi cứu từ tháng 11/2019 đến 5/2020 .
- Dữ liệu thu thập bao gồm: giá trị nội kiểm tra (IQC) - giá trị biến thiên (CV%),

tổng sai số toàn bộ cho phép (TEa) cho xét nghiệm HbA1C. Nghiên cứu được thực hiện trên máy phân tích TOSOH G11 và Premier

Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu

- **Đánh giá độ chụm (precision):** của xét nghiệm thông qua SD, CV thu được từ kết quả nội kiểm trong của toàn bộ dữ liệu nội kiểm.

- **Đánh giá độ xác thực (accuracy):** của xét nghiệm thông qua Độ lệch (Bias) từ trung bình kết quả ngoại kiểm trong 6 tháng.

- **Tính toán giá trị Sigma** cho các phương pháp xét nghiệm dựa trên Sai số toàn bộ cho phép TEa (%), CV (%) và Bias (%).

- **Thang đo Six Sigma** được tính bằng công thức: $\text{Sigma} = (\text{TEa} - \text{Bias\%}) / \text{CV\%}$

- **Tổng sai số toàn bộ cho phép (TEa):** Sự biến thiên tối đa có thể chấp nhận được của một kết quả xét nghiệm so với giá trị đúng mà không làm ảnh hưởng đến ý nghĩa lâm sàng của kết quả xét nghiệm. Giá trị TEa được cung cấp bởi chương trình (Clinical Laboratory Improvement Amendments – CLIA) năm 2019 cho xét nghiệm HbA1C là 10%.

- **Bias:** là sự khác biệt giữa kết quả của nhóm ngoại kiểm và kết quả của phòng xét nghiệm

- **CV (hệ số biến thiên)** thu thập từ kết quả nội kiểm, được tính theo công thức:

$$\text{CV} = \text{SD} / \text{Mean} \times 100$$

- **Tỉ lệ chỉ số mục tiêu chất lượng (Quality goal index - QGI):** chỉ số QGI thể hiện một cách tương đối độ đúng và độ lặp lại đáp ứng cho các mục tiêu chất lượng. Chỉ số được dùng để phân tích vấn đề là do độ đúng hay độ lặp lại hoặc cả hai. Tỉ lệ QGI được tính theo công thức:

$$\text{QGI} = \text{Bias\%} / (1,5 \times \text{CV\%})^{(5)}$$

Thực hiện tính tỉ lệ QGI khi các xét nghiệm được đánh giá là không đạt theo thang điểm Six Sigma:

- QGI < 0,8 : xét nghiệm có vấn đề về độ lặp lại

- QGI = 0,8-1,2: xét nghiệm có vấn đề về độ lặp lại và độ đúng

- QGI > 1,2: xét nghiệm có vấn đề độ đúng

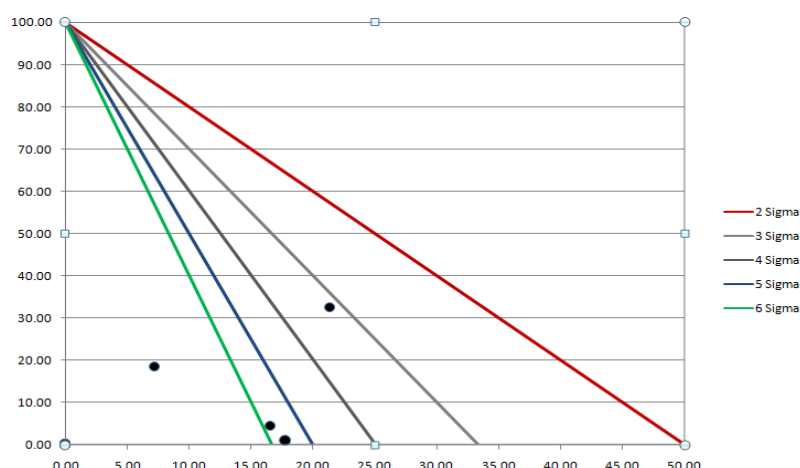
Đạo đức nghiên cứu. Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học. Vật liệu sử dụng là các mẫu QC và mẫu ngoại kiểm, không phải là các mẫu bệnh phẩm.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Giá trị Six Sigma của xét nghiệm HbA1C. Giá trị Six Sigma cao ở cả 2 level trên máy Tosoh tuy nhiên máy Premier có level 1 đạt mức Sigma ở mức tối thiểu chấp nhận được. Giá trị Six Sigma xét nghiệm HbA1c được thể hiện ở bảng dưới:

Bảng 1. Giá trị bias, CV và Six Sigma của xét nghiệm HbA1C

Xét nghiệm	Trung bình tham chiếu	Trung bình PXN	Bias	CV	Sigma	Quy luật QC
Tosoh – L1	5.56	5.58	0.4	1.66	5.77	1:3s/2:2s/R:4s N=2
Tosoh – L2	12.23	12.00	1.8	0.72	11.28	1:3s N=2
Premier – L1	6.39	6.60	3.3	2.14	3.16	1:3s/2:2s/R:4s/4:1s /8:x N=4
Premier – L2	12.34	12.35	0.1	1.78	5.57	1:3s/2:2s/R:4s N=2



Hình 1. Biểu đồ quyết định phương pháp của xét nghiệm HbA1C

Nhận xét: Xét nghiệm HbA1C trên máy TOSOH nằm trong vùng có mức Sigma từ 5 trở lên cho thấy xét nghiệm này có chất lượng tốt, tần suất xảy ra lỗi thấp và cần ít quy luật QC để kiểm soát chất lượng trong khi đó level 1 của máy Premier chỉ đạt mức Sigma 3.16 cần áp dụng nhiều luật kiểm soát chất lượng hơn.

Tỉ lệ chỉ số mục tiêu chất lượng của phân tích để đánh giá kết quả trên máy Premier

Bảng 2. Tỉ lệ QGI theo ở mức nồng độ 1 trên máy Premier

Xét nghiệm	Bias%	CV%	Sigma	QGI	Vấn đề
Premier – L1	3.3	2.14	3.16	1.02	Độ lặp lại và độ đúng

Nhận xét: Chỉ số QGI chỉ ra vấn đề ở các mức nồng độ 1 trên máy Premier là độ lặp lại và độ đúng. Cần thực hiện cải tiến hiệu năng phương pháp.

IV. BÀN LUẬN

HbA1c rất quan trọng với bệnh nhân đái tháo đường vì nó phản ánh tình trạng glucose máu trong 3 tháng giúp bác sĩ điều trị có kế hoạch điều trị kịp thời, phòng ngừa các biến chứng. Vì thế việc quản lý chất lượng xét nghiệm HbA1C là hết sức cần thiết. Chúng tôi đã thu thập dữ liệu về các giá trị nội kiểm tra và ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm trong khoảng thời gian 11/2019 đến 5/2020 để tính toán giá trị Sigma của thông số HbA1C trên hệ thống máy phân tích TOSOH G11 và Premier. Để đánh giá độ đúng và độ lặp lại của các xét nghiệm, nội kiểm tra và ngoại kiểm tra được tiến hành ở hai mức nồng độ khác nhau. Giá trị Six Sigma là một

trong những công cụ để đánh giá hiệu năng các xét nghiệm dựa trên tính toán thống kê. Phương pháp Six-Sigma cho phép so sánh các xét nghiệm định lượng của các máy phân tích tự động, phòng thí nghiệm và phương pháp khác nhau trên khắp thế giới [5].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, giá trị Six Sigma cao ở cả 2 level trên máy Tosoh tuy nhiên máy Premier có level 1 đạt mức Sigma ở mức tối thiểu chấp nhận được. Theo nghiên cứu của Yuzhu Huang và cộng sự (2018) đánh giá mức Sigma của 1066 phòng xét nghiệm tại Trung Quốc thì máy Tosoh G7/G8 là máy có mức sigma trên 3 đạt tỷ lệ cao nhất 46.84% (89/190) và bên cạnh đó 80.21% (855/1066) phòng xét nghiệm cần

phải cải thiện hiệu năng xét nghiệm HbA1C và chỉ có 2.63% (28/1066) phòng xét nghiệm đạt đẳng cấp thế giới [6]. Sự khác biệt giữa dữ liệu thống kê của chúng tôi và các nghiên cứu khác là do sự khác biệt trong các mẫu QC cũng như thiết bị và phương pháp và lựa chọn tổng lỗi cho phép. Thực vậy, khi dùng tiêu chuẩn biến thiên sinh học (TEA là 3%) thì sigma của xét nghiệm HbA1C sẽ dưới 3, còn áp dụng tiêu chuẩn của CLIA thì hiệu năng phương pháp lại hoàn toàn chấp nhận được. Đây cũng chính là khó khăn cho phòng xét nghiệm khi quyết định lựa chọn tiêu chuẩn TEa. Koen Hens và cộng sự gợi ý có thể lựa chọn TEA từ nhiều nguồn khác nhau và phòng xét nghiệm có thể dựa trên kinh nghiệm thực tiễn về thực hành và chuyên môn để lựa chọn TEa cho phù hợp. Một số nghiên cứu đánh giá hiệu năng phương pháp dựa trên thang sigma sử dụng tiêu chuẩn TEa của CLIA cho thấy phần lớn các xét nghiệm có sigma lớn hơn 3 và thực tế chứng minh các xét nghiệm này đáp ứng nhu cầu thực hành lâm sàng [7]. Như vậy, các phòng xét nghiệm hoàn toàn có thể lựa chọn sử dụng các tiêu chuẩn chất lượng có thể đạt được và duy trì được khi áp dụng thang sigma trong kiểm soát chất lượng.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã tính toán được giá trị Six Sigma dựa vào giá trị nội kiểm và ngoại kiểm sẵn có của phòng xét nghiệm. Máy TOSOH G11 có giá trị Six Sigma cao hơn so với máy Premier. Chỉ số QGI nhằm xác định nguyên nhân của vấn đề hiệu suất phân tích ở các xét nghiệm có giá trị Six Sigma thấp

trở thành nguồn tư liệu tham khảo cho vấn đề quản lý và cải tiến chất lượng xét nghiệm. Hiệu năng của các xét nghiệm dựa trên thang Sigma còn hữu ích để so sánh sự tương đồng của các xét nghiệm được thực hiện trên hai hay nhiều máy.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Goodall, I., et al.**, Global standardization of glycated hemoglobin measurement: the position of the IFCC Working Group. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*, 2007. **45**(8): p. 1077-1080.
2. **Association, A.D.**, Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes care*, 2010. **33**(Supplement 1): p. S62-S69.
3. **Schweikhardt SA, Dembe AE (2009)**. The Applicability of Lean and Six Sigma Techniques to Clinical and Translational Research, *J Investig Med*, 57(7):748-55.
4. **Nevalainen D, Berte L, Kraft C, Leigh E, et al (2000)**. Evaluating laboratory performance on quality indicators with the Six sigma scale, *Arch Pathol Lab Med*, 124(4): 516-519.
5. **Westgard JO, Westgard SA (2006)**. The quality of laboratory testing today: an assessment of sigma metrics for analytic quality using performance data from proficiency testing surveys and the CLIA criteria for acceptable performance, *Am J Clin Pathol*, 125:343-354.
6. **Huang, Yuzhu, et al.** "Performance evaluation of HbA1c measurement systems with sigma metric for 1066 laboratories in China." *Clinica Chimica Acta* 487 (2018): 281-286.
7. **Hens K, Berth M, Armbruster D et al (2014)**. Sigma metrics used to assess analytical quality of clinical chemistry assays: importance of the allowable total error (TEa) target. *Clin Chem Lab Med CCLM*, 52(7): 973- 980

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA PHƯƠNG PHÁP TIẾP CẬN SIGMA TRONG QUẢN LÝ CHẤT LƯỢNG PHÒNG XÉT NGHIỆM

Trần Quang Huy*, Nguyễn Thị Thu Huyền*,
Tạ Thị Tú*, Quách Xuân Hình*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả nâng cao chất lượng xét nghiệm hóa sinh thông qua công cụ Sigma. **Đối tượng và phương pháp:** Mười chỉ số: Glucose, Ure, Creatinine, Cholesterol, Triglyceride, GOT, GPT, GGT, Uric, Bilirubin được xét nghiệm trên thiết bị AU5811 và áp dụng phương pháp Sigma để cải thiện chất lượng. Quá trình cải tiến gồm 4 giai đoạn. Giai đoạn 1: thực hiện theo đúng quy trình hãng khuyến cáo và hiện trạng phòng xét nghiệm; Giai đoạn 2: áp dụng cải tiến trong quy trình kiểm soát hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm chuẩn, và tăng cường giám sát bảo dưỡng, thay thế vật tư tiêu hao; Giai đoạn 3: tăng cường mức độ bảo dưỡng dựa vào số lượng mẫu chạy trên mỗi thiết bị và tăng tần suất chạy kiểm chuẩn dựa vào phân tích biểu đồ Youden; Giai đoạn 4: kiểm soát và duy trì mức chất lượng đã đạt được. **Kết quả:** Ở giai đoạn 1 có 2 xét nghiệm đạt điểm Sigma trên 6 đối với cả 2 mức nồng độ của chất chuẩn (mức QC) là Triglycerid và GGT, có 2 xét nghiệm chỉ có một mức QC đạt trên 6 sigma, riêng Cholesterol có điểm Sigma dưới 2. Ở giai đoạn 2, 5 xét nghiệm cả 2 mức QC đạt trên 6 sigma, 2 xét nghiệm có 1 mức QC đạt trên 6 sigma và không có điểm sigma dưới 3. Ở giai đoạn 3, có 9/10 xét nghiệm có cả 2 mức QC đạt trên 6

sigma, và không có điểm Sigma dưới 4. Ở giai đoạn 4, kết quả không khác biệt nhiều so với giai đoạn 3. **Kết luận:** Chỉ số Sigma là một công cụ hiệu quả trong đánh giá chất lượng xét nghiệm hóa sinh.

Từ khóa: chất lượng xét nghiệm, chỉ số Six Sigma, quy tắc Westgard.

SUMMARY

EVALUATION OF THE EFFICIENCY OF SIGMA METRIC IN THE QUALITY MANAGEMENT OF MEDICAL LABORATORY

Objectives: Evaluating quality of clinical biochemistry by using sigma metric. Subjects and **Methods:** 10 biochemistry tests including Glucose, Urea, Creatinine, Cholesterol, Triglyceride, GOT, GPT, GGT, Uric acid, and total Bilirubine were measured using AU5811 (Beckman Coulter). Sigma metric was used for evaluating the improvement of laboratory quality. The present study was conducted in 4 stages. In the stage 1, test performance was followed the manufacture instruction and lab protocol. We applied the quality management system at the stage 2 with controlling chemicals, standard substances, equipment maintenance, and changing consumables. In the following stage, we enhanced maintenance based on the amount of samples and increased frequency of using internal control based on the Youden figure. We controlled and maintained the laboratory quality for the stage 4. **Results:** Sigma level of Triglycerid and GGT were over 6 at the

*Trung tâm Xét nghiệm - Bệnh viện TWQĐ108.

Chịu trách nhiệm chính: Quách Xuân Hình

Email: xuanhinh108@gmail.com

Ngày nhận bài: 23.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 25.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

stage 1 for both levels of quality control samples, meanwhile only 1 quality control sample of 2 tests was over 6 sigma and sigma of Cholesterol was below 2. After performing interventions, sigma metric of 5 tests were over 6 with both quality control samples, 2 tests had only one level of quality control sample getting over 6 and no value of the tests was below 3. In the stage 3, sigma of 9 out of 10 tests were over 6 with both levels of quality control samples and none was below 4. There was no significantly difference between state 3 and stage 4. **Conclusions:** Sigma metric is a useful tool for evaluating quality of clinical biochemistry tests.

Keywords: Quality of laboratory test, six sigma index, Westgard rules.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nâng cao chất lượng xét nghiệm luôn là một nhu cầu cần thiết của bất kỳ phòng xét nghiệm nào. Hiện nay, một trong những phương pháp tiếp cận phổ biến nhất để cải tiến chất lượng là phương pháp Sigma.

Trong lĩnh vực xét nghiệm, khi đạt Six Sigma giúp mang lại kết quả xét nghiệm gần như chính xác tuyệt đối cho bệnh nhân (tỉ lệ 3,4 lỗi trong một triệu lần xét nghiệm). Six Sigma được chia thành các cấp độ tương ứng với tỷ lệ lỗi giảm dần [4], [5]. Các tiêu chí đánh giá chất lượng xét nghiệm bao gồm nội kiểm (IQC) và ngoại kiểm (EQC) là những yếu tố để đảm bảo độ tin cậy cho kết quả xét nghiệm trước khi trả cho lâm sàng. Tuy nhiên, sự phát triển y học đòi hỏi độ chính xác cao dẫn đến những thách thức gia tăng liên quan đến kiểm soát chất lượng (QC). Phần lớn các phòng xét nghiệm sử dụng luật đa quy tắc của Westgard để kiểm soát sai số, tuy nhiên việc sử dụng luật đa quy tắc khiến phòng xét nghiệm gặp khó khăn trong việc lựa chọn giữa: tìm nguyên nhân, khắc phục

và thời gian chạy mẫu xét nghiệm cho bệnh nhân. Vì thế, một hệ thống tích hợp, đánh giá chính xác giải quyết được các vấn đề và cải tiến quy trình là điều phòng xét nghiệm nên làm [2].

Six Sigma có mối tương quan với luật đa quy tắc của Westgard đã được Jame Westgard phân tích và đưa Six Sigma thành quy tắc quản lý được gọi là “Quy tắc Westgard Sigma TM” [5], [6]. Quy tắc được áp dụng như sau:

- Chất lượng xét nghiệm đạt từ 6 điểm Sigma trở lên chỉ yêu cầu một quy tắc duy nhất là 1_{3s} với 2 phép đo ở mỗi mức QC trong 1 lần chạy.

- Khi đạt 5 điểm Sigma yêu cầu 3 quy tắc: $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$. Khi đạt 4 điểm Sigma yêu cầu 4 quy tắc: $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}$. Khi đạt dưới 4 điểm Sigma yêu cầu 4 quy tắc, đồng thời sẽ thêm quy tắc 8X với 2 mức QC trong 4 lần chạy.

- Nếu không áp dụng Six Sigma sẽ phải tuân thủ đủ cả 6 qui tắc Westgard[6].

Khi đạt được chứng nhận Six Sigma chất lượng xét nghiệm luôn được đảm bảo với chất lượng cao, giảm thiểu tối đa sai sót. Đồng thời giảm thiểu thời gian khắc phục lỗi, sự cố, giảm thiểu chi phí hóa chất và sinh phẩm [1], [3].

Do đó chúng tôi áp dụng quy trình Sigma vào 10 chỉ số xét nghiệm để nâng cao chất lượng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng:

- Tiến hành nghiên cứu trên 10 chỉ tiêu xét nghiệm bao gồm: Glucose, Ure, Creatinine, Cholesterol, Triglyceride, GOT, GPT, GGT, Uric, BilirubinT. Chỉ số Sigma được tính cho mỗi chỉ tiêu bởi 2 mẫu nội kiểm tra (QC) có nồng độ khác nhau, thực hiện trên máy AU 5811 tại khoa Sinh hóa-

Trung tâm Xét nghiệm – Bệnh viện TƯQĐ 108. Dựa vào phương pháp tiếp cận Sigma chúng tôi chia ra làm 4 giai đoạn như sau:

+ Giai đoạn 1: (từ 11/02/2020 đến 20/03/2020) thực hiện theo các quy trình của nhà sản xuất. Kết thúc giai đoạn 1, ghi nhận phân tích dữ liệu và đưa ra cải tiến mà sẽ được thực hiện ở giai đoạn 2.

+ Giai đoạn 2: (từ 21/03/2020 đến 06/05/2020) thực hiện như giai đoạn 1 và áp dụng cải tiến trong kiểm soát hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm chuẩn, tăng cường giám sát bảo dưỡng, thay thế vật tư tiêu hao.

+ Giai đoạn 3: (từ 16/05/2020 đến 15/06/2020) thực hiện như giai đoạn 2 và thêm tăng cường tần suất bảo dưỡng dựa vào số lượng mẫu chạy trên mỗi thiết bị và tăng tần suất chạy kiểm chuẩn dựa vào phân tích biểu đồ Youden.

+ Giai đoạn 4: (từ 15/06/2020 đến 30/08/2020): kiểm soát và duy trì.

- Kết quả điểm Sigma được tính theo công thức:

$$\text{Sigma} = (\% \text{Tea} - \% \text{Bias}) / (\% \text{CV}).$$

$$\text{Với : } \% \text{ Bias} = (\text{Bias} / \text{TV}) \times 100$$

Trong đó:

• %TEa (sai số tổng cho phép) nguồn: CLIA, CAP, WLSH, NYS, AAB.

• % bias (độ chệch) được tính theo kết quả ngoại kiểm hàng tháng.

• % CV (hệ số biến thiên) được tính theo kết quả nội kiểm hàng tháng.

* Trang thiết bị và hóa chất sinh phẩm:

- Máy xét nghiệm AU5811 (hãng Beckman Coulter), Máy li tâm, pipet...

- Hóa chất: các hóa chất xét nghiệm của hãng Beckman Coulter (Mỹ).

- Sinh phẩm: Chất nội kiểm tra chất lượng của hãng Beckman Coulter (Mỹ), với mã sinh phẩm là ODC0003 và ODC0004; số lot 1033,1034

2.2. Phương pháp:

- Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang, theo dõi dọc và tiến cứu.

- Các chỉ tiêu nghiên cứu: %CV; %Bias; điểm Sigma.

2.3. Xử lý số liệu: trên phần mềm excell.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Giai đoạn 1 thực hiện theo các quy trình của nhà sản xuất kết quả như sau:

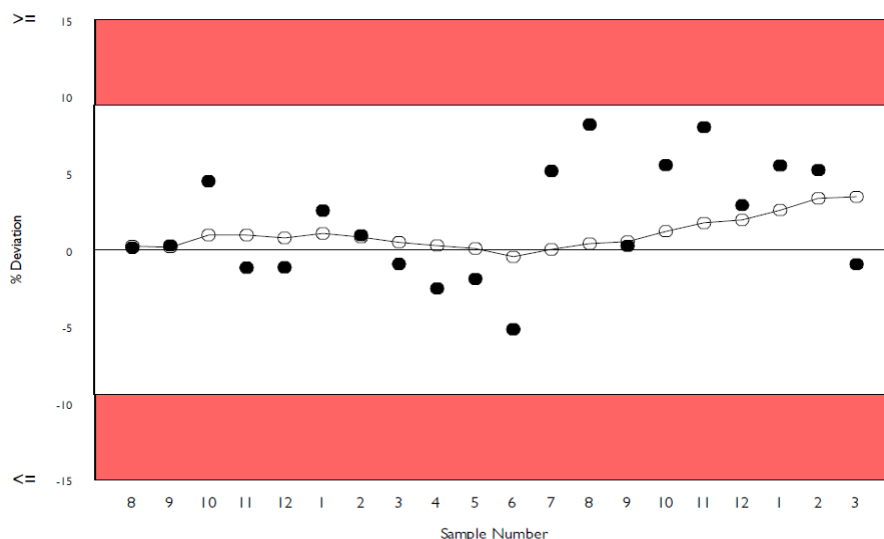
Bảng 1: Kết quả QC và Sigma khi thực hiện theo ISO 15189:2012

Xét nghiệm	Mức QC	TEa	Giai đoạn 1		
			%CV	Độ chệch (bias)	Điểm Sigma
GLU	1	10	2.74	-1.10	3.24
	2	10	2.87	-1.10	3.10
Ure	1	15.55	4.27	3.70	2.77
	2	15.55	4.06	3.70	2.92
CRE	1	15	3.05	1.60	4.39
	2	15	2.19	1.60	6.12
CHO	1	10	3.51	3.50	1.85
	2	10	3.57	3.50	1.82
TRI	1	25	2.66	1.50	8.83

	2	25	2.77	1.50	8.48
AST	1	20	3.85	1.60	4.78
	2	20	4.20	1.60	4.38
ALT	1	20	3.51	1.60	5.25
	2	20	3.63	1.60	5.07
GGT	1	20	2.48	1.20	7.57
	2	20	2.39	1.20	7.86
UA	1	17	3.42	0.20	4.91
	2	17	3.37	0.20	4.98
BIL T	1	20	6.44	-0.20	3.07
	2	20	3.09	-0.20	6.41

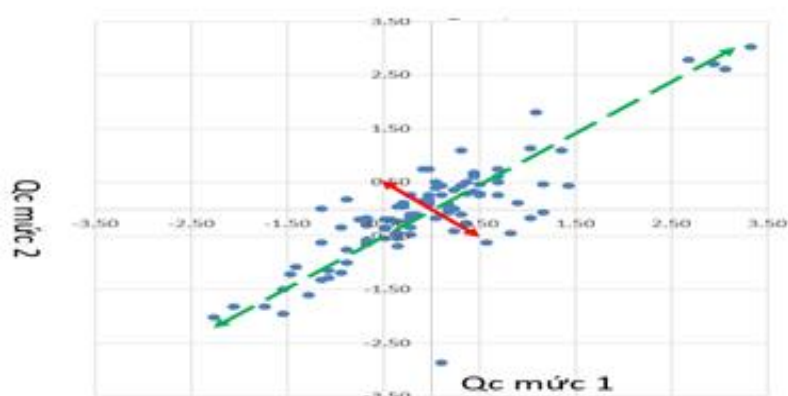
Kết quả từ bảng 3.1 cho thấy có 2 xét nghiệm đạt điểm Sigma trên 6 đối với cả 2 mức là Triglycerid và GGT, có 2 xét nghiệm chỉ có một mức QC đạt trên 6 Sigma. Có một xét nghiệm là Cholesterol có điểm Sigma dưới 2.

Có hai yếu tố góp phần làm điểm Sigma của xét nghiệm Cholesterol thấp là %CV cao và độ chệch (Bias) lớn (đều là xung quanh mức 3.5%). Về nguyên nhân dẫn đến Bias lớn – do ảnh hưởng của kết quả ngoại kiểm, là do các thiết bị xét nghiệm, dụng cụ pha chất chuẩn đang có sai số hệ thống, khoa xét nghiệm đã tiến hành khắc phục.



Hình 1: Kết quả ngoại kiểm xét nghiệm Cholesterol.

Nguyên nhân thứ hai dẫn đến điểm Sigma của xét nghiệm Cholesterol thấp là độ chụm kém. Tiến hành phân tích Youden để đánh giá nguyên nhân biến thiên của xét nghiệm. Nhìn trên biểu đồ có thể thấy được độ lặp lại của xét nghiệm rất tốt so với độ biến thiên của xét nghiệm giữa các ngày (0.98% so với 3.4%), do đó có thể thấy được nguyên nhân chính gây ra hiện tượng CV cao của xét nghiệm Cholesterol là sự biến thiên giữa các ngày.



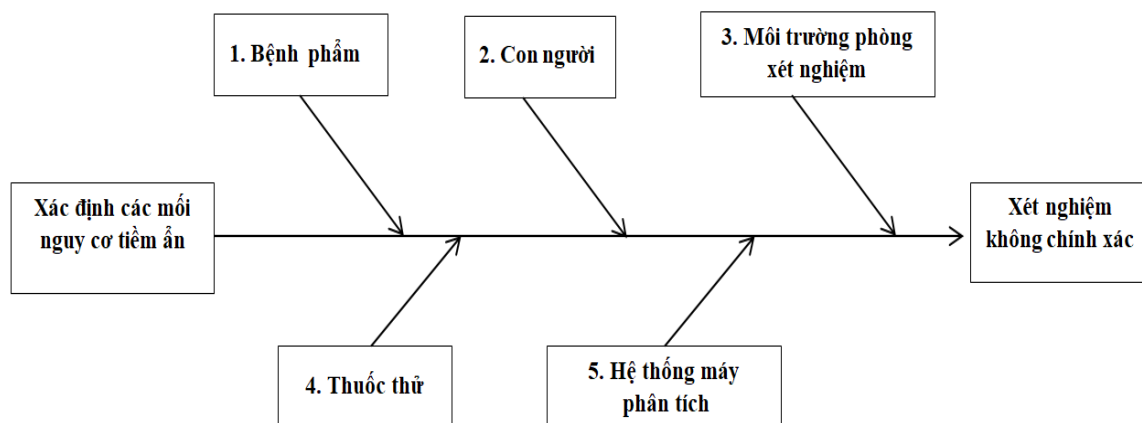
Hình 2: Biểu đồ Youden phân tích kết quả QC Cholesterol

(Đường màu đỏ: độ lặp lại. Đường màu xanh: độ biến thiên giữa các ngày.)

Bảng 2: Điểm Sigma của các xét nghiệm qua các giai đoạn

Xét nghiệm	Mức QC	TEa	Giai đoạn 1	Giai đoạn 2	Giai đoạn 3	Giai đoạn 4
			Sigma	Sigma	Sigma	Sigma
GLU	1	10	3.24	5.72	6.21	6.26
	2	10	3.10	4.89	6.67	6.62
Ure	1	15.55	2.77	4.91	6.33	6.43
	2	15.55	2.92	5.32	6.70	8.29
CRE	1	15	4.39	4.63	5.33	5.76
	2	15	6.12	6.64	6.87	6.78
CHO	1	10	1.85	3.55	6.82	6.12
	2	10	1.82	3.90	6.62	6.72
TRI	1	25	8.83	12.85	10.33	9.26
	2	25	8.48	12.52	9.78	13.07
AST	1	20	4.78	6.71	6.03	6.33
	2	20	4.38	6.39	6.25	8.98
ALT	1	20	5.25	5.87	6.26	6.46
	2	20	5.07	6.72	6.81	6.61
GGt	1	20	7.57	10.98	7.96	10.15
	2	20	7.86	11.42	12.91	11.83
UA	1	17	4.91	8.61	14.14	15.22
	2	17	4.98	9.23	14.53	14.61
BIL T	1	20	3.07	6.84	6.97	8.87
	2	20	6.41	9.36	10.83	9.92
Số mức trên 6 Sigma			6	12	19	19
Số mức dưới 3 sigma			4	0	0	0

Sử dụng biểu đồ xương cá Ichikawa để phân tích nguyên nhân dẫn đến hiện tượng biến thiên kết quả QC giữa các ngày cao cho xét nghiệm Cholesterol và các xét nghiệm khác.



Hình 3: Biểu đồ phân tích xương cá

Sau khi phân tích biểu đồ xương cá Ichikawa 5 thành phần theo hướng dẫn IQCP của CLIA, nhóm đảm bảo chất lượng của khoa nhận thấy rằng một số nguyên nhân có thể dẫn đến hiện tượng biến thiên kết quả QC giữa các ngày cao. Từ các nguyên nhân: mẫu, người sử dụng, hóa chất, thiết bị và môi trường phân tích và tìm ra các giải pháp khắc phục.

Giai đoạn 2: từ 21/03/2020 đến 06/05/2020, từ các kết quả đạt được ở giai đoạn 1 và dựa vào phân tích biểu đồ xương cá Ichikawa 5 thành phần để đưa ra các cải tiến phù hợp. Đồng thời áp dụng chặt chẽ quy trình kiểm soát hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm chuẩn, tăng cường giám sát bảo dưỡng, thay thế vật tư tiêu hao.

Tương tự như giai đoạn một, kết thúc giai đoạn 2, dữ liệu được thu thập và phân tích, và đưa ra cải tiến. Kết quả Sigma các giai đoạn được thể hiện ở hình 4.

So với giai đoạn 1, đã có 5 xét nghiệm cả 2 mức QC đạt trên 6 Sigma, 2 xét nghiệm có 1 mức QC trên 6 Sigma và không có điểm Sigma nào dưới 2.

Giai đoạn 3: (từ 16/05/2020 đến 15/06/2020) tiếp tục duy trì như giai đoạn 2 và cải tiến tăng cường tần suất bảo dưỡng dựa vào số lượng mẫu:

- Rửa W1 (rửa hàng ngày bằng dung dịch Wash solution): từ 1 lần vào cuối giờ

chiều lên 2 lần vào đầu giờ sáng và cuối giờ chiều hàng ngày.

- Rửa W2 (hàng tuần bằng dung dịch HCl.N hoặc Cleaning solution 10%): từ 1 lần vào chiều thứ 6 lên 2 lần vào chiều thứ 3 và chiều thứ 6 hàng tuần.

Kết quả so với giai đoạn 2, có 9/10 xét nghiệm có cả 2 mức QC đạt trên 6 Sigma, và không có xét nghiệm nào có điểm Sigma dưới 4.

Giai đoạn 4: (từ 15/06/ đến hết tháng 08/2020) kiểm soát và duy trì quản lý chất lượng như giai đoạn 3. So với giai đoạn 3 kết quả hầu như không có nhiều biến đổi.

IV. BÀN LUẬN

So sánh điểm Sigma giữa các giai đoạn có thể thấy được điểm Sigma đã được nâng cao qua mỗi giai đoạn, thể hiện qua số xét nghiệm có cả 2 mức QC đều đạt trên mức 6 Sigma tăng lên (2 xét nghiệm ở giai đoạn 1,

5 xét nghiệm ở giai đoạn 2, và đặc biệt giai đoạn 3 có 9 xét nghiệm cả 2 mức QC đều trên 6 Sigma và không có xét nghiệm nào có điểm Sigma dưới 4).

Điểm Sigma tăng lên rõ rệt nhất là sau khi áp dụng cải tiến lần 1- tức ở giai đoạn 2, giai đoạn thực hiện cải tiến trong quy trình kiểm soát hóa chất, chất chuẩn, chất kiểm chuẩn, và tăng cường giám sát bảo dưỡng, vệ sinh máy và thay thế vật tư tiêu hao.

Với xét nghiệm Cholesterol, khi chưa có bất kỳ hành động cải tiến nào cả 2 mức QC đều có điểm Sigma dưới 2, sau khi thực hiện nhiều biện pháp cải tiến ở giai đoạn 2 và giai đoạn 3 thì điểm Sigma của xét nghiệm này đã trên 6 Sigma.

Đa số các xét nghiệm sau giai đoạn 3 đã đạt điểm 6 Sigma giúp đánh giá nội kiểm đơn giản và tiết kiệm thời gian hơn chỉ bằng một quy tắc 1_{3s} của Westgard.

Phòng xét nghiệm khoa Sinh hóa bệnh viện TWQĐ 108 đang tiếp tục tiến hành các bước như đánh giá hiệu quả của tăng tần suất Calibration các xét nghiệm... nhằm đạt được thang điểm Sigma cao và bền vững hơn.

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu áp dụng phương pháp tiếp cận Sigma để nâng cao chất lượng xét nghiệm tại khoa Sinh hóa bệnh viện TWQĐ 108 cho thấy, đây là một phương pháp rất

hiệu quả trong việc nâng cao chất lượng xét nghiệm, giảm thời gian xử lý lỗi, giảm chi phí hóa chất và sinh phẩm phục vụ nội kiểm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bingfei Zhou^{1,2} | Yi Wu¹ | Hanlin He³ | Cunyan Li^{1,2} | Liming Tan¹ | Youde Cao^{1,2} Practical application of Six Sigma management in analytical biochemistry processes in clinical settings (Link: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/jcla.23126>)
2. CLIA Requirements for Analytical Quality- Westgard (www.westgard.com/clia.htm)
3. Jame Westgard Basic Quality Management Systems ([www.westgard.com/westgard Sigma rule](http://www.westgard.com/westgard%20Sigma%20rule))
4. Tamer C. Inal¹ | Ozlem Goruroglu Ozturk¹ | Filiz Kibar² | Salih Cetiner³ | Selcuk Matyar⁴ | Gulcin Daglioglu³ Lean six Sigma methodologies improve clinical laboratory efficiency and reduce turnaround times (Link: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6817099/pdf/JCLA-32-e22180.pdf>)
5. Westgard JO, Westgard SA (2014) Basic Quality Management Systems. Madison, Wisconsin, Westgard QC.
6. Westgard JO (2017) Kiểm soát chất lượng phòng xét nghiệm. Nhà xuất bản Khoa học và kỹ thuật.

KHẢO SÁT GIÁ TRỊ CỦA XÉT NGHIỆM TSI TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH CƯỜNG GIÁP DO THAI KỲ

Lương Quỳnh Hoa*, Hoàng Kim Ước*, Nguyễn Thị Tân*

TÓM TẮT

TSI (Thyroid Stimulating Immunoglobulin) là xét nghiệm định lượng kháng thể kích thích tuyến giáp TRSAb (Thyrotropin Receptor Stimulating Antibody), vì vậy đặc hiệu hơn xét nghiệm TRAb trong chẩn đoán bệnh Basedow, có giá trị chẩn đoán phân biệt bệnh Basedow ở phụ nữ mang thai và bệnh cường giáp do thai kỳ. **Mục tiêu:** Khảo sát giá trị chẩn đoán phân biệt của xét nghiệm TSI ở bệnh nhân cường giáp do thai kỳ với bệnh nhân Basedow mang thai. **Đối tượng & phương pháp:** Mô tả, theo dõi dọc trên 30 bệnh nhân cường giáp do thai kỳ điều trị nội trú tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương từ 03/2018 – tháng 12/2019. **Kết quả:** 30 bệnh nhân cường giáp do thai kỳ có kết quả TSI nhỏ hơn 0,55 IU/L và kết quả TRAb lớn hơn 1,58 IU/L. **Kết luận:** TSI có giá trị chẩn đoán đặc hiệu hơn so với xét nghiệm TRAb trong chẩn đoán bệnh cường giáp do thai kỳ.

Từ khóa: TSI, TRAb, cường giáp do thai kỳ, Basedow.

SUMMARY

THE VALUES OF TSI TEST IN THE DIAGNOSIS OF PREGNANT-INDUCED HYPERTHYROIDISM.

The TSI test is a quantitative test for antibodies that stimulates the thyroid gland

TRSAb, so it is more specific than the TRAb test in the diagnosis of Basedow disease, and it is valuable for distinguishing Basedow disease in pregnant women and pregnant-induced hyperthyroidism. **Objectives:** to indentify differential diagnostic value of TSI assay in pregnant-induced hyperthyroidism. **Subjects & Methods:** longitudinal study of 30 pregnant-induced hyperthyroidism were diagnosed at the National Hospital of Endocrinology from 3/2018 to 12/2019. **Results:** TSI levels in pregnant-induced hyperthyroidism patients negative (< 0,55 IU/L) (n=30) and TRAb levels in pregnant-induced hyperthyroidism patients positive (> 1,58 IU/L) (n=30). **Conclusions:** TSI test is more specific than the TRAb test in the diagnosis of pregnant-induced hyperthyroidism.

Keywords: TSI, TRAb, pregnant-induced hyperthyroidism, Basedow.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Cường giáp thai kỳ là một bệnh tương đối phổ biến ở phụ nữ mang thai, nguyên nhân do tăng cao giá trị β HCG trong máu của những phụ nữ đang mang thai gây ra tình trạng nhiễm độc giáp thai kỳ. Cường giáp thai kỳ là một bệnh cường giáp thoáng qua, không cần điều trị bằng thuốc kháng giáp trạng và không liên quan đến các kết quả thai kỳ bất lợi [1] nhưng nhiều khi lại rất khó phân biệt với bệnh Basedow. Bệnh Basedow là bệnh mắc khá phổ biến ở phụ nữ trong độ tuổi sinh sản (0,5% - 1,0%) trong đó có phụ nữ mang thai [2]. Bệnh gây ra các rối loạn,

*Bệnh viện Nội tiết Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Lương Quỳnh Hoa

Email: hoa_luongquynh@yahoo.com

Ngày nhận bài: 5.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 15.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

ảnh hưởng đến chuyển hóa, tim mạch và nhiều biến chứng nguy hiểm nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời. Để chẩn đoán phân biệt 2 bệnh trên đôi khi gặp khó khăn vì các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng (xét nghiệm chức năng tuyến giáp, siêu âm...) gần giống nhau. TRAb là xét nghiệm phát hiện cả 3 loại tự kháng thể xuất hiện trong bệnh Basedow: TRSAb có tác dụng kích thích, TRBAbs có tác dụng ức chế và TRNAB không ảnh hưởng đến hoạt động chức năng của tế bào tuyến giáp. Xét nghiệm TRAb định lượng cả 3 loại kháng thể nên có thể cho kết quả dương tính giả trong một số trường hợp dẫn tới sai sót trong chẩn đoán và điều trị cho bệnh nhân. Để khắc phục được nhược điểm trên, xét nghiệm TSI là xét nghiệm chỉ định lượng kháng thể kích thích tuyến giáp TRSAb, vì vậy đặc hiệu hơn xét nghiệm TRAb trong chẩn đoán bệnh Basedow, có giá trị chẩn đoán phân biệt bệnh Basedow ở phụ nữ mang thai và bệnh cường giáp do thai kỳ. Ở Việt Nam hiện nay chỉ có rất ít nghiên cứu về giá trị của xét nghiệm TSI trong chẩn đoán bệnh cường giáp do thai kỳ. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: Khảo sát giá trị của xét nghiệm TSI trong chẩn đoán phân biệt bệnh nhân cường giáp do thai kỳ với bệnh nhân mắc Basedow mang thai.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng và thời gian nghiên cứu

– Đối tượng nghiên cứu: 30 bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định cường giáp thai kỳ (bệnh nhân có thai có tình trạng nhiễm độc

giáp, xét nghiệm TSI âm tính), các bệnh nhân không điều trị thuốc kháng giáp trạng, được theo dõi lâm sàng và xét nghiệm, chức năng tuyến giáp trở về bình giáp từ sau tuần thứ 20 của thai kỳ tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương.

– Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân

- + Được chẩn đoán xác định có thai.
- + Được chẩn đoán cường giáp thai kỳ.
- + Có xét nghiệm TSI và TRAb; xét nghiệm TSI âm tính.

+ Đồng ý tham gia nghiên cứu.

– Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân không tiếp tục tham gia nghiên cứu, các vấn đề liên quan đến đình chỉ thai kỳ.

2. Phương pháp nghiên cứu

– Nghiên cứu mô tả theo dõi dọc.

– Thiết kế nghiên cứu: chọn 30 bệnh nhân được chẩn đoán xác định cường giáp do thai kỳ, loại trừ tất cả các nguyên nhân thực thể gây ra cường giáp khác, bệnh nhân được khai thác thông tin chung (tuần thai, số lần mang thai, số thai, tiền sử mắc bệnh tuyến giáp), triệu chứng cơ năng, triệu chứng lâm sàng, siêu âm tuyến giáp, làm xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp (FT3, FT4, TSH), xét nghiệm TRAb, xét nghiệm TSI có kết quả âm tính. Tất cả các bệnh nhân không điều trị thuốc kháng giáp trạng, được theo dõi các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng cho đến khi các triệu chứng lâm sàng hết và xét nghiệm trở về bình thường.

– Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu khi vào viện

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu (khi vào viện)

Đặc điểm		Kết quả
Tuổi trung bình $\bar{X} \pm SD$ (tuổi)		29,10 $\pm$ 4,75
Số tuần thai trung bình $\bar{X} \pm SD$ (tuần thai)		13,23 $\pm$ 5,72
Lần mang thai	Lần đầu	9 (30%)
	Lần ≥ 2	21 (70%)
Số thai	1	27 (90%)
	2	2 (6,7%)
	3	1 (3,3%)
Tiền sử mắc Basedow		5 (16,67%)
Tiền sử mắc bệnh tuyến giáp khác		6 (20%)

Nhận xét: Tuổi trung bình của nhóm đối tượng NC là 29,10 $\pm$ 4,75 tuổi. Số tuần mang thai trung bình là 13,23 $\pm$ 5,72 tuần. 70% bệnh nhân mang thai con lần 1. 70% bệnh nhân mang 1 thai. 16,67% bệnh nhân có tiền sử mắc Basedow trước đó (đã điều trị khỏi) và 6 bệnh nhân có tiền sử mắc 1 số bệnh tuyến giáp khác như bướu nhân tuyến giáp.

2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu khi vào viện

Bảng 2. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng (khi vào viện)

Đặc điểm lâm sàng	N	%	Đặc điểm lâm sàng	N	%
Mất ngủ	3	10,0	Có nhân tuyến giáp	7	23,33
Hồi hộp/đánh trống ngực	11	36,67	Tiếng thổi tại tuyến giáp	2	6,67
Run chân tay	10	33,33	Run tay	12	40,00
Sút cân	11	36,67	Nhịp tim nhanh (>90 tần số/phút)	26	86,67
Nghén nhiều	20	66,67	Lòi mắt	0	0
Nôn/buồn nôn	19	63,33	Phù niêm trước xương chày	0	0
Rối loạn tiêu hóa	2	6,67	Ngón tay dài trắng	0	0
Số cân sút trung bình	4,23 $\pm$ 2,32 (2-10)				
Nhịp tim trung bình	101,04 $\pm$ 9,69				

Nhận xét: Các triệu chứng cơ năng hay gặp nhất ở nhóm đối tượng nghiên cứu là nghén nhiều, nôn/buồn nôn, sút cân, hồi hộp/đánh trống ngực, run tay chân ... Các triệu chứng thực thể thường gặp là nhịp tim nhanh, run tay, có nhân tuyến giáp...

Bảng 3. Phân độ và đặc điểm bướu cổ (khi vào viện)

Mức độ Bướu cổ	n	%	Đặc điểm Bướu cổ	n	%
Bướu cổ độ IA	2	6,7	Bướu to lan tỏa	24	80,0
Bướu cổ độ IB	26	86,7	Nhân thùy phải tuyến giáp	1	3,3
Bướu cổ độ II	2	6,7	Nhân 2 thùy tuyến giáp	5	16,7

Nhận xét: 86,7% bệnh nhân có tuyến giáp to độ IB. 80% bệnh nhân có tuyến giáp to lan tỏa, còn lại 6 bệnh nhân tuyến giáp to do có nhân tuyến giáp.

Bảng 4. Giá trị xét nghiệm FT₃, FT₄, TSH (khi vào viện)

Chỉ số Xét nghiệm	Trung bình $\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Thấp nhất	Cao nhất
FT ₃ (pmol/L)	9,08 $\pm$ 5,08	7,30	2,91	26,94
FT ₄ (pmol/L)	31,43 $\pm$ 19,61	24,90	12,40	100,00
TSH (U/mL)	0,028 $\pm$ 0,013	0,03	0,01	0,07

Nhận xét: Giá trị trung bình FT₃ và FT₄ đều tăng (FT₃: 9,08 $\pm$ 5,08 pmol/L, FT₄: 31,43 $\pm$ 19,61 pmol/L). Giá trị trung bình TSH giảm là 0,035 $\pm$ 0,041 U/mL.

Tất cả các bệnh nhân đều có kết quả TSH dưới 0,1 U/mL.

Bảng 5. Đặc điểm chức năng tuyến giáp (khi vào viện)

Đặc điểm	n	%
Nhiễm độc giáp rõ (FT ₃ /FT ₄ tăng)	24	80
Nhiễm độc giáp dưới lâm sàng (FT ₃ , FT ₄ bình thường)	6	20

Nhận xét: Có 24 bệnh nhân (80%) nhiễm độc giáp rõ (tăng kết quả FT₃ hoặc FT₄ hoặc cả 2 chỉ số, TSH dưới 0,1 IU/L). Có 6 bệnh nhân (20%) nhiễm độc giáp dưới lâm sàng (kết quả xét nghiệm FT₃, FT₄ bình thường, chỉ có TSH dưới 0,1 IU/L).

3. Xét nghiệm TRAb và TSI trong chẩn đoán bệnh cường giáp thai kỳ khi vào viện

Bảng 6: Giá trị xét nghiệm TRAb và TSI

	TSI < 0,1 (UI/L)	0,1 < TSI < 0,55 (UI/L)
TRAb < 1,58 (UI/L)	0 (0%)	0 (0%)
TRAb > 1,58 (UI/L)	22 (73,33%)	8 (26,67%)
TRAb trung bình (nhỏ nhất-lớn nhất)	2,75 $\pm$ 0,67 (n=22) (1,74 – 4,29)	4,53 $\pm$ 2,47 (n=8) (2,78 – 10,38)

Nhận xét:

– Tất cả bệnh nhân nghiên cứu đều có kết quả xét nghiệm TRAb lớn hơn ngưỡng giá trị tham chiếu 1,58 UI/L. Kết quả TRAb trung bình là 3,23 $\pm$ 1,56 UI/L, thấp nhất là 1,74 UI/L, cao nhất là 10,38 UI/L.

– Có 73,33% (22) bệnh nhân có kết quả

TSI dưới ngưỡng phát hiện (<0,1 UI/L). 26,67 % (8) bệnh nhân có xét nghiệm TSI nằm trong khoảng giá trị 0,1 – 0,55 UI/L.

– Giá trị TRAb trung bình ở nhóm TSI nhỏ 0,1 UI/L thấp hơn so với nhóm TSI từ 0,1 – 0,55 UI/L với p < 0,05.

4. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân khi ra viện

- Số tuần thai trung bình khi ra viện: $20,46 \pm 5,68$ (tuần).
- Lâm sàng: các triệu chứng cơ năng và thực thể của hội chứng cường giáp âm tính.
- Cận lâm sàng: chức năng tuyến giáp của 30 bệnh nhân về bình giáp (FT3/FT4/TSH trong giới hạn bình thường). Kết quả trung bình FT3: $5,26 \pm 1,20$ pmol/L, FT4: $15,60 \pm 3,41$ pmol/L, TSH: $2,20 \pm 1,08$ U/mL.

IV. BÀN LUẬN

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Số tuần thai: thời điểm khởi phát và biểu hiện rầm rộ các triệu chứng lâm sàng của nhóm đối tượng nghiên cứu thường quanh tuần thai thứ 10 ($13,23 \pm 5,72$ tuần), phù hợp với cơ chế sinh bệnh học của bệnh.

Các triệu chứng xuất hiện trong giai đoạn nửa đầu thai kỳ, sau đó tự thuyên giảm dần, nguyên nhân là do sự thay đổi và đáp ứng quá mức với sự tăng cao của β HCG trong cơ thể người phụ nữ khi mang thai chứ không phải do bệnh nội tại của tuyến giáp gây ra. Số tuần thai trung bình khi ra viện là $20,46 \pm 5,68$ (tuần). Bệnh nhân hết triệu chứng sớm nhất vào tuần thai thứ 15 và muộn nhất vào tuần thai thứ 26. Đa số các bệnh nhân hết triệu chứng xoay quanh tuần thai thứ 20, các biểu hiện cường giáp kéo dài sau tuần thai 20 chỉ xuất hiện ở 4 bệnh nhân – điều này có thể giải thích do tình trạng đa thai, hoặc có yếu tố tự miễn tiềm tàng trong huyết thanh...

Số thai: Số thai được chứng minh có liên quan trực tiếp tới sự tăng β HCG cao và kéo dài, nguyên nhân gây ra các biểu hiện triệu chứng cường giáp trên lâm sàng.

Tiền sử mắc Basedow: Một số bệnh nhân có tiền sử mắc một số bệnh tuyến giáp như

basedow (đã điều trị khỏi), bướu đa nhân, bướu đơn nhân...

2. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Các triệu chứng lâm sàng gặp nhiều nhất là nghén nhiều, nôn/buồn nôn, sút cân, hồi hộp/đánh trống ngực, run tay chân, nhịp tim nhanh, run tay ... Một số triệu chứng ít gặp hơn như mất ngủ, rối loạn tiêu hóa, mệt mỏi... Các dấu hiệu ngoại giáp (lồi mắt, phù niêm trước xương chày, ngón tay dùi trống) đều âm tính. Các dấu hiệu ngoại giáp có độ đặc hiệu cao để chẩn đoán mắc Basedow, tuy nhiên khi âm tính cũng chưa thể chẩn đoán loại trừ do tỷ lệ gặp của các triệu chứng này không cao.

Đa số các bệnh đều có từ một đến nhiều biểu hiện của hội chứng nhiễm độc giáp (lo lắng, run tay chân, rối loạn dung nạp nhiệt, sút cân hoặc tăng cân nhẹ, nhân độc tuyến giáp...). Có 11/30 bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu có triệu chứng sút cân, số cân sút trung bình là $4,23 \pm 2,32$ kg, cá biệt có bệnh nhân sút tới 10 kg. Đây là một trường hợp bệnh nhân nữ, 24 tuổi, không có tiền sử basedow, mang thai lần đầu, 13 tuần, mang thai ba, có kết quả xét nghiệm: FT3 17,5 pmol/L; FT4 77,1 pmol/L; TSH 0,03 pmol/L, xét nghiệm β HCG: 493433 UI/L. Biểu hiện lâm sàng rầm rộ càng đòi hỏi một chẩn đoán và điều trị chính xác, ở trường hợp thai ba này, bệnh nhân được theo dõi – lâm sàng và cận lâm sàng trở về bình thường về ở tuần thai thứ 26.

Tuyến giáp của nhóm cường giáp do thai kỳ thường to (độ IB), to lan tỏa (80%), tương đối đều, mật độ có thể mềm, đàn hồi hoặc hơi cứng, có thể xuất hiện tiếng thổi tâm thu tại bướu.

Như vậy có thể thấy các dấu hiệu lâm sàng và siêu âm thường không đặc hiệu để

chẩn đoán nguyên nhân gây ra tình trạng cường giáp.

3. Đặc điểm cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu. Khi mang thai, nồng độ TSH trong huyết thanh thay đổi phụ thuộc vào số tuần thai. Tất cả các bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu đều có kết quả TSH $< 0,1$ U/mL. Kết quả này cho phép chẩn đoán bệnh nhân mắc cường giáp. Kết quả nghiên cứu giống với kết quả của tác giả Gietka-Czernel: NC 35 bệnh nhân nhiễm độc giáp thai đều có kết quả TSH dưới $0,1$ U/mL [3].

Giá trị xét nghiệm FT3 và FT4 trung bình của nhóm bệnh nhân nghiên cứu tăng cao hơn so với giá trị tham chiếu. Có 4 bệnh nhân có mức tăng chỉ số FT3/FT4 rất cao (FT3 > 15 pmol/L, FT4 > 50 pmol/L) đặc biệt có 1 bệnh nhân có kết quả xét nghiệm FT3: 26,94 pmol/L, FT4: 100 pmol/L, TSH: 0,01 U/mL (bệnh nhân này có kết quả TSI âm tính, TRAb 2,45 UI/L). Tác giả Gietka-Czernel NC 35 bệnh nhân cường giáp thai kỳ cho kết quả 19/35 bệnh nhân (54%) có tăng chỉ số FT3/FT4 [3].

80% bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm độc giáp lâm sàng (FT3/FT4 tăng, TSH giảm); 20% bệnh nhân nhiễm độc giáp dưới lâm sàng (FT3, FT4 bình thường, chỉ có TSH giảm). Tác giả J.Y.L. Tan và CS (2002) nghiên cứu 39 bệnh nhân nhiễm độc giáp thai kỳ có hội chứng nghén nặng đều có giá trị FT4 tăng cao và trở về bình thường sau tuần thai thứ 15 [4].

Xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp phản ánh mức độ cường giáp của bệnh nhân. Mặc dù bệnh nhân có thể biểu hiện hội chứng cường giáp nặng hoặc rất nặng trên lâm sàng và xét nghiệm nhưng chưa đủ bằng chứng để khẳng định chắc chắn bệnh nhân mắc Basedow.

4. Xét nghiệm TRAb và TSI trong chẩn

đoán bệnh cường giáp thai kỳ. TRAb là một xét nghiệm được sử dụng khá phổ biến để chẩn đoán bệnh Basedow. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tất cả bệnh nhân nghiên cứu đều có kết quả TRAb lớn hơn 1,58 UI/L. Có 2 trường hợp có kết quả TRAb lớn hơn 5 UI/L, giá trị TRAb cao nhất là 10,38 UI/L. Trong khi đó, tất cả bệnh nhân cường giáp thai kỳ trong nhóm nghiên cứu đều có kết quả TSI nhỏ hơn 0,55 IU/L – là ngưỡng chẩn đoán bệnh Basedow, điều này cho phép loại trừ chẩn đoán các bệnh nhân mắc Basedow.

Do đặc điểm của nguyên lý phương pháp định lượng TRAb là định lượng cả 3 thành phần: TRSAb, TRBAbs và TRNAb nên trong những trường hợp trên độ đặc hiệu của xét nghiệm bị hạn chế, dẫn đến kết quả dương tính giả. Trong nhóm nghiên cứu, tất cả bệnh nhân đều có kết quả TRAb tăng nhưng có thể không tăng thật sự thành phần TRAb có tác dụng kích thích thụ thể TSH tuyến giáp TRSAb hoặc tỷ lệ TRSAb/TRBAbs < 1 , do vậy TRAb dương tính (với ngưỡng chẩn đoán 1,58 IU/L- giá trị tham chiếu của người trưởng thành khỏe mạnh) chưa đủ để chẩn đoán mắc Basedow trên đối tượng bệnh nhân mang thai có hội chứng nhiễm độc giáp.

Giá trị TRAb tăng cao hơn 3 – 4 lần so với giá trị trên của ngưỡng bình thường (khoảng 5 IU/L) thường được khuyến cáo sử dụng để tiên lượng khả năng mắc bệnh lý tuyến giáp ở bào thai và trẻ sơ sinh [5].

Trong 30 bệnh nhân nghiên cứu có 22 bệnh nhân (73,33%) có kết quả TSI dưới ngưỡng phát hiện. Giá trị TSI dưới 0,1 UI/L cho phép loại trừ chẩn đoán bệnh Basedow cho nhóm này.

Như vậy mặc dù có triệu chứng lâm sàng, xét nghiệm chức năng tuyến giáp, đặc điểm siêu âm và xét nghiệm TRAb $> 1,58$ IU/L đều hướng tới chẩn đoán mắc Basedow

nhưng dựa vào kết quả TSI âm tính khẳng định hội chứng nhiễm độc giáp ở nhóm nghiên cứu là do thai kỳ, không cần điều trị thuốc kháng giáp trạng, sau quá trình theo dõi các triệu chứng lâm sàng âm tính và kết quả xét nghiệm chức năng tuyến giáp trở về bình thường.

8 bệnh nhân có kết quả TSI nằm trong khoảng 0,1 – 0,55 UI/L. Tất cả bệnh nhân có tiền sử mắc Basedow (đã điều trị khỏi) đều nằm trong nhóm 8 bệnh nhân này. Kết quả TRAb trung bình của 8 bệnh nhân này cũng cao hơn so với nhóm còn lại ($4,53 \pm 2,47$ so với $2,75 \pm 0,67$; $P < 0,05$).

Qua đó có thể thấy, ở những bệnh nhân này, việc chỉ định xét nghiệm TSI là cần thiết để loại trừ được chẩn đoán Basedow, đặc biệt là những bệnh nhân có tiền sử Basedow trước đó. Nếu dựa vào tiền sử, triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả TRAb, những bệnh nhân này có thể sẽ được chẩn đoán và điều trị theo hướng Basedow, dẫn tới điều trị không chính xác và ảnh hưởng bất lợi tới thai nhi. Ngoài ra, nên làm thêm xét nghiệm A-TPO để phát hiện những bệnh lý viêm giáp tự miễn khác ở nhóm đối tượng này.

5. Theo dõi điều trị

Dựa vào kết quả xét nghiệm TSI âm tính, nhóm đối tượng nghiên cứu được chẩn đoán xác định cường giáp do thai kỳ, được theo dõi các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng. Khi hết triệu chứng lâm sàng, bệnh nhân được xét nghiệm FT3, FT4, TSH để kiểm tra tình trạng chức năng tuyến giáp. Khi ra viện, các triệu chứng của hội chứng cường giáp âm tính, chức năng tuyến giáp về bình giáp (FT3/FT4/TSH bình thường, kết quả trung bình FT3: $5,26 \pm 1,20$ pmol/L, FT4: $15,60 \pm 3,41$ pmol/L, TSH: $2,20 \pm 1,08$ U/mL). Số tuần thai trung bình khi ra viện:

$20,46 \pm 5,68$ (tuần). Bệnh nhân hết triệu chứng sớm nhất vào tuần thai thứ 15 và muộn nhất vào tuần thai thứ 26.

V. KẾT LUẬN

TSI có giá trị chẩn đoán đặc hiệu hơn so với xét nghiệm TRAb trong chẩn đoán bệnh cường giáp do thai kỳ.

Xét nghiệm TRAb về cơ bản vẫn là xét nghiệm có giá trị trong chẩn đoán bệnh Basedow trên đối tượng người trưởng thành với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Tuy nhiên, trong một số trường hợp nhiễm độc giáp đặc biệt như phụ nữ mang thai, đặc biệt là có tiền sử mắc Basedow trước đó, cần xem xét lại ngưỡng giá trị chẩn đoán cho bệnh nhân, tránh những giá trị dương tính giả gây ra nhầm lẫn trong chẩn đoán và điều trị bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Casey, B.M., et al. (2006). Subclinical hyperthyroidism and pregnancy outcomes. *Obstetrics & Gynecology*,. **107**(2): p. 337-341.
2. Carlé, A., et al., (2011). Epidemiology of subtypes of hyperthyroidism in Denmark: a population-based study. *European Journal of Endocrinology*,. **164**(5): p. 801-809.
3. Gietka-Czernel, M., et al., (2014). Hyperthyroidism during pregnancy—the role of measuring maternal TSH receptor antibodies and foetal ultrasound monitoring. *Endokrynologia Polska*,. **65**(4): p. 259-268.
4. Tan, J.Y., et al., (2002). Transient hyperthyroidism of hyperemesis gravidarum. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*,. **109**(6): p. 683-688.
5. Mortimer, R.H., et al., (1990). Graves' disease in pregnancy: TSH receptor binding inhibiting immunoglobulins and maternal and neonatal thyroid function. *Clinical endocrinology*,. **32**(2): p. 141-152.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ IGE HUYẾT TƯƠNG VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN TRÊN BỆNH VIÊM DA CƠ ĐỊA

Nguyễn Thị Mỹ Lệ*, Nguyễn Thị Bình Minh*,
Đinh Thị Lê Thành*, Vũ Thị Dương Liễu*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Viêm da cơ địa (VDCĐ) là bệnh viêm da mạn tính gặp ở mọi lứa tuổi, hay tái phát, tỷ lệ bệnh ngày càng gia tăng ở tất cả các nước trên thế giới. Cơ chế bệnh sinh cho thấy sự kết hợp nhiều yếu tố trong đó có vai trò của IgE huyết tương. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định nồng độ IgE và một số yếu tố liên quan trên bệnh VDCĐ. **Phương pháp nghiên cứu:** mô tả cắt ngang trên 234 bệnh nhân điều trị VDCĐ tại khoa Nội, bệnh viện E. **Kết quả:** Giá trị trung vị nồng độ IgE huyết tương trên bệnh nhân VDCĐ là 264,7 IU/mL, có mối liên quan với tuổi, tiền sử mắc bệnh cơ địa khác và mức độ nặng của bệnh. Có sự tương quan thuận rất chặt giữa nồng độ IgE huyết tương với thang điểm SCORAD ($r=0,756$, $p<0,001$) và tương quan mức độ trung bình với nồng độ bạch cầu ái toan ($r=0,315$, $p<0,001$). **Kết luận:** Định lượng IgE huyết tương là một xét nghiệm hữu ích góp phần chẩn đoán và đánh giá mức độ nặng của bệnh viêm da cơ địa.

Từ khóa: IgE, viêm da cơ địa, thang điểm SCORAD.

SUMMARY

RESEARCH PLASMA IGE CONCENTRATION AND SOME

*Bệnh viện E

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Mỹ Lệ

Email: Elinguyen.nguyenmyle@gmail.com

Ngày nhận bài: 20.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 25.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

RELATED ELEMENT IN PATIENTS WITH ATOPIC DERMATITIS

Objective: Atopic dermatitis (AD) is chronic relapsing skin condition found at all age with an increasing number of patients all over the world. Symptoms shows the combination of many factors in which plasma IgE plays an important role. The objective of this study is to determine plasma IgE level and investigate some IgE-related factors in patients with atopic dermatitis. **Material and Method:** A cross-sectional descriptive study with 234 atopic dermatitis patients treated at internal medicine department, E hospital. **Result:** The plasma IgE median of atopic dermatitis is 264,7 IU/mL. There is an association between plasma IgE levels with ages, the history of other atopy disease and the severity of the disease. There is a positive correlation between plasma Ig E level with the SCORAD index ($r=0.756$, $p<0.001$) and moderate correlation with eosinophil concentration ($r=0.315$, $p<0.001$). **Conclusion:** The measurement of plasma IgE level is a good laboratory indicator for the detection of atopic dermatitis and its severity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm da cơ địa là bệnh viêm da mạn tính tái phát, liên quan đến cơ địa dị ứng. Bệnh khởi phát sớm với hơn 60% trường hợp xuất hiện trong năm đầu tiên của cuộc sống và 40% phát triển đến khi trưởng thành. Tỷ lệ hiện mắc 7-20% dân số [7]. Có tới 80% bệnh nhân VDCĐ có nồng độ IgE trong máu cao

[6]. Cơ chế tăng IgE trong VDCĐ do histamin tác động lên thụ thể H2 của bạch cầu, làm cho chức năng của bạch cầu suy yếu, giảm chuyển dạng lympho. Tế bào lympho mang thụ thể H2 có chức năng sản xuất yếu tố ức chế sản xuất IgE do histamin phát động, do vậy khi thiếu yếu tố này IgE được sản xuất tăng. Nhiều nghiên cứu cho thấy IgE tăng ở cả giai đoạn phát bệnh và lui bệnh có thể do tổng hợp IgE vẫn chưa trở về giới hạn bình thường mặc dù trên lâm sàng tổn thương da đã được cải thiện. Sự tổng hợp quá mức IgE trong VDCĐ liên quan đến “gen” cơ địa và rối loạn miễn dịch [6]. Tuy nhiên vai trò của IgE trong cơ chế bệnh sinh của bệnh VDCĐ vẫn còn tiếp tục được bàn luận. Một vài tác giả cho rằng có mối liên quan giữa nồng độ IgE với mức độ nặng của bệnh nhưng vẫn chưa rõ ràng. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Nghiên cứu nồng độ IgE huyết tương và một số yếu tố khác trên bệnh viêm da cơ địa” với mục tiêu của nghiên cứu là xác định nồng độ IgE và một số yếu tố liên quan trên bệnh VDCĐ sẽ góp phần cung cấp thêm bằng chứng về vai trò IgE trong bệnh VDCĐ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 234 bệnh nhân VDCĐ điều trị nội trú tại khoa Nội bệnh viện E trong thời gian từ 12/2019 đến 6/2020

Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu:

Những bệnh nhân được chẩn đoán VDCĐ dựa trên theo tiêu chuẩn Hanifi & Raika năm 1980 (cần đạt ít nhất 3 tiêu chuẩn chính và 3 tiêu chuẩn phụ)

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân bị các bệnh ngoài da gây ngứa mà không phải VDCĐ, bệnh nhân đang điều trị thuốc mà tác dụng phụ là ngứa, bệnh nhân được chẩn đoán VDCĐ đang sử dụng corticoid.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang

Phương pháp thu thập và đánh giá kết quả: Bệnh nhân đủ tiêu chuẩn nghiên cứu được thu thập thông tin theo mẫu bệnh án nghiên cứu. Sau đó phân loại mức độ nặng của bệnh theo thang điểm SCORAD (Scoring Atopic Dermatitis). Độ nặng của bệnh được phân thành 3 mức, dựa vào SCORAD: Nhẹ: < 25 điểm; Vừa: từ 25 - 50 điểm; Nặng: > 50 điểm

Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu

- Định lượng nồng độ IgE huyết tương theo phương pháp điện hóa phát quang trên máy Cobas e601 của Roche

- Định lượng Zn bằng phương pháp so màu, đo điểm cuối trên máy AU 680 của Beckman Counter

- Xác định số lượng phần trăm bạch cầu ái toan trên máy DXH 800 của Beckman Counter

Phương pháp xử lý số liệu: Số liệu được thu thập và xử lý theo phần mềm SPSS22.0. Kết quả trình bày dưới dạng bảng biểu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Một số đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm		n	Tỷ lệ (%)
Giới	Nam	85	36,3
	Nữ	149	63,7
Nhóm tuổi	<20	15	6,4
	20-50	103	44,0

	>50	116	49,6
		$\bar{X} \pm SD$	
Tuổi (năm)		49,16 $\pm$ 20,03, Min = 12, Max = 92	
IgE (IU/mL)		264,7	

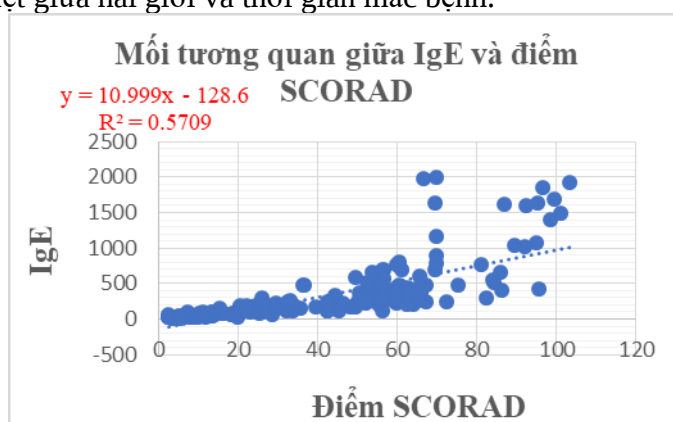
Nhận xét: - Tuổi trung bình các bệnh nhân nghiên cứu là 49,16 $\pm$ 20,03, cao nhất là 92 tuổi, ít tuổi nhất là 12 tuổi. Nhóm tuổi > 50 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (49,6 %), nhóm tuổi $\leq$ 20 tuổi chiếm tỷ lệ thấp nhất (6,4%).Giới nữ chiếm tỷ lệ cao hơn nam

- Giá trị trung vị của nồng độ IgE là 264,7 IU/mL

Bảng 3.2.Mối liên quan nồng độ IgE và một số yếu tố

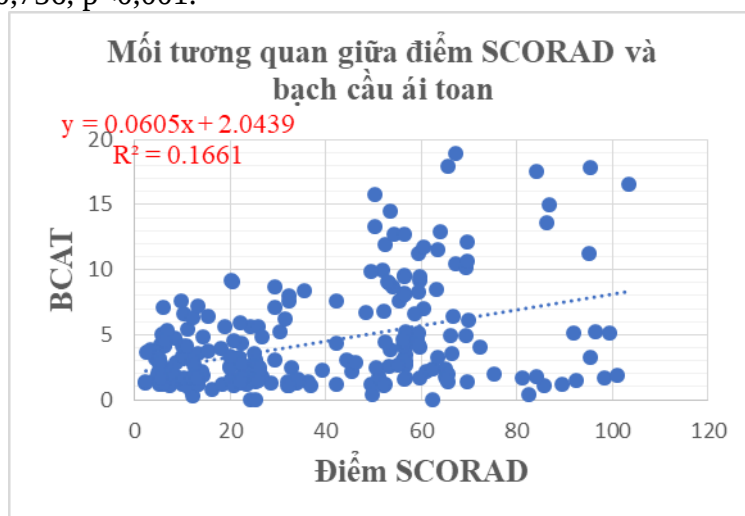
Các yếu tố		N	Nồng độ IgE (IU/mL)	P
Nhóm tuổi	< 20	15	1496, 43 $\pm$ 4207,16	0,001
	20-50	103	241,45 $\pm$ 316,97	
	>50	116	386,26 $\pm$ 806,21	
Giới	Nam	85	602,43 $\pm$ 1946,84	0,05
	Nữ	149	274,60 $\pm$ 444,47	
Thời gian mắc bệnh (tháng)	< 6	110	326,58 $\pm$ 766,55	0,34
	6-12	67	581,17 $\pm$ 2047, 60	
	>12	57	302,79 $\pm$ 408,5	
Tiền sử bệnh cơ địa khác	Có	112	400,2 $\pm$ 462.71	0,001
	Không	122	187, 23 $\pm$ 246,69	
Mức độ bệnh	Nhẹ	119	95,06 $\pm$ 81,01	0,0001
	Trung bình	62	283,52 $\pm$ 192,27	
	Nặng	53	1193,03 $\pm$ 2422,55	

Nhận xét: Nồng độ IgE huyết tương có sự khác biệt giữa các nhóm tuổi, cao nhất ở nhóm tuổi trẻ < 20 tuổi; giữa các mức độ bệnh theo thang điểm SCORAD, cao nhất ở nhóm mức độ nặng. Nồng độ IgE huyết tương cao hơn ở nhóm bệnh nhân có tiền sử bệnh cơ địa khác và không có sự khác biệt giữa hai giới và thời gian mắc bệnh.



Hình 3.1. Tương quan giữa nồng độ IgE với điểm SCORAD

Nhận xét: Nồng độ IgE huyết tương và điểm SCORAD có mối tương quan thuận rất chặt chẽ với hệ số $r = 0,756$, $p < 0,001$.



Hình 3.2. Tương quan giữa nồng độ BCAT với điểm SCORAD

Nhận xét: BCAT và điểm SCORAD có mối tương quan thuận mức độ trung bình với hệ số $r = 0,408$, $p < 0,001$.

Bảng 3.3. Mối tương quan nồng độ IgE huyết tương và một số chỉ số xét nghiệm

Chỉ số xét nghiệm máu		Nồng độ IgE huyết tương	
	$\bar{X} \pm SD$	r	P
Zn (Mmol/L)	9,97 $\pm$ 3,29	0,085	0,194
BCAT (%)	4,01 $\pm$ 3,62	0,315	<0,001

Nhận xét: các chỉ số hóa sinh máu nằm trong giới hạn bình thường và không có mối liên hệ với nồng độ IgE máu trừ chỉ số BCAT có mối tương quan thuận mức độ trung bình với hệ số $r = 0,315$, $p < 0,001$

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi, đặc điểm của đối tượng nghiên cứu được trình bày ở bảng 1. Kết quả cho thấy tuổi trung bình của nhóm đối tượng nghiên cứu là $49,16 \pm 20,03$, trong đó lứa tuổi dưới 20 tuổi chiếm tỷ lệ ít nhất và cũng có biểu hiện nặng nhất. Kết quả này có thể lý giải vì đối tượng bệnh nhân khoa Nội của bệnh viện E chủ yếu là người lớn. Tỷ lệ mắc bệnh của nữ/nam là 1,75 (63,7%: 36,3%). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu tại 8 quốc gia trên thế

giới năm 2018, tỷ lệ mắc bệnh của nữ giới cao hơn rõ rệt so với nam giới. VDCĐ hay gặp ở nữ giới hơn nam giới có thể do ảnh hưởng của hormon trong quá trình mang thai và sinh đẻ, một yếu tố khởi phát và làm nặng bệnh VDCĐ. Ngoài ra nữ giới thường nhạy cảm và dễ bị stress hơn.

Khảo sát nồng độ IgE huyết tương

IgE có trong huyết tương người với khối lượng rất nhỏ, nồng độ có thể tăng nhiều lần khi phản ứng với các kích thích cụ thể. Bệnh nhân mắc các bệnh dị ứng di truyền sản xuất IgE sau khi tiếp xúc với chất gây dị ứng

ngoài môi trường [3]. VDCĐ là bệnh da mãn tính liên quan đến cơ địa dị ứng với cơ chế chính do sự tác động của 4 yếu tố: di truyền, rối loạn hàng rào bảo vệ da, thay đổi miễn dịch và môi trường. IgE góp phần vào quá trình tổng hợp IL-1, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, GM-CSF và TNF- α và giải phóng bởi sự kết hợp với bạch cầu ưa base và tương bào. Những cytokine này đóng vai trò quan trọng trong pha muộn của phản ứng dị ứng [4]. IL-4 có tác dụng kích thích tế bào lympho B chuyển từ sản xuất IgM sang sản xuất IgE, là một yếu tố làm tăng IgE huyết thanh. Theo kết quả ở bảng 1, giá trị trung vị nồng độ IgE ở bệnh nhân VDCĐ là 264,7 IU/mL cao hơn giá trị tham chiếu của nồng độ IgE ở người bình thường là <100 IU/mL. Kết quả này tương đương với nghiên cứu của Sandipan Dhar và cộng sự (278,29 $\pm$ 324,85 IU/mL)[8] và nghiên cứu của Hoàng Thị Thúy Hương (247,6 $\pm$ 266,1 IU/mL) [1]. Ở bệnh nhân VDCĐ có sự tăng phản ứng của các cytokine của tế bào T hỗ trợ type 2 (Th2) đi kèm theo sự giảm sản xuất interferon gamma IFN- γ , tạo sự thay đổi trong các phản ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và có thể thúc đẩy quá mẫn qua trung gian IgE [7].

Nồng độ IgE huyết tương và một số yếu tố liên quan

Nồng độ IgE huyết tương có sự khác biệt giữa các nhóm tuổi, cao nhất ở nhóm tuổi < 20 tuổi, lứa tuổi chiếm tỷ lệ ít nhất trong nghiên cứu. Nồng độ IgE huyết tương ở những người có tiền sử bệnh cơ địa khác cao hơn ở những người không có tiền sử bệnh với $p < 0,001$. Nhiều nghiên cứu cũng nhận thấy có mối liên quan giữa tăng IgE với tiền sử bệnh atopy khác như hen phế quản, viêm khớp dị ứng [6]. Sự tổng hợp quá mức IgE

trong VDCĐ do nhiều yếu tố. Các yếu tố cơ địa như gen nằm trên NST 11q13, gen cho thụ thể IL-4 trực tiếp hoặc gián tiếp ảnh hưởng lên sự tổng hợp IgE [4]. Theo kết quả bảng 2, nồng độ IgE huyết tương nhóm VDCĐ mức độ nhẹ là 95,06 $\pm$ 81,01 IU/mL, mức độ trung bình là 283,52 $\pm$ 192,27 IU/mL, của nhóm mức độ nặng là 1193,03 $\pm$ 2422,55 IU/mL. So sánh với kết quả nghiên cứu của Magda Blessmann nồng độ IgE giữa các nhóm lần lượt là 279;347 và 952 IU/mL. Trong đó, nhóm bệnh nhân mức độ nặng có nồng độ IgE cao hơn rõ rệt so với hai nhóm còn lại ($p < 0,001$)[6]. Độ nghiêm trọng của bệnh VDCĐ được đánh giá bằng thang điểm SCORAD. Thang điểm này được tạo ra và phê chuẩn bởi một nhóm các chuyên gia châu Âu về VDCĐ từ năm 1993 [5]. Cho đến nay chưa có một dấu ấn cụ thể nào đánh giá độ nặng của VDCĐ nhưng nồng độ cao IgE và BCAT thường xuyên được tìm thấy ở bệnh nhân VDCĐ. Một vài nghiên cứu cho rằng BCAT có thể sử dụng như chất chỉ điểm phân biệt VDCĐ nội sinh và ngoại sinh và những nghiên cứu khác chỉ ra rằng BCAT có liên quan với mức độ nặng của bệnh và nồng độ IgE. Vì vậy, nghiên cứu của chúng tôi tiến hành tìm hiểu mối liên quan này. Theo kết quả hình 1 và 2, chỉ số điểm SCORAD có mối tương quan rất chặt chẽ với nồng độ IgE ($r = 0,756$, $p < 0,001$), mức độ trung bình với số lượng bạch cầu ái toan ($r = 0,408$, $p < 0,001$). Theo nghiên cứu của Kumar, Singh và Patel (2014) đánh giá mối liên quan của đặc điểm lâm sàng, bạch cầu ái toan và IgE với mức độ nặng của bệnh đã chỉ ra rằng IgE tăng ở 66% bệnh nhân và có mối liên quan với mức độ nặng của bệnh. Theo Thijs (2015) một số lượng lớn các dấu ấn sinh học đã được tìm thấy có liên quan mức độ nặng của bệnh VDCĐ như bạch cầu ái

toan, IgE, sIL-2R. Laske và Niggemann thực hiện nghiên cứu hồi cứu trên 345 bệnh nhân VDCĐ và kết luận rằng thang điểm SCORAD có mối liên quan có ý nghĩa với nồng độ IgE (2004) [4]. Nghiên cứu của Raquel Leao Orfali cũng cho thấy mối liên quan BCAT với mức độ nặng của bệnh với $r=0,362$, $p<0,001$. Điều này góp phần lý giải cho những trường hợp có tổn thương da nặng và lan rộng trên lâm sàng có thể do có sự lắng đọng nhiều ECP (được giải phóng từ các hạt của BCAT hoạt hóa) ở gian bào gây hủy hoại tổ chức, góp phần cùng các yếu tố khác tạo nên độ nặng của viêm da và làm tổn thương da lan rộng. IL-5 có tác dụng kích thích tủy tăng sinh BCAT và hoạt hóa BCAT, có lẽ vì vậy mà trong VDCĐ có tăng BCAT [8]. Một số nghiên cứu cho thấy thiếu kèm làm suy giảm chức năng tế bào lympho T hỗ trợ (Th1) góp phần vào sự mất cân bằng các cytokin của Th1 và Th2, tạo ra sự thay đổi trong các phản ứng miễn dịch qua trung gian tế bào và có thể thúc đẩy quá mẫn qua trung gian IgE. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi ở bảng 3 cho thấy kèm nằm trong giới hạn bình thường và không có mối tương quan với nồng độ Ig E, chỉ có chỉ số BCAT có liên quan mức độ trung bình với nồng độ IgE ($r=0,315$, $p<0,001$). Kết quả này tương tự nghiên cứu của Nguyễn Thị Lai (2001), nghiên cứu trên 45 bệnh nhân VDCĐ với $r=0,32$, $p<0,05$ [2]

V. KẾT LUẬN

Định lượng IgE huyết tương là một xét nghiệm hữu ích góp phần chẩn đoán và đánh giá mức độ nặng của bệnh viêm da cơ địa

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hoàng Thị Thúy Hương:** Nghiên cứu nồng độ IgE toàn phần và đặc điểm lâm sàng bệnh viêm da cơ địa ở trẻ em. Y học thực hành (920)
2. **Nguyễn Thị Lai:** Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và miễn dịch trong bệnh viêm da cơ địa người lớn (2001). Luận văn tiến sĩ y học.
3. **Binamra Basnet:** Serum Ig E levels and severity of atopic dermatitis. Journal of Universal College of Medical Sciences (2015) Vol 3 N 03 Issue 11
4. **J. Vaneckova; J.Bukak:** The severity of atopic dermatitis and the relation to the level of total IgE, onset of atopic dermatitis and family about atopy (2016). Food and Agricultural Immunology, 27:5, 734-741.
5. **Kunz B., Oranje A.P., Labrèze L. et al (1997).** Clinical validation and guidelines for the SCORAD index: consensus report of the European Task Force on Atopic Dermatitis. Dermatology, 195(1), 10-19
6. **Magda Blessmann:** Evaluating the relation between pruritus, serum IgE levels and severity of clinical manifestations in atopic dermatitis patient. An Bras Dermatol: 2005; 80(3): 245-248
7. **Raquel Leao Orfali, Marta M. Shimizu (2013):** Atopic dermatitis in adults: Clinical and epidemiological considerations. Rev.Assoc.Med.Bras.vol 59 no.3
8. **Sandipan Dhar, Rajib Malakar:** Correlation of the severity of atopic dermatitis with absolute eosinophil count in peripheral blood and serum IgE level. Indian J Dermatol Venereol Leprol Jul-Aug 2005 Vol 71, issue 4

GIÁ TRỊ TIỀN LƯỢNG CỦA NỒNG ĐỘ NT-PROBNP HUYẾT TƯƠNG VỚI THỜI GIAN SỐNG THÊM Ở BỆNH NHÂN NHI NHIỄM KHUẨN NẶNG, SỐC NHIỄM KHUẨN TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA PHÚ THỌ

Bùi Thị Thu Hương*, Mai Anh Tuấn*, Đào Thị Thúy Hằng**

TÓM TẮT

Nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn là tình trạng bệnh lý nặng thường gặp ở trẻ em và là nguyên tử vong chính ở các đơn vị hồi sức cấp cứu. Nồng độ NT-proBNP huyết thanh giúp tiên lượng trong nhiễm khuẩn, nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn ở trẻ em.

Mục tiêu: Đánh giá giá trị tiên lượng của nồng độ NT-proBNP huyết thanh tới tử vong do nhiễm khuẩn, nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn ở trẻ em tại Khoa Nhi, Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ.

Phương pháp: Mô tả cắt ngang tất cả trẻ em được chẩn đoán, nhiễm trùng nặng và sốc nhiễm trùng và điều trị nhiễm trùng (nhóm đối chứng) tại khoa nhi của Bệnh viện Đa khoa Phú Thọ từ tháng 11 năm 2016 đến tháng 7 năm 2019. NT-proBNP huyết thanh được định lượng bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang.

Kết quả: Giá trị nồng độ NT-proBNP huyết thanh trong tiên lượng tử vong 28 ngày của nghiên cứu này là tốt với diện tích dưới đường cong ROC là 0,928 (95% CI: 0,877-0,980) với $p < 0,05$. Điểm cut-off của giá trị NT-proBNP trong phân chia giữa nhóm sống với nhóm tử vong là 1699,0 pmol/L, độ nhạy là 82,8% và độ đặc hiệu 84,6%. Thời gian sống sót trung bình

của nhóm trẻ có xét nghiệm NT-ProBNP < 1699 pmol/l là ~17 ngày cao hơn hẳn nhóm > 1699 (~7 ngày) với $p < 0,05$. Kết quả mô hình hồi quy Cox phân tích đa biến, nồng độ NT-ProBNP huyết tương ảnh hưởng độc lập đến thời gian sống của trẻ nhiễm khuẩn. Tỷ số nguy cơ Hz của NT-proBNP là 6,25 khoảng 95% CI: 2,21-17,71 với $p < 0,05$.

Kết luận: NT-proBNP huyết tương có giá trị tiên lượng tử vong ở bệnh nhân nhiễm trùng huyết, nhiễm trùng nặng và sốc nhiễm trùng.

Từ khóa: NT-proBNP, nhiễm trùng nặng, sốc nhiễm trùng

SUMMARY

THE QUANTITY VALUE OF THE ULTIMATE NT-PROBNP INCREASED BY ADDITIONAL LIFE TIME IN DEATH THAT DISEASE AND EXAMINATION RISK IN PHUTHO GENERAL HOSPITAL

Severe infections and septic shock are common severe illness in children and a major cause of death in emergency care units. Serum NT-proBNP concentrations are prognostic in childhood infections, severe infections and septic shock.

Objective: To evaluate the prognostic value of serum NT-proBNP concentration to death due to sepsis, severe infection and septic shock in children at the Pediatric Department, PhuTho General Hospital.

Methods: Cross-section description of all children diagnosed with severe infection and

*Trường Đại học Y Dược Thái nguyên

**Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Thị Thu Hương

Email: huongbuiithithu@tnmc.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 27.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

septic shock and infection treatment (control group) in the pediatric department of PhuTho General Hospital from November 2016 to July year 2019.

Results: The serum NT-proBNP concentration value in this study's 28-day mortality prognosis was good with the area under the ROC curve of 0.928 (95% CI: 0.877-0.980) with $p < 0.05$. The cut-off score of NT-proBNP values in the living-mortality group was 1699.0 pmol / L, the sensitivity was 82.8% and the specificity was 84.6%. The mean survival time of the group of children with NT-ProBNP test < 1699 pmol / l was ~ 17 days, much higher than the group > 1699 (~ 7 days) with $p < 0.05$. Results of Cox regression model analyzed multivariate, plasma NT-ProBNP concentrations that independently affected survival time of infected children. The risk ratio Hz for NT-proBNP was 6.25 approximately 95% CI: 2.21-17.71 with $p < 0.05$.

Conclusion: The NT-proBNP serum has prognostic value in patients with sepsis, severe sepsis, and septic shock.

Keywords: NT-proBNP, severe infection, septic shock

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm khuẩn nặng (NKN) và sốc nhiễm khuẩn (SNK) là tình trạng bệnh lý nặng thường gặp ở trẻ em và là nguyên tử vong chính ở các đơn vị hồi sức cấp cứu. Theo Tổ chức Y tế thế giới, hằng năm có khoảng từ 60 - 80% trẻ em mắc các bệnh lý liên quan đến tình trạng nhiễm khuẩn trong đó có khoảng 20% phải điều trị hồi sức tích cực. Tổng tỷ lệ tử vong tại bệnh viện của bệnh nhân nhiễm trùng huyết nặng hoặc sốc nhiễm trùng là 40,4% [2]. Tại Việt Nam chưa có số liệu thống kê đầy đủ về tỷ lệ mắc và tử vong của NKN và SNK trên toàn quốc, tuy nhiên,

theo Trần Minh Điền (2010), tỷ lệ tử vong do SNK tại khoa hồi sức cấp cứu Bệnh viện Nhi Trung Ương là 65,7% [1].

Trong các bệnh lý nhiễm khuẩn đặc biệt là SNK nồng độ NT-proBNP huyết thanh tăng, tuy nhiên thay đổi nồng độ và giá trị tiên lượng của NT-proBNP trong nhiễm khuẩn, NKN và SNK ở trẻ em còn ít được đề cập. Chẩn đoán và xác định mức độ nặng ở giai đoạn sớm sốc nhiễm khuẩn rất khó khăn vì triệu chứng lâm sàng không đặc hiệu đặc biệt trên đối tượng là trẻ em. Vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Đánh giá giá trị tiên lượng của nồng độ NT-proBNP huyết thanh tới tử vong do nhiễm khuẩn, nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn ở trẻ em tại Khoa Nhi, Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

81 bệnh nhi từ 1 tháng đến 15 tuổi được chẩn đoán có nhiễm khuẩn, NKN và SNK điều trị tại khoa Nhi - Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ.

* Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân nghiên cứu

- Bằng chứng nhiễm khuẩn: có cấy máu dương tính, nhuộm soi tươi, PCR, hoặc có hội chứng lâm sàng liên quan đến khả năng nhiễm trùng cao: khám lâm sàng, chẩn đoán hình ảnh hoặc các xét nghiệm như có bạch cầu máu trong dịch vô khuẩn của cơ thể, thủng tạng rỗng, X quang lồng ngực có hình ảnh viêm phổi, ban xuất huyết hoặc tử ban. Bệnh nhân được chỉ định vào nhóm đối chứng hoặc nhóm viêm toàn thân dựa trên sự hiện diện hoặc vắng mặt của các dấu hiệu lâm sàng. Bệnh nhân được coi là đối chứng nếu họ không có hoặc chỉ có một dấu hiệu của hội chứng đáp ứng viêm toàn thân

(SIRS): nhiệt độ $>38^{\circ}\text{C}$ hoặc $<36^{\circ}\text{C}$, nhịp tim, nhịp thở nhanh $> 2\text{SD}$, số lượng bạch cầu (WBC) $> 12000 \text{ ô/mm}^3$ hoặc $<4000 \text{ ô/mm}^3$.

*** Tiêu chuẩn chẩn đoán nhiễm khuẩn nặng (Severe sepsis)**

Có tình trạng nhiễm khuẩn (TTNK) và một trong các dấu hiệu sau: hội chứng suy hô hấp cấp nguy kịch, hoặc suy chức năng từ 2 tạng trở lên [2].

* Tiêu chuẩn chẩn đoán sốc nhiễm khuẩn (septic shock)

Bệnh nhân có TTNK + biểu hiện suy tuần hoàn

Suy tuần hoàn: có 1 trong các dấu hiệu sau mặc dù đã bù $\geq 40 \text{ ml/kg}$ dịch NaCl 9% trong 1 giờ. Tiêu chuẩn chẩn đoán sốc nhiễm trùng nếu bị nhiễm trùng huyết nặng kết hợp với các dấu hiệu sốc, được xác định là huyết áp trung bình toàn thân (MAP) $<60 \text{ mmHg}$ sau khi hồi sức đầy đủ, hoặc cần dùng dopamine hoặc epinephrine MAP > 60 do nhiễm trùng.

*** Tiêu chuẩn loại trừ**

- Bệnh lý tim mạch được xác định trước đó (tim bẩm sinh, bệnh cơ tim, suy tim).

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu:

Từ tháng 11 năm 2016 đến tháng 07 năm 2019, Tại khoa Nhi - Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

- Cỡ mẫu và phương pháp chọn mẫu:

+ Cỡ mẫu: lấy tất cả bệnh nhân tuổi từ 1 tháng đến 15 tuổi nhập khoa nhi được chẩn đoán là nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn và một số bệnh nhân được chẩn đoán là nhiễm trùng làm nhóm chứng từ tháng 11 năm 2016 đến tháng 07 năm 2019.

+ Phương pháp chọn mẫu: thuận tiện.

Chỉ tiêu nghiên cứu:

- Sốt: Thân nhiệt trung tâm $> 38^{\circ}\text{C}$ hoặc $< 36^{\circ}\text{C}$.

- Nhịp tim nhanh, trên 2 độ lệch chuẩn (SD) theo tuổi.

- Tần số thở trên 2SD theo tuổi hoặc phải thông khí nhân tạo do các tình trạng bệnh cấp, không liên quan đến bệnh nhân thần kinh cơ hoặc thuốc gây mê.

- Bạch cầu máu tăng hoặc giảm theo tuổi. (không phải hạ bạch cầu thứ phát sau trị liệu) hay $>10\%$ bạch cầu trung tính chưa trưởng thành

- Bằng chứng của nhiễm trùng bao gồm các dấu hiệu lâm sàng, chẩn đoán hình ảnh hoặc các xét nghiệm (như là có bạch cầu máu trong dịch vô khuẩn của cơ thể, thủng tạng, X-quang lồng ngực có hình ảnh viêm phổi, ban xuất huyết hoặc tử ban).

- **IS (inotrope score):** Công thức tính chỉ số thuốc vận mạch [3]

$$\text{IS} = \text{Dopamin dose } (\mu\text{g/kg/min}) + \text{Dobutamin dose } (\mu\text{g/kg/min}) + 100 \times \text{Epinephrine dose } (\mu\text{g/kg/min})$$

Chỉ số thuốc vận mạch được chia làm 2 nhóm: nhóm thấp với $\text{IS} \leq 20$ và nhóm cao với $\text{IS} > 20$

- Nồng độ CRP: đơn vị mg/l lấy theo kết quả xét nghiệm.

- Nồng độ procalcitonin: CRP đơn vị mg/ml lấy theo kết quả xét nghiệm.

- Lactate: lấy theo xét nghiệm máu, đơn vị mmol/l.

- Bạch cầu máu ngoại vi: lấy theo xét nghiệm máu.

- Đường máu: lấy theo xét nghiệm máu.

- Chức năng thận: chỉ số creatinin lấy theo kết quả xét nghiệm sinh hóa máu.

- Cân nặng: tính theo cân nặng của bệnh nhân, đơn vị kg...

Cách thu thập số liệu

- Các thông tin được thu thập qua mẫu bệnh án thống nhất.
- Khám lâm sàng do các bác sỹ tại khoa.
- Tất cả các xét nghiệm được lấy tại thời điểm 24h bệnh nhân nhập khoa.
- Kỹ thuật xét nghiệm **nồng độ NT-ProBNP**

Phương pháp định lượng NT-proBNP

Bệnh phẩm: máu toàn phần chống đông bằng heparin được thu thập trong 24 giờ đầu bệnh nhân nhập khoa nhi, ly tâm tách huyết tương, bảo quản ở -20°C cho đến khi phân tích.

NT-proBNP huyết thanh được định lượng bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang trên máy Cobas e601 tại khoa Sinh hóa bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ.

Giới hạn phát hiện của xét nghiệm là 4 pg/mL (0,6 pmol/L). Khoảng tuyến tính của kỹ thuật là: 4- 35000 pg/mL (0,6- 4130 pmol/L).

Các xét nghiệm khác được làm tại trung tâm xét nghiệm của Bệnh viện

Xử lý số liệu: Số liệu sau khi thu thập sẽ được mã hóa theo mẫu, nhập và phân tích số liệu bằng phần mềm SPSS 25.0.

2.4. Đạo đức trong nghiên cứu

- Nghiên cứu đã được Hội đồng Y đức Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên thông qua.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian từ tháng 11 năm 2015 đến tháng 7 năm 2019 có 81 bệnh nhân vào khoa Nhi đủ tiêu chuẩn đưa vào nghiên cứu. Trong đó tỷ lệ bệnh nhi bị nhiễm khuẩn là 27,2%, tỷ lệ shock nhiễm khuẩn là 40,7% và nhiễm khuẩn nặng là 32,1%. Trong nhóm trẻ nghiên cứu lứa tuổi dưới 1 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất 55,5% (45 bệnh nhân) và nhóm tuổi ít gặp nhất là trên 5 tuổi chiếm 9,9% (8 bệnh nhân); Nồng độ NT-proBNP có phân bố không chuẩn (lệch phải) với giá trị trung bình là $2897,987 \pm 4377,551$ pmol/L (giá trị nhỏ nhất là 4 pmol/L và lớn nhất là 16330,000 pmol/L).

Bảng 1. Điểm cắt của NT-proBNP trong tiên lượng tử vong 28 ngày của nhóm NKN và SNK

NT-proBNP pmol/L	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Chỉ số J
4.00	1	0	0
...	...	...	...
1435.50	0.828	0.808	0.64
1512.00	0.828	0.827	0.65
1699.00	0.828	0.846	0.67 (max)
1861.50	0.793	0.846	0.64
2046.50	0.759	0.846	0.60
...	...	...	...
16331.00	0	0	0

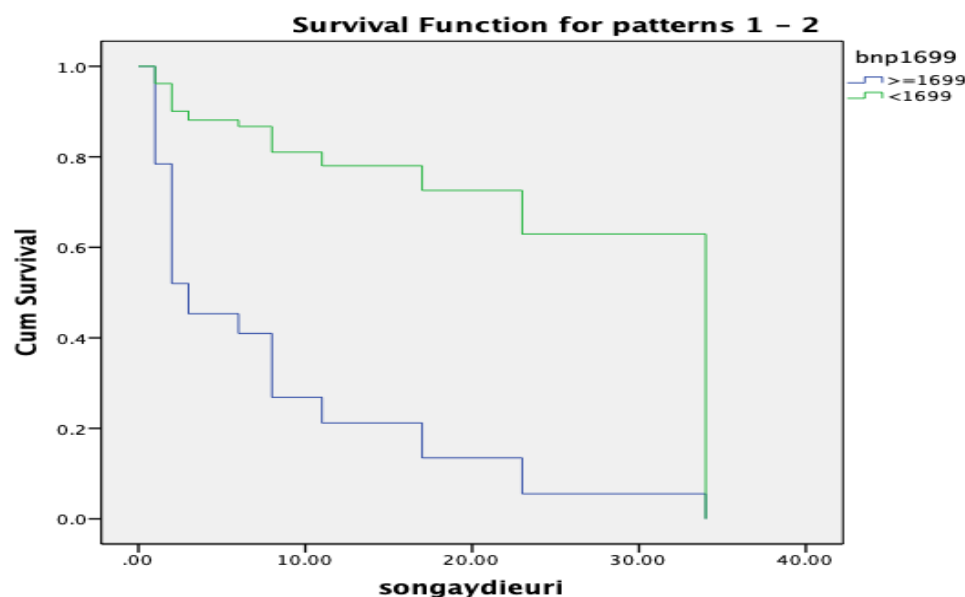
Nhận xét: Chỉ số J cao nhất bằng 0,67 tương ứng với điểm cut-off của giá trị NT-proBNP trong phân tách giữa nhóm sống với nhóm tử vong là 1699 pmol/L. Điểm cắt này tương ứng với độ nhạy và độ đặc hiệu tối ưu nhất, lần lượt là 82,8% và 84,6%.

Bảng 2. Phân tích thời gian sống sót tích lũy theo điểm cut off của NT-ProBNP

NT-ProBNP pmol/L	Thời gian sống sót trung bình (ngày)	p
≥1699	6,6 ± 1,92	< 0,05*
<1699	17,4 ± 1,62	
Tổng	14,6 ± 2,6	

* Log rank test

Nhận xét: Kết quả phân tích sống sót ở bệnh nhân nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn theo giá trị NT-proBNP trên hoặc dưới 1699 pmol/L cho thấy thời gian sống sót trung bình của nhóm trẻ có xét nghiệm NT-ProBNP <1699 là ~17 ngày cao hơn hẳn nhóm >1699 (~7 ngày). Sự khác biệt giữa thời gian sống sót ở 2 nhóm là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

**Biểu đồ 1. Thời gian sống tích lũy theo điểm cut-off của NT-proBNP (1699 pmol/L) của mô hình hồi quy COX.**

Nhận xét: Sau khi đã loại bỏ các yếu tố khác (tuổi, giới, CRP) bằng mô hình hồi quy Cox phân tích đa biến, chỉ có NT-ProBNP độc lập ảnh hưởng đến thời gian sống của trẻ nhiễm khuẩn. Tỷ số nguy cơ Hz của NT-proBNP là 6,25 khoảng 95% CI: 2,21-17,71. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

Kết quả bảng 1 cho thấy: Giá trị nồng độ NT-proBNP huyết tương trong tiên lượng tử vong 28 ngày của nghiên cứu này là tốt với diện tích dưới đường cong ROC là 0,926 (95% CI: 0,874-0,979) với $p < 0,05$. Chỉ số J cao nhất bằng 0,67 tương ứng với điểm cut-off của giá trị NT-proBNP trong phân tách

giữa nhóm sống với nhóm tử vong là 1699 pmol/L. Điểm cắt này tương ứng với độ nhạy và độ đặc hiệu tối ưu nhất, lần lượt là 82,8% và 84,6%.

Kết quả xác định điểm cắt này của chúng tôi cao hơn kết quả nghiên cứu của Lin, C. W(2016) ở những bệnh nhân nhiễm trùng huyết nặng và sốc nhiễm trùng, các giá trị cắt

chẩn đoán tối ưu lần lượt là 1368 ng/L và 1525 ng/L [7]; Samransamruajkit và cộng sự (2014) diện tích dưới đường cong ROC là 0,93 (95% CI: 0,79-1) điểm cut-off là 11200 pg/ml (1321 pmol/L) độ nhạy 85,7% và độ đặc hiệu là 90% [5]; Một nghiên cứu khác của Brueckmann và cộng sự (2005) ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có giá trị cắt nồng độ NT-proBNP là 1400 pmol/L [4]. Điều này cho thấy sự cần thiết phải xây dựng ở mỗi đơn vị một giá trị cắt thích hợp.

Kết quả phân tích của chúng tôi ở bảng 2 về thời gian sống sót tích lũy theo điểm cut off của nồng độ NT-proBNP huyết tương ở bệnh nhân nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn cho thấy: thời gian sống sót trung bình của nhóm trẻ có xét nghiệm NT-ProBNP <1699 là ~17 ngày cao hơn hẳn nhóm NT-proBNP ≥1699 (~7 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Sau khi đã loại bỏ các yếu tố khác (tuổi, giới, CRP) bằng mô hình hồi quy Cox phân tích đa biến (biểu đồ 1), chỉ có NT-ProBNP độc lập ảnh hưởng đến thời gian sống của trẻ nhiễm khuẩn. Tỷ số nguy cơ Hz của NT-proBNP là 6,25 khoảng 95% CI: 2,21-17,71. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với hầu hết các nghiên cứu trên thế giới đều cho thấy NT-proBNP có thể đóng vai trò như một yếu tố dự báo độc lập tử vong trong 28 ngày ở bệnh nhân nhiễm trùng huyết [6].

Nghiên cứu giá trị của nồng độ NT-proBNP huyết tương trong tiên lượng tử vong nhiễm khuẩn nặng và sốc nhiễm khuẩn ở trẻ em là một nghiên cứu rất mới trong lĩnh vực hồi sức Nhi khoa. Nghiên cứu không

làm ảnh hưởng đến quá trình điều trị, không tốn kém về thời gian, kinh tế và có thể tiếp tục tiến hành với các nghiên cứu sâu hơn để mang ý nghĩa tốt hơn.

Cần có những nghiên cứu tiếp theo cùng được thực hiện đa trung tâm cho tất cả các bệnh nhân nhập khoa hồi sức cấp cứu với thời gian tiến hành dài hơn để có số lượng mẫu lớn hơn mới hy vọng đưa ra được những kết luận chính xác hơn về giá trị nồng độ NT-proBNP huyết tương và vai trò trong tiên lượng tử vong đối với bệnh nhân nặng.

V. KẾT LUẬN

Thời gian sống sót trung bình của nhóm trẻ có xét nghiệm NT-ProBNP <1699 pmol/l là ~17 ngày cao hơn hẳn nhóm >1699 (~7 ngày) với $p < 0,05$. Kết quả mô hình hồi quy Cox phân tích đa biến, nồng độ NT-ProBNP huyết tương ảnh hưởng độc lập đến thời gian sống của trẻ nhiễm khuẩn. Tỷ số nguy cơ Hz của NT-proBNP là 6,25 khoảng 95% CI: 2,21-17,71 với $p < 0,05$.

LỜI CẢM ƠN

Xin trân trọng cảm ơn Ban Giám đốc, Khoa Nhi, Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện đa khoa tỉnh Phú Thọ đã giúp chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Minh Diễn (2010)**, Nghiên cứu kết quả điều trị và một số yếu tố tiên lượng tử vong trong sốc nhiễm khuẩn trẻ em, Luận án tiến sỹ Y học, Đại học Y Hà Nội.
2. **Nguyễn Trung Anh (2015)**, Vai trò của NT-proBNP trong chẩn đoán và tiên lượng khó thở cấp ở người cao tuổi, in Hội nghị tìm mạch toàn quốc lần thứ 14. 2015: Hội tìm mạch học Việt Nam. tr 1-32.

3. **Vũ Văn Đình** (2005), "Hồi sức cấp cứu toàn tập", Hà Nội: Nhà xuất bản Y học.
4. **Brueckmann M, Huhle G, Lang S, et al. (2005)**, "Prognostic value of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with severe sepsis", *Circulation*, 112 (4), pp. 527-34.
5. **Samransamruajkit R, Uppala R, Pongsanon K, et al. (2014)**, "Clinical outcomes after utilizing surviving sepsis campaign in children with septic shock and prognostic value of initial plasma NT-proBNP", *Indian journal critical care medicine*, 18 (2), pp. 70-6.
6. **Guo Y., Yang H., Gao W., et al. (2018)**, "Combination of Biomarkers in Predicting 28-Day Mortality for Septic Patients", *J Coll Physicians Surg Pak*, 28
7. **Lin C. W., Tang W., Wen F., et al. (2016)**, "Diagnostic Accuracy of NT-ProBNP for Heart Failure with Sepsis in Patients Younger than 18 Years", *PLoS One*, 11 (1), pp. e0147930.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ BETA 2-MICROGLOBULIN TRONG HUYẾT TƯƠNG Ở BA NHÓM BỆNH NHÂN: SUY THẬN MẠN TÍNH, U LYMPHO ÁC TÍNH VÀ ĐA U TỦY XƯƠNG

Lê Thanh Hà¹, Phạm Văn Trân¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá sự thay đổi nồng độ B2M trong huyết tương ở 3 nhóm bệnh nhân (BN) là suy thận mạn tính (STMT), u lympho ác tính (ULAT) và đa u tủy xương (ĐUTX). **Đối tượng và phương pháp:** 314 BN gồm STMT (23), ULAT (202) và ĐUTX (89) được xét nghiệm B2M huyết tương. **Kết quả:** Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm chứng là $1,49 \pm 0,34$ mg/L, ở các nhóm BN STMT, ULAT và ĐUTX lần lượt là $22,25 \pm 3,98$ mg/L, $2,49 \pm 1,39$ mg/L và $4,26 \pm 2,92$ mg/L. **Kết luận:** Nồng độ B2M huyết tương trung bình ở nhóm BN STMT cao nhất, tiếp đến lần lượt là nhóm BN ĐUTX,

ULAT và 3 nhóm đều cao hơn nhóm chứng ($p < 0,05$). 100% BN STMT, 49% BN ULAT và 79,78% BN ĐUTX tăng nồng độ B2M huyết tương so với nhóm chứng.

Từ khóa: Suy thận mạn tính, u lympho ác tính, đa u tủy xương, beta 2-microglobulin

SUMMARY

STUDYING CONCENTRATION OF BETA 2-MICROGLOBULIN IN THREE PATIENT GROUPS: CHRONIC RENAL FAILURE, MALIGNANT LYMPHOMAS AND MULTIPLE MYELOMA

Aim of research: To measure blood concentration of beta 2-microglobulin (B2M) on chronic renal failure, malignant lymphomas and multiple myeloma patients. **Objects and Methods:** 314 patients with chronic renal failure (23), malignant lymphomas (202) and multiple

¹Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Lê Thanh Hà

Email: lethanhha@yahoocom

Ngày nhận bài: 1.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 15.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

myeloma (89) were measured B2M concentration. **Results:** The B2M concentration in the control group is 1.49 ± 0.34 mg/L, in chronic renal failure patients is 22.25 ± 3.98 mg/L, in malignant lymphomas patients is 2.49 ± 1.39 mg/L, in multiple myeloma patients is 4.26 ± 2.92 mg/L. **Conclusion:** The average concentration of B2M in the group of patients with chronic renal failure is highest, followed by the patients with multiple myeloma, malignant lymphomas; and all these three groups are higher than the control group ($p < 0,05$). 100% of chronic renal failure patients, 49% of malignant lymphomas patients and 79.78% of multiple myeloma patients had increased plasma B2M levels compared to the control group.

Key words: Chronic renal failure, malignant lymphomas; multiple myeloma, beta 2-microglobulin

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy thận mạn tính (STMT) là hậu quả của các bệnh lý mạn tính ở thận gây giảm sút từ từ số lượng nephron chức năng làm giảm dần mức lọc cầu thận. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu ở quy mô toàn quốc về tỷ lệ mắc STMT, chủ yếu là các kết quả báo cáo mang tính chất dịch tễ của một vùng. BN STMT dễ xuất hiện các biến chứng liên quan như suy tim mạn tính, bệnh lý xương khớp, trong đó phải kể đến biến chứng ứ đọng beta-2 microglobulin (B2M). Vai trò của β 2M trong chẩn đoán phân biệt những rối loạn chức năng thận và theo dõi động học quá trình tiến triển bệnh lý thận được lưu ý một cách đặc biệt. Nhiều nghiên cứu nhận thấy nhận thấy nồng độ B2M huyết thanh tăng cao trong nhiều bệnh lý thận như: viêm cầu thận cấp và mạn tính, thận đa nang, tổn thương thận do tăng huyết áp, bệnh thận do đái đường [2, 6].

U lympho ác tính (ULAT) là một nhóm bệnh lý ác tính của tổ chức lympho, có thể là tại hạch hoặc có thể là ngoài hạch. Bệnh ULAT được phân chia thành 2 loại chính: Bệnh ULAT non-Hodgkin và bệnh ULAT Hodgkin. Bệnh ULAT thường biểu hiện với các triệu chứng lâm sàng như hạch to, sốt, ra mồ hôi trộm, gầy sút cân, ngứa và có thể có các triệu chứng khác. Theo ước tính tại Việt Nam, ULAT đứng thứ 6 trong tổng số bệnh ung thư ở nam; đứng thứ 11 trong tổng số bệnh ung thư ở nữ và bệnh ngày càng có xu hướng tăng lên. Nồng độ B2M trong máu có vai trò quan trọng khi sự biến đổi của nó là dấu hiệu để tiên lượng, theo dõi tiến triển của bệnh và đánh giá hiệu quả điều trị bệnh ULAT [1, 5].

Đa u tủy xương (ĐUTX) là một bệnh tăng sinh có tính chất ác tính của tương bào (plasmocyte) ở tủy xương và một số cơ quan khác. Tăng sinh tương bào dẫn đến tăng các globulin miễn dịch trong máu, tạo thành nhiều ổ tiêu xương dẫn đến gãy xương bệnh lý, rối loạn chức năng nhiều cơ quan: suy thận, thiếu máu, tăng canxi máu, các triệu chứng thần kinh... Tỷ lệ mắc của bệnh khoảng 3 - 4/100.000 dân và chiếm 1 - 2% các bệnh lý ác tính. B2M máu có thể được chỉ định ở bệnh nhân đã được chẩn đoán bị ĐUTX để đánh giá giai đoạn bệnh, hoạt động của bệnh, theo dõi hiệu quả điều trị, đôi khi được chỉ định ở người bị ĐUTX hoặc lymphoma để tiên lượng bệnh [4].

Beta-2 microglobulin (B2M) lần đầu tiên được Berggard phát hiện vào năm 1964. B2M là một protein màng có khối lượng phân tử khoảng 11,8 kDa. Định lượng B2M có thể được sử dụng như một dấu ấn ung thư

trong ĐUTX, các u hạch ác tính, bệnh bạch cầu lympho mạn và cũng có thể được sử dụng như một dấu ấn sinh học trong đánh giá các rối loạn chức năng lọc và tái hấp thu của thận.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về nồng độ B2M ở các BN STMT, ULAT và ĐUTX. Tuy nhiên, tại Việt Nam, những nghiên cứu này còn ít và chưa đầy đủ. Vì vậy, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá sự thay đổi nồng độ B2M huyết tương ở các BN STMT, ULAT và ĐUTX.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu gồm 314 bệnh nhân (BN) được chia thành 3 nhóm: Nhóm STMT (23 BN: 19 nam, 4 nữ), nhóm ULAT (202 BN: 124 nam, 78 nữ), nhóm ĐUTX (89 BN: 44 nam, 45 nữ).

Nhóm đối chứng là 343 người khỏe mạnh gồm 222 nam, 121 nữ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Mô tả cắt ngang kết hợp với hồi cứu dựa vào tra cứu hồ sơ bệnh án tại Bệnh viện Quân y 103 từ tháng 06/2019 đến tháng 06/2020.

- Định lượng nồng độ B2M huyết tương trên hệ thống máy AU680 của hãng Beckman Coulter, Hoa Kỳ. Lấy 2 ml máu tĩnh mạch lúc đói, chống đông heparin, ly tâm, tách lấy huyết tương để làm xét nghiệm. Nguyên lý định lượng nồng độ B2M huyết tương theo phương pháp hóa miễn dịch đo độ đục: B2M trong huyết tương kết hợp với kháng thể kháng B2M có trong thuốc thử, quá trình phản ứng sẽ tạo phức hợp kháng nguyên - kháng thể không hòa tan tạo độ đục; nồng độ B2M tỷ lệ với độ đục và dựa trên đường chuẩn tính được nồng độ B2M.

Số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê y học theo chương trình SPSS 23.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm tuổi và giới các nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm tuổi và giới các nhóm nghiên cứu.

Đối tượng	Tuổi và giới tính	Tuổi ($\bar{X} \pm SD$)	Giới tính			
			Nam		Nữ	
			Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %
STMT (n=23)		44,9 $\pm$ 16,5	19	82,6	4	17,4
ULAT (n=202)		55,8 $\pm$ 15,0	124	61,4	78	38,6
ĐUTX (n=89)		63,2 $\pm$ 13,0	44	49,4	45	50,6
Nhóm chứng (n=343)		44,3 $\pm$ 35,2	222	64,7	121	35,3

3.2. Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm STMT

Bảng 2. Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm STMT.

Đối tượng	B2M (mg/L)	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	p
STMT (n=23)		13,24 – 26,44	22,25 $\pm$ 3,98	< 0,001
Nhóm chứng (n=343)		0,96 – 3,83	1,49 $\pm$ 0,34	

Bảng 3. Tỷ lệ tăng B2M huyết tương ở nhóm BN STMT (giá trị tham chiếu là giới hạn trên $X \pm 2SD$ của nhóm đối chứng).

Nhóm B2M (mg/L)	STMT		Giá trị giới hạn trên $X \pm 2SD$ của B2M máu ở nhóm đối chứng là 2,16
	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
Bình thường ($\leq 2,16$)	0	0	
Tăng ($> 2,16$)	23	100	
Tổng	23	100	

Nhóm BN STMT có nồng độ B2M huyết tương trung bình cao hơn nhóm chứng với $p < 0,001$ (Bảng 2) và 100% số BN này có nồng độ B2M huyết tương tăng cao hơn so với nhóm chứng (Bảng 3).

Mumtaz A và CS [6] đã nghiên cứu trên BN STMT có lọc máu cho kết quả nồng độ B2M huyết tương là $92,6 \pm 17,1$ mg/L, Trần Kim Cương [2] nghiên cứu 32 BN STMT,

nồng độ B2M huyết tương là $66,75 \pm 14,66$ mg/L. So với các nghiên cứu trong và ngoài nước, kết quả nồng độ B2M huyết tương ở nhóm BN STMT ở nghiên cứu này thấp hơn. Lý do giải thích cho sự khác biệt này vì đối tượng BN STMT ở các nghiên cứu khác đều ở giai đoạn cuối, phần lớn phải tiến hành lọc máu chu kỳ nên ảnh hưởng đến việc ứ đọng cao B2M huyết tương.

3.3. Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm ULAT

Bảng 4. Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm ULAT

Đối tượng	B2M (mg/L)	Min - Max	$X \pm SD$	p
ULAT (n=202)		1,08 – 12,83	$2,49 \pm 1,39$	< 0,05
Nhóm chứng (n=343)		0,96 – 3,83	$1,49 \pm 0,34$	

Bảng 5. Tỷ lệ tăng B2M huyết tương ở nhóm BN ULAT (giá trị tham chiếu là giới hạn trên $X \pm 2SD$ của nhóm đối chứng).

Nhóm B2M (mg/L)	ULAT		Giá trị giới hạn trên $X \pm 2SD$ của B2M máu ở nhóm đối chứng là 2,16
	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
Bình thường ($\leq 2,16$)	103	51	
Tăng ($> 2,16$)	99	49	
Tổng	202	100	

Nồng độ B2M trung bình trong huyết tương ở nhóm ULAT cao hơn nhóm đối chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Bảng 4) và 49% số BN này có nồng độ B2M huyết tương tăng cao hơn so với nhóm chứng (Bảng 5).

Theo kết quả nghiên cứu của Miyashita K

và CS (2015) [5], Nguyễn Thị Minh Phương và CS [1], B2M huyết tương là một yếu tố tiên lượng ở BN ULAT khi điều trị theo phác đồ R-CHOP. Nồng độ B2M huyết tương tăng là do tăng sinh các tế bào ác tính, đặc biệt liên quan đến dòng tế bào lympho (như bệnh ULAT). B2M huyết tương có vai trò

theo dõi, điều trị bệnh như một yếu tố độc lập trong tiên lượng thời gian sống của BN ULAT. Nghiên cứu của Federico và CS (2007) [3] trên 236 BN ULAT thấy rằng 35% BN có chỉ số B2M huyết tương tăng. Tăng B2M huyết tương là dấu hiệu tiên lượng kém trong tất cả các giai đoạn bệnh ULAT. Các tác giả cho rằng những BN giai

đoạn I, II có nồng độ B2M huyết tương cao sẽ có tỷ lệ tái phát cao hơn so với BN có nồng độ B2M huyết tương bình thường; BN giai đoạn III, IV có nồng độ B2M huyết tương ban đầu > 3,5 mg/L có tuổi thọ ngắn hơn những người có nồng độ B2M huyết tương ban đầu < 3,5 mg/L một cách đáng kể.

3.4. Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm ĐUTX

Bảng 6. Nồng độ B2M huyết tương ở nhóm ĐUTX

B2M (mg/L) Đối tượng	Min - Max	X ± SD	p
ĐUTX (n=89)	1,38 – 16,2	4,26 ± 2,92	< 0,05
Nhóm chứng (n=343)	0,96 – 3,83	1,49 ± 0,34	

Bảng 7. Tỷ lệ tăng B2M huyết tương ở nhóm BN ĐUTX (giá trị tham chiếu là giới hạn trên $X \pm 2SD$ của nhóm đối chứng).

Nhóm B2M (mg/L)	ĐUTX		Giá trị giới hạn trên $X \pm 2SD$ của B2M máu ở nhóm đối chứng là 2,16
	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
Bình thường ($\leq 2,16$)	18	20,22	
Tăng ($> 2,16$)	71	79,78	
Tổng	89	100	

Nồng độ B2M trung bình trong máu ở nhóm ĐUTX cao hơn nhóm đối chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (Bảng 6) và 79,78% BN ĐUTX có nồng độ B2M huyết tương tăng cao hơn so với nhóm chứng (Bảng 7).

Nghiên cứu của Jae-Pil Yun và CS (2006) [4] trên 167 BN ĐUTX thấy nồng độ B2M

trung bình trong máu là 5,5 mg/L. Nghiên cứu chỉ ra rằng nồng độ B2M trung bình trong máu không có ý nghĩa ở những bệnh nhân có độ thanh thải creatinin của thận > 30 mL/phút, giá trị tiên lượng của xét nghiệm B2M chủ yếu liên quan đến chức năng thận suy giảm.

3.5. So sánh nồng độ B2M huyết tương ở nhóm STMT, ULAT và ĐUTX

Bảng 8. Nồng độ B2M ở nhóm STMT, ULAT và ĐUTX

B2M (mg/L) Đối tượng	Min - Max	X ± SD	p
1. STMT (n=23)	13,24 – 26,44	22,25 ± 3,98	$p_{1,2} < 0,001$ $p_{1,3} < 0,001$ $p_{2,3} < 0,05$ $p_{1,2,3,4} < 0,05$
2. ULAT (n=202)	1,08 – 12,83	2,49 ± 1,39	
3. ĐUTX (n=89)	1,38 – 16,2	4,26 ± 2,92	
4. Nhóm chứng (n=343)	0,96 – 3,83	1,49 ± 0,34	

Nồng độ B2M huyết tương trung bình ở nhóm BN STMT cao nhất, tiếp đến lần lượt là nhóm BN ĐUTX và nhóm BN ULAT; cả ba nhóm BN này đều có B2M huyết tương trung bình cao hơn nhóm chứng (Bảng 8).

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu nồng độ B2M ở các BN STMT, ULAT và ĐUTX, chúng tôi nhận thấy:

- Nồng độ B2M huyết tương trung bình ở cả ba nhóm BN này đều cao hơn nhóm đối chứng ($p < 0,05$); trong đó nhóm BN STMT có nồng độ B2M trung bình cao nhất, tiếp đến lần lượt là nhóm BN ĐUTX và nhóm BN ULAT.

- 100% BN STMT, 49% BN ULAT và 79,78% BN ĐUTX tăng nồng độ B2M huyết tương so với nhóm chứng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thị Minh Phương và CS. Bước đầu đánh giá kết quả điều trị ULAT không Hodgkin bằng phác đồ R-CHOP tại Bệnh

viện TWQĐ 108. Tạp chí Y - Dược học Quân sự. 2014, 2, tr.233-239.

2. Trần Kim Cương. Đánh giá hiệu quả lọc beta2-microglobulin và hiệu quả buổi lọc với màng siêu lọc cao ở BN suy thận mạn chạy thận nhân tạo chu kỳ. Luận văn Thạc sỹ Y học. 2008, tr.49-50.

3. Federico M, Guglielmi C, Luminari S et al. Prognostic relevance of serum beta 2 microglobulin in patients with follicular lymphoma treated with anthracycline-containing regimens. AGISL study. Haematologica. 2007, 92 (11), pp.1482-1488.

4. Jae-Pil Yun et al. Comparison of serum beta 2-microglobulin and 24 hour urinary creatinine clearance as a prognostic factor in multiple myeloma. J Korean Med Sci 2006; 21: 639-44.

5. Miyashita K, Tomita N, Taguri M et al. Beta-2 microglobulin is a strong prognostic factor in patients with DLBCL receiving R-CHOP therapy. Leukemia Research. 2015, 39, pp.1187-1191.

6. Mumtaz A et al. Beta-2 microglobulin levels in hemodialysis patients. Saudi J Kidney Dis Transpl. 2010, 21 (4), pp.701-706.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ ALPHA 2 MACROGLOBULIN Ở BỆNH NHÂN XƠ GAN DO RƯỢU

Hà Thị Hạnh Dung¹, Vũ Quang Hợp², Lê Thanh Hà², Phạm Văn Trân²

TÓM TẮT

Mục tiêu của đề tài là xác định nồng độ alpha 2 macroglobulin (A2M) ở bệnh nhân (BN) xơ

gan do rượu. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu trên 100 người tình nguyện chia hai nhóm: Nhóm chứng gồm 50 người bình thường khỏe mạnh và nhóm bệnh gồm 50 BN xơ gan do rượu. Tuyển chọn BN, người tình nguyện, lấy máu định lượng nồng độ A2M huyết tương theo phương pháp hóa miễn dịch đo độ đục. **Kết quả:** tỷ lệ BN xơ gan do rượu ở nam là chủ yếu tỉ lệ 49/1 so với ở nữ, gặp tuổi trung niên 40-60 (76%). Tỷ lệ BN có triệu

¹Trường Cao đẳng Y tế Hà Đông

²Bệnh viện Quân y 103-Học Viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Hà Thị Hạnh Dung

Email: phamvantran@yahoo.fr

Ngày nhận bài: 1.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 15.10.2020

Ngày duyệt bài: 25.10.2020

chứng chán ăn, mệt mỏi, tuần hoàn bàng hệ, cổ trướng, xuất huyết tiêu hóa là 100%, 98%, 48,0%, 62%, 56,0%. Nồng độ A2M ở BN xơ gan do rượu ($2,04 \pm 0,45 \text{ g/l}$) có sự khác biệt với nhóm chứng ($1,57 \pm 0,33 \text{ g/l}$), $p < 0,001$. Điểm cắt của A2M là 1,918 với độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 52% và 100%; giá trị chẩn đoán dương 100%; giá trị chẩn đoán âm 67,18%.

Kết luận: Nồng độ alpha 2 macroglobulin huyết tương tăng cao có giá trị trong chẩn đoán xơ gan do rượu.

Từ khóa: Xơ gan do rượu, Alpha-2 macroglobulin.

SUMMARY

STUDY OF ALPHA-2 MACROGLOBULIN CONCENTRATION IN ALCOHOL CIRRHOSIS

The objective to determine of alpha-2 macroglobulin (A2M) concentration in patients with alcoholic cirrhosis. **Methods:** The study was done on 100 volunteers divided into two groups: The control group consisted of 50 normal healthy persons and the disease group included 50 patients with alcoholic cirrhosis. The selection of patients, volunteers and the quantification of the concentration of A2M in plasma are based on to the immunochemical method to measure turbidity. **Results:** the rate of patients with alcoholic cirrhosis is mainly found in men (49/1) compared with women, and the average age of alcoholic cirrhosis is 50.84 ± 8.67 . The rate of patients with symptoms of anorexia, fatigue, collateral circulation, ascites, gastrointestinal bleeding was 100%, 98.0%, 48.0%, 62.0%, 56.0%. A2M concentration in patients with alcoholic cirrhosis ($2.04 \pm 0.45 \text{ g/l}$) was different from the control group ($1.57 \pm 0.33 \text{ g/l}$), $p < 0.001$. The A2M cut-off point is 1,918 with 52% and 100% sensitivity and specificity, respectively; positive diagnostic value 100%; negative diagnostic value 67.18%. **Conclusion:**

Blood alpha 2 macroglobulin levels higher in patients with alcoholic cirrhosis in comparison with the control group.

Keywords: Alcoholic cirrhosis, alpha 2 macroglobulin.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ gan là một bệnh gan mạn tính được đặc trưng bởi sự thay thế tế bào gan bằng mô xơ sẹo, tạo các nốt tân sinh dẫn đến mất chức năng gan, tăng áp lực tĩnh mạch cửa. Xơ gan có thể gây ra biến chứng trên nhiều cơ quan như bệnh não gan, hội chứng gan thận, hội chứng gan phổi, xuất huyết tiêu hóa do giãn vỡ tĩnh mạch thực quản, ung thư hóa... có thể dẫn đến tử vong. Xơ gan do nhiều nguyên nhân khác nhau gây ra, trong đó nhiễm virus viêm gan B/C và rượu là 2 nguyên nhân chính.

Ở Việt Nam tỷ lệ lạm dụng rượu và nghiện rượu trong cộng đồng rất cao. Theo nghiên cứu của Viện sức khỏe tâm thần, tỷ lệ nghiện rượu trong nhân dân ở một số địa phương từ 1,7-6,4% dân số [1]. Xơ gan là nguyên nhân gây tử vong đứng thứ 8 ở nam giới và thứ 9 ở nữ giới trong đó 65% trường hợp là xơ gan do rượu [2]. Ở bệnh nhân xơ gan rượu do suy giảm chức năng gan dẫn đến giảm tổng hợp protein, đặc biệt trong đó có alpha 2 macroglobulin (A2M). A2M là một protein huyết tương phân tử lớn tìm thấy trong máu, được sản xuất chủ yếu tại gan, ngoài ra còn có nguồn gốc từ đại thực bào, nguyên bào sợi, tế bào vỏ thượng thận.

A2M có thể bất hoạt hầu hết proteinase (bao gồm cả serine cysteine, aspartic và metalloproteinase). A2M hoạt động như một chất chống huyết khối bởi ức chế plasmin và kallikrein, nó ức chế đông máu bằng cả chức chế thrombin. A2M có khả năng hoạt động như một protein vận

chuyển, nó liên kết với rất nhiều yếu tố tăng trưởng và phân bào như yếu tố tiểu cầu, yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi cơ bản, TGF- β , insulin và IL-1 β . Tác động và ức chế chức năng của hệ thống bạch huyết. A2M có tác dụng chống xơ hóa đối với sự tổng hợp mạng lưới do TGF gây ra trong quá trình xơ hóa gan. Do đó, nồng độ A2M sẽ thay đổi nhất định trong bệnh lý xơ gan, nhất là ở giai đoạn xơ gan nặng khi chức năng chuyển hóa protein của gan bị ảnh hưởng nghiêm trọng [6].

Trên thế giới đã có một số nghiên cứu về chỉ số A2M và mối liên quan của nó với bệnh nhân xơ gan. Ở Việt Nam chưa có nghiên cứu về alpha 2 macroglobulin trên bệnh nhân xơ gan do rượu. Vì vậy đề tài nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định nồng độ alpha 2 macroglobulin ở bệnh nhân xơ gan do rượu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

Nghiên cứu trên 100 người tình nguyện, chia thành hai nhóm. Nhóm chứng gồm 50 người bình thường khỏe mạnh và nhóm bệnh gồm 50 BN xơ gan do rượu được điều trị tại khoa Tiêu hóa bệnh viện 103 từ tháng 10/2019- 5/2020. Bệnh nhân xơ gan được lựa chọn dựa trên hội chứng suy chức năng gan,

hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa, siêu âm gan và kết quả sinh thiết gan. Xác định nguyên nhân xơ gan do rượu dựa vào tiền sử lạm dụng rượu: Chẩn đoán nghiện rượu dựa vào bộ câu hỏi AUDIT của WHO: Nam > 8 điểm, nữ > 4 điểm.

Tiêu chuẩn loại trừ: Loại trừ các bệnh nhân nhiễm virus viêm gan B/C, HIV, có các bệnh kết hợp khác.

Nhóm chứng lựa chọn 50 người bình thường, khỏe mạnh có các chỉ số nhân trắc tương đương với nhóm bệnh, tình nguyện tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu.

- Lập hồ sơ bệnh án, tuyển chọn BN, người tình nguyện khỏe mạnh, lấy 2 ml máu TM lúc đói, chống đông heparin. Ly tâm, tách lấy huyết tương làm xét nghiệm.

- Định lượng nồng độ A2M trong huyết tương theo phương pháp hóa miễn dịch đo độ đục sử dụng kit của hãng dialab trên hệ thống Au5800 (Beckman Coulter, Hà Nội, Việt Nam).

- Số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê y học theo chương trình SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 23.0 và hỗ trợ của phần mềm excel 2016.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu.

3.1.1. Phân bố bệnh nhân theo tuổi, giới.

Bảng 1. Phân bố bệnh nhân xơ gan theo tuổi, giới

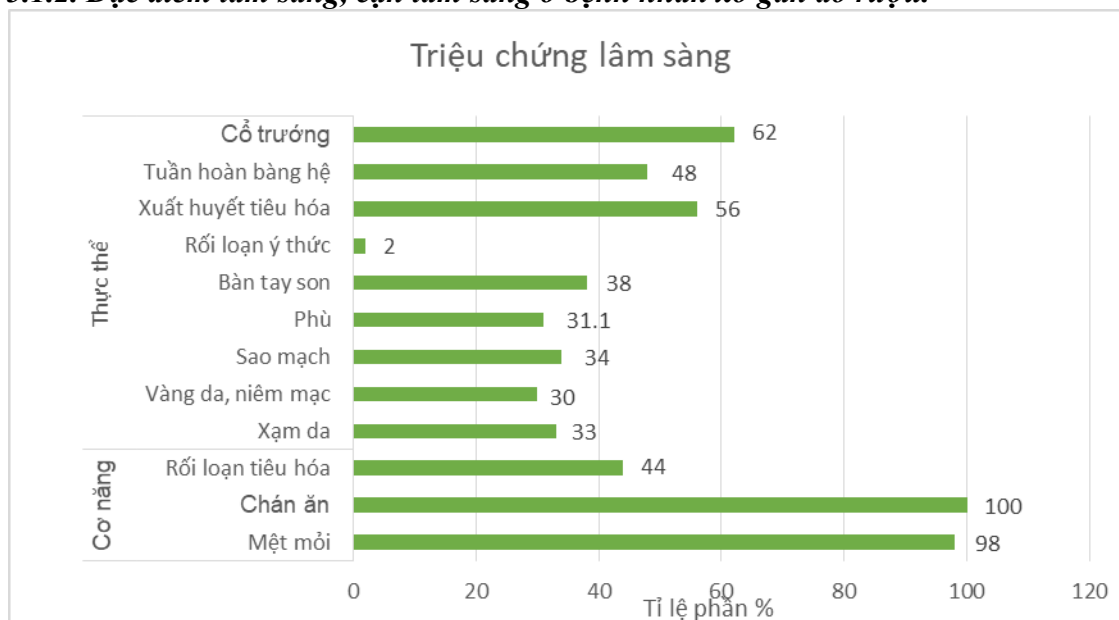
Giới Nhóm tuổi	Nam		Nữ		Tổng số	
	Số BN(n)	Tỉ lệ(%)	Số BN(n)	Tỉ lệ(%)	Số BN(n)	Tỉ lệ(%)
<40	3	6,0	1	2,0	4	8,0
40 – 60	38	76,0	0	0	38	76,0
> 60	8	16,0	0	0	8	16,0
Tổng số	49	100,0	1	2,0	50	100

Nhận xét: - Xơ gan rượu gặp nhiều nhất ở nhóm tuổi trung niên 40-60 tuổi.

- Tuổi trung bình $50,76 \pm 8,69$.

- Chủ yếu gặp ở nam giới tỉ lệ 49/1.

3.1.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân xơ gan do rượu.



Biểu đồ 1: Đặc điểm lâm sàng bệnh nhân xơ gan rượu

Nhận xét: - Triệu chứng cơ năng gặp nhiều nhất là chán ăn, mệt mỏi.

- Triệu chứng thực thể biểu hiện nhiều nhất: cổ trướng, tuần hoàn bàng hệ, xuất huyết tiêu hóa.

Bảng 2. Hoạt độ AST, ALT, GGT của nhóm xơ gan do rượu

Hoạt độ	AST (U/L)		ALT (U/L)		GGT (U/L)	
	n	%	n	%	n	%
Không tăng	5	10,0	21	42,0	6	12,0
Tăng nhẹ	38	76,0	29	58,0	25	50,0
Tăng vừa	6	12,0	0	0	4	8,0
Tăng cao	1	2,0	0	0	15	30,0
Tứ phân vị 1	65,27		27,68		68,59	
Trung vị	102,17		42,70		155,99	
Tứ phân vị 3	154,97		59,36		635,04	
Min-Max	19,33-555,86		5,25-184,29		15,6-1679,7	

Nhận xét: - Hoạt độ AST huyết tương chủ yếu tăng nhẹ từ 40-200U/L.

- Hoạt độ ALT huyết tương chỉ gặp không tăng (<40 U/L) và tăng nhẹ (40-200U/L).

Không gặp bệnh nhân hoạt độ ALT tăng vừa (200-400U/L) và tăng cao (>400U/L)

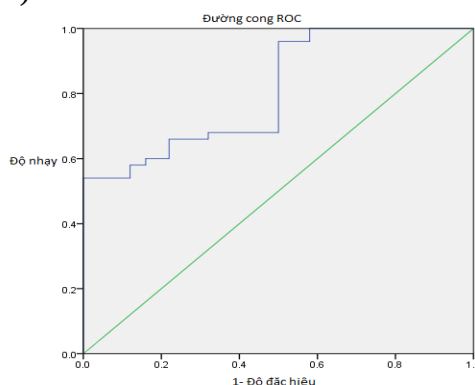
- Hoạt độ GGT huyết tương chủ yếu là tăng nhẹ (50-250U/L) và tăng cao (>500U/L).

3.2. Nồng độ A2M ở bệnh nhân xơ gan do rượu.

Bảng 3. Nồng độ A2M ở đối tượng nghiên cứu với nhóm chứng

A2M Nhóm	Min-Max	Trung vị	$\bar{x} \pm SD$	p
Nhóm xơ gan do rượu	1,36-3,07	1,93	2,04 $\pm$ 0,45	<0,001
Nhóm chứng thường	1,14-1,92	1,63	1,57 $\pm$ 0,33	

Nhận xét: Nồng độ Alpha 2 Macroglobulin trung bình huyết tương ở nhóm bệnh khác biệt so với nhóm chứng ($p < 0,001$).



Hình 1. Đường cong ROC của nồng độ A2M giữa nhóm xơ gan do rượu và nhóm chứng: Giá trị diện tích dưới đường cong (AUC): 0,79 với $p < 0,001$; giá trị A2M có khả năng phân biệt tốt giữa nhóm xơ gan do rượu và nhóm chứng thường. Dùng chỉ số Youden (Youden index) J tìm điểm cắt: $J = \max(se + sp - 1) = 0,52$ điểm cắt của A2M là 1,918.

Bảng 4. Giá trị A2M trong chẩn đoán xơ gan do rượu

A2M Nhóm	Nhóm xơ gan do rượu		Nhóm chứng		P
	Số lượng (n)	Tỉ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỉ lệ (%)	
Bình thường (<1,918)	24	48,0	50	100	<0,001
Tăng ($\geq 1,918$)	26	52,0	0	0	
Tổng	50	100	50	100	

IV. BÀN LUẬN

Bảng 1 cho kết quả xơ gan do rượu gặp nhiều nhất ở nhóm tuổi trung niên 40-60 tuổi (76,0%). Tuổi trung bình $50,84 \pm 8,67$. Kết quả này thấp hơn kết quả nghiên cứu của Phạm Thị Dung (2018) nghiên cứu ở 60 bệnh nhân xơ gan do rượu tại khoa Tiêu hóa, bệnh viện Quân y 103, có độ tuổi trung bình là $52,73 \pm 8,35$ [3]. Tương đương kết quả nghiên cứu của tác giả Louvet A (49,7 tuổi) [7]. Cao hơn kết quả nghiên cứu của Sylvie

Naveau và CS (2008) trên 218 bệnh nhân xơ gan do rượu với tuổi trung bình ($47 \pm 0,7$) [9]. Triệu chứng lâm sàng thường gặp là: chán ăn, mệt mỏi, cổ trướng, xuất huyết tiêu hóa, tuần hoàn bàng hệ. Tương đương kết quả của tác giả Phạm Thị Dung (2018) nghiên cứu trên 60 bệnh nhân xơ gan do rượu: mệt mỏi thường xuyên (100,0%); xạm da (73,3%); phù 2 chi dưới (48,3%); rối loạn tiêu hóa 38,3% [3]. Kết quả bảng 2 bệnh nhân xơ gan do rượu hoạt độ ALT không tăng (< 40 U/L)

hoặc tăng nhẹ (40-200U/L). Kết quả này tương đương kết quả của Phạm Thị Dung (2018) trên bệnh nhân xơ gan rượu: đa phần bệnh nhân xơ gan (chiếm 78,3%) không tăng hoặc chỉ tăng nhẹ nồng độ enzym ALT < 80U/L, chỉ có 21,7% ALT $\geq$ 80U/L (>2 lần), trong khi có tới 75,0% số bệnh nhân tăng enzym AST $\geq$ 80U/L (> 2 lần) [3]. Kết quả nghiên cứu ở bảng 2 cho thấy hoạt độ AST, ALT (AST/ALT >2) là phù hợp với đặc điểm tăng enzym gan ở bệnh nhân xơ gan do rượu theo y văn. Hoạt độ GGT trong máu rất nhạy cảm với mức độ uống rượu. Khi uống một lượng rượu nhỏ cũng có thể làm tăng GGT (theo cơ chế cảm ứng tổng hợp enzym). Tăng cao hơn được tìm thấy trong lạm dụng rượu, nghiện rượu. Nồng độ Alpha 2 Macroglobulin trung bình trong máu ở nhóm bệnh là $2,04 \pm 0,45$ g/l cao hơn so với nhóm chứng là $1,57 \pm 0,33$ g/l sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với kết quả nghiên cứu nồng độ A2M của Phạm Văn Trân (2012) trên bệnh nhân xơ gan do virus HBV với A2M trung bình là $2,18 \pm 0,6$ g/l cao hơn nhóm chứng thường $1,57 \pm 0,31$ g/l [4]. Thấp hơn kết quả nghiên cứu của tác giả Atanasova và Cs (2015) trên bệnh nhân viêm gan C nồng độ trung bình A2M là $3,17 \pm 1,01$ g/L [5]. Tương tự kết quả của tác giả Munteanu và Cs (2004) đã nghiên cứu giá trị của Fibrotest ở bệnh nhân xơ gan trong đó có kết quả cho thấy nồng độ trung bình A2M tăng $2,15 \pm 0,78$ g/L so với nhóm chứng $1,77 \pm 0,43$ g/L [8].

V. KẾT LUẬN

Nồng độ alpha 2 macroglobulin huyết tương tăng cao có giá trị trong chẩn đoán xơ gan do rượu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Thế Khanh**(1997), "Nghiên cứu tình hình dịch tễ học lâm sàng lạm dụng rượu, nghiện rượu tại xã Quất Động", Y học thực hành, 12, 40-42.
2. **Hoàng Trọng Thắng** (2006), "Xơ gan", Nhà xuất bản Y Học 315-329.
3. **Phạm Thị Dung, Dương Quang Huy**(2018), "Nghiên cứu nồng độ homocystein huyết tương ở bệnh nhân xơ gan do rượu", Y dược học Quân sự 8-TV, 27-31.
4. **Trịnh Quốc Đạt, Phạm Văn Trân** (2012), "Nghiên cứu nồng độ Apolipoprotein A1 và Alpha 2- Macroglobulin trong huyết tương ở bệnh nhân xơ gan có nhiễm Virus viêm gan B", Tạp chí Y học Việt Nam, 8, 77-81.
5. **Ata. E. M .et al** (2015), "Alpha-2 Macroglobulin Is The Simplest Serum Biomarker For Liver Fibrosis And Fibrogenesis In Chronic Hepatitis C", Medical and Dental Practice (2), 153-164.
6. **Bond J. E., Cianciolo G. J., Pizzo S. V.** (2007), "Incorporation of low molecular weight molecules into alpha(2)-macroglobulin by nucleophilic exchange", Biochem Biophys Res Commun, 357(2), 433-8
7. **Louvet A., et al.** (2007), "The Lille model: a new tool for therapeutic strategy in patients with severe alcoholic hepatitis treated with steroids", Hepatology, 45(6), 1348-54.
8. **Munteanu M., et al.** (2004), "Intra-individual fasting versus postprandial variation of biochemical markers of liver fibrosis (FibroTest) and activity (ActiTest)", Comp Hepatol, 3(1), 3.
9. **Naveau S., et al.** (2009), "Diagnostic and prognostic values of noninvasive biomarkers of fibrosis in patients with alcoholic liver disease", Hepatology, 49(1), 97-105.

SỰ KẾT HỢP GIỮA ADA VÀ MỘT SỐ CYTOKINE TRONG DỊCH CỔ TRƯỞNG GÓP PHẦN CHẨN ĐOÁN SỚM LAO MÀNG BỤNG

Nguyễn Minh Hiền*, Bùi Thị Thu Hương**

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: ADA và các cytokine như IL- 1 β (Interleukin 1 β), IL-2, Interferon gama (IFN- γ) và tumor necrosis factor alpha (TNF- α) dịch chọc dò là công cụ có giá trị trong chẩn đoán sớm các thể lao ngoài phổi. **Mục tiêu:** Khảo sát giá trị ADA và một số cytokine trong dịch chọc dò để phát hiện lao màng bụng (LMB). **Đối tượng & phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang 47 bệnh nhân từ 16 tuổi trở lên bị tràn dịch màng bụng trong đó có 20 bệnh nhân lao và 27 bệnh nhân không do lao. Các bệnh nhân được lấy dịch chọc dò làm các xét nghiệm phát hiện vi sinh vật, hóa sinh. **Kết quả:** Điểm cut-off của ADA, IFN- γ , TNF- α dịch màng bụng tương ứng là 30.2U/L, 2.0 ng/mL và 56.8 pg/mL cho độ nhạy, lần lượt là 100%, 80.0% và 80.0 %, độ đặc hiệu 88.9%, 92.6% và 74.1%, kết hợp ADA và IFN- γ độ nhạy, giá trị dự đoán âm tính đạt tới 100%. **Kết luận:** ADA, IFN- γ , TNF- α dịch chọc dò là một chỉ điểm hữu ích trong chẩn đoán lao màng bụng.

Từ khóa: ADA, cytokine, IL-1 β , IL-2, Interferon gama, tumor necrosis factor alpha, lao màng bụng

SUMMARY

COMBINATION OF ASCITE FLUID

*Bệnh viện Thanh Nhàn

**Đại học Y dược Thái Nguyên,

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Minh Hiền

Email: hienshbvt@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 20.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

INTERFERON GAMA AND TUMOR NECROSIS FACTOR ALPHA CONCENTRATIONS FOR THE DIAGNOSIS TUBERCULOUS PERITONITIS

Background: ADA and some cytokines such as IL- 1 β (Interleukin 1 β), IL-2, Interferon gama (IFN- γ) và tumor necrosis factor alpha (TNF- α) in fluid are value tools for early diagnostic of extrapulmonary tuberculosis (TB). **Objectives:** To determine the value of ADA and some cytokines concentrations in ascites fluid for the diagnosis of tuberculous peritonitis. **Subjects & Methods:** A cross-sectional study was carried out 47 patients over 16 yeas old who have ascites, 20 patients has TB and 27 patients non TB. All of them were performed microbiological and biochemical detection tests. **Results:** Using of a cut off value of ADA, IFN- γ , TNF- α were 30.2 U/L, 2.0 ng/mL and 56.8 pg/mL, corresponding gave sensitivity of 100%, 80.0% and 80.0 %, specificity of 88.9%, 92,6 % and 74.1%, in addition ADA and IFN- γ tests, sensitivity, negative predictive value reach 100. **Conclusion:** ADA, IFN- γ , TNF- α concentrations in Ascite fluid are useful diagnostic tests for tuberculous peritonitic.

Keywords: ADA, cytokine, IL-1 β , IL-2, Interferon gama, tumor necrosis factor alpha,, tuberculous peritonitic.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lao màng bụng (LMB) chiếm 1% đến 2% trong tất cả các biểu hiện lâm sàng của lao, 31% đến 58% của lao bụng và 3,5% trường

hợp có liên quan đến lao phổi. Biến chứng hay gặp của lao màng bụng là nhiễm trùng máu, tắc ruột cấp tính, vô sinh ở phụ nữ, tỷ lệ tử vong của nó dao động từ 15% đến 31%, do đó LMB là một vấn đề sức khỏe cần được quan tâm đặc biệt là ở các khu vực lưu hành [1]. Trong những năm gần đây, mặc dù tỷ lệ mắc lao giảm dần nhưng bệnh lao vẫn là mối đe dọa nghiêm trọng cho sức khỏe cộng đồng. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng kết quả của bệnh lao một phần phụ thuộc vào khả năng miễn dịch của vật chủ bằng cách kích hoạt các tế bào miễn dịch và tạo ra những thay đổi các cytokine phức tạp. Phát hiện quần thể tế bào lympho và các cytokine liên quan ở bệnh nhân lao có thể mô tả các phản ứng này, một phân tử miễn dịch hoặc đáp ứng miễn dịch là một dấu ấn sinh học hữu ích để theo dõi phản ứng điều trị bệnh lao [2]. Đây là cơ sở thực hiện nghiên cứu với mục tiêu

Xác định giá trị của ADA, IL-1 β , IL-2, IFN- γ , TNF- α trong dịch cổ trướng trong phát hiện lao phúc mạc

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

- **Đối tượng nghiên cứu:** 47 bệnh nhân tràn dịch màng bụng (TDMB) điều trị tại bệnh viện Phổi Trung Ương, bệnh viện Phổi Hà Nội và bệnh viện Thanh Nhàn từ tháng 1/2019 – 8/2019.

- **Tiêu chuẩn loại trừ:** trẻ em < 16 tuổi. Bệnh nhân có kèm các bệnh về máu, bệnh tự miễn.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Nghiên cứu mô tả cắt ngang.
- Nồng độ IL-1 β , IL-2, IFN- γ , TNF- α trong dịch cổ trướng được xác định bằng phương pháp Elisa trên hệ thống Biotek. Hóa chất Human SimpleStep ELISA® Kit của

Abcam (Mỹ). Kỹ thuật được thực hiện tại khoa Hóa sinh bệnh viện Thanh Nhàn.

- Hoạt độ của ADA trong máu và dịch được xác định theo phương pháp động học enzym thực hiện trên máy Beckman Coulter AU 680

- Nuôi cấy vi sinh vật được thực hiện trên môi trường lỏng MGIT hệ thống BATEC 960

- Các chỉ số khác (AFB đờm, Giải phẫu bệnh) được thực hiện theo quy trình chuẩn tại bệnh viện Phổi Trung Ương

- Xác định các nguyên nhân Viêm phổi-màng phổi, bệnh ác tính, xơ gan theo tiêu chuẩn của Bộ Y tế.

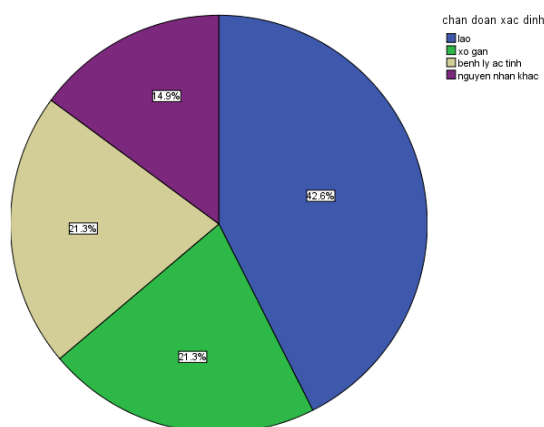
- Mẫu bảo quản ở nhiệt độ thường trong 2h, ở -35 $^{\circ}$ C trong 3 tháng, thử nghiệm cho thấy mẫu dịch nếu bảo quản ở nhiệt độ 2-7 $^{\circ}$ C sau 24h có thể làm sai lệch kết quả.

- Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 22.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

BIỂU ĐỒ PHÂN BỐ TỶ LỆ CÁC NHÓM BỆNH TRONG NGHIÊN CỨU



Hình 1: Biểu đồ tỷ lệ các nhóm nguyên nhân gây tràn dịch màng bụng (TDMB)

Nhận xét: Trong số các nguyên nhân gây TDMB có 20 trường hợp (chiếm 42.6%) là do lao, xơ gan có 10 trường hợp (chiếm 21.3%), có 10 trường hợp (chiếm 21.3%) là do ung thư di căn phúc mạc, các nguyên nhân khác như bao gồm suy tim, hội chứng Pick, viêm phúc mạc...có 7 trường hợp chiếm 14.9%.

Bảng 2. Một số đặc điểm nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	TDMB		
	Lao n = 20	Không lao n = 27	p
Giới			0.5
Nam (%)	14 (70%)	17 (62.9%)	
Nữ (%)	6 (30%)	10 (37.0%)	
Tuổi			0.2
Min÷Max	21÷79	28÷78	
Median (IQR)	54.5 (28.0)	56.0 (19.0)	
Các triệu chứng lâm sàng			
Sốt	10 (50.0%)	6 (22.2%)	0,06
Gầy sút	5 (40.0%)	4 (18.5%)	0,3
Chướng bụng	12 (60.0%)	21 (77.8%)	0,2
Đau bụng	6 (30.0%)	8 (29.6%)	0,6
Xét nghiệm cận lâm sàng			
Trong máu (median – IQR)			
Bạch cầu (G/L)	6,4 (2.6)	7.3 (8.8)	0.3
CRP (mg/L)	36.8 (71.5)	21.3 (86.6)	0.1
Trong dịch màng bụng (median – IQR)			
LDH (U/L)	231.5 (265.0)	193.9 (114.0)	0.04
Protein (g/L)	55.2 (27.9)	21,6 (23.7)	0.001
Tế bào (TB/mm ³)	2790 (4770)	370 (710)	0.001
% lympho	70.0 (17.0)	63.0 (30.0)	0.02
ADA (U/L)	63.5 (23.8)	17.7 (13.7)	<0,001
IL-1β (pg/mL)	189.7 (234.0)	49.9 (158.8)	0,01
IL-2 (pg/mL)	92.0 (217.9)	53.6 (43.1)	0,02
TNF-α (pg/mL)	103.1 (366.1)	4.7 (157.0)	<0,001
IFN-γ (ng/mL)	2.8 (1.5)	0.5 (0.9)	<0,001

IQR: interquatile range (Khoảng tứ phân vị)

Nhận xét: không có sự khác biệt giữa trung bình tuổi, tỷ lệ giới nam và nữ giữa TDMB do lao và không lao ($p > 0.05$). Không có sự khác biệt về các triệu chứng lâm sàng hay gặp như sốt, sút cân, đau bụng, chướng bụng ($p > 0.05$). Hoạt độ ADA dịch màng bụng của nhóm lao màng bụng cao hơn các nhóm TDMB do

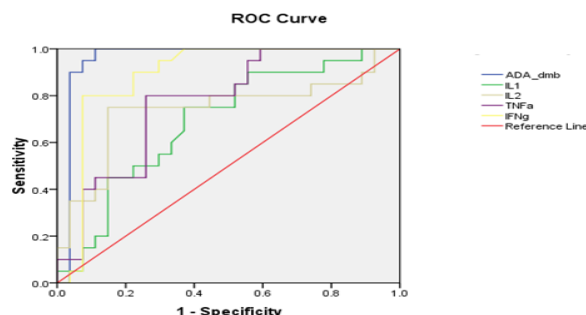
nguyên nhân khác bao gồm: xơ gan, bệnh lý ác tính di căn màng bụng,... Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Kết quả này tương tự một số nghiên cứu khác. Nghiên cứu tại Nam Phi trên 178 bệnh nhân tràn dịch màng bụng: ADA của nhóm lao màng bụng là 61,6 (17,5-115) U/L; các nhóm nguyên nhân khác bao gồm xơ gan là 6,5 (0-83,5) U/L, bệnh lý ác tính là 16,2 (4,4-100,9) U/L. Sự khác nhau có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ [3]. Nghiên cứu tại Ai Cập trên 41 bệnh nhân tràn dịch màng bụng, trong đó 34% là lao màng bụng: hoạt độ ADA trung bình nhóm lao màng bụng ($70,3 \pm 26,3$ U/L) cao hơn nhóm tràn dịch do nguyên nhân khác $24,1 \pm 7,4$ U/L ($p < 0,001$) [4].

Nồng độ IL-1 β , IL-2 ở nhóm lao màng bụng cao hơn so với các nguyên nhân khác,

sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Theo Hamed E. A (2004), nồng độ TNF- α ở bệnh nhân TDMP do lao cao hơn nhóm TDMP do ung thư với $p < 0,001$ [5]. Nguyên cứu của các nhà khoa học Thổ Nhĩ Kỳ trên 77 bệnh nhân mắc bệnh cổ trướng và 20 người khỏe mạnh. Các bệnh nhân được chia thành ba nhóm: nhóm ác tính, xơ gan và lao. Kết quả cho thấy nồng độ TNF- α trong dịch cổ trướng của nhóm bị lao là $65,5 \pm 18,4$ ng/mL cao hơn so với nhóm ác tính là $29,6 \pm 7,1$ ng/mL và nhóm xơ gan $30,3 \pm 6,4$ ng/mL, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Nồng độ TNF- α khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở bệnh nhân xơ gan và bệnh lý ác tính. Nồng độ IFN- γ trung vị trong nhóm TDMP do lao cao hơn nhóm không do lao.

2. Giá trị của ADA, IL-1 β , IL-2, IFN- γ , TNF- α dịch cổ trướng trong chẩn đoán LMB



Hình 2: Biểu đồ ROC đánh giá giá trị phân biệt của ADA, IL-1 β , IL-2, IFN- γ , TNF- α trong chẩn đoán LMB

	AUC	95% CI	p
ADA (U/L)	0,96	0,89 – 1.0	<0,001
IL-1 β (pg/mL)	0.72	0.57 – 0.87	0.01
IL-2 (pg/mL)	0.73	0.57 – 0.89	0.006
TNF- α (pg/mL)	0.77	0.63 – 0.91	0.002
IFN- γ (ng/mL)	0.89	0.79 – 0.99	<0.0001

Nhận xét: Xét nghiệm ADA và IFN- γ có diện tích dưới đường cong cao trên 0.8, ADA và IFN- γ có giá trị phân biệt tốt lao màng bụng ($p < 0.05$).

IL-1 β , IL-2, TNF- α có diện tích dưới đường cong từ 0.6 đến 0.8 có giá trị phân biệt lao màng bụng ở mức tạm được ($p < 0.05$). Theo kết quả của Tao.Lin (2014)

tổng hợp trên 17 nghiên cứu và 1797 đối tượng cho thấy AUC của ADA dịch màng bụng trong chẩn đoán lao là 0.977. ADA được coi là tiêu chí quan trọng trong chẩn đoán lao [6]. Sharma S. K (2006) cho thấy AUC của IFN- γ và ADA là 0.99 và 0.98 với $p < 0.05$ [7].

Bảng 3: Giá trị một số xét nghiệm trong chẩn đoán lao màng bụng

Xét nghiệm	Bệnh phẩm	n	Se %	Sp %	PPV %	NPV %	ACC %
ADA ($\geq 30,2$ U/L)	DMB	47	100	88.9	86.9	100	93.6
IL-1 β (≥ 112.8 pg/mL)	DMB	47	75.0	62.9	60.0	77.3	70.2
IL-2 (≥ 86.0 pg/mL)	DMB	47	75	85.2	78.9	82.1	80.9
TNF- α (≥ 56.8 pg/mL)	DMB	47	80.0	74.1	69.6	83.3	76.6
IFN- γ (≥ 2.0 ng/mL)	DMB	47	80.0	92.6	88.9	86.2	87.2
ADA + IFN- γ *	DMB	47	100	85.2	83.3	100	91.5
TNF- α + IFN- γ *	DMB	47	90.0	70.3	69.2	90.5	78.7
Nhuộm soi trực tiếp tìm AFB	Đờm	25	7.6	91.7	50	47.8	52.0
Nuôi cấy MGIT	DMB	47	33.3	100	100	65.0	72.3
	Tất cả	47	38.1	96.2	88.9	52.9	72.3
Giải phẫu bệnh	Mô sinh thiết	17	88,9	100	100	88,9	94.1

(Se: độ nhạy. Sp: độ đặc hiệu. PPV: giá trị dự đoán dương tính. NPV: giá trị dự đoán âm tính, ACC giá trị phương pháp chẩn đoán).

* Giá trị dương tính khi có ít nhất một trong hai test $\geq$ giá trị cut off, âm tính khi cả hai đều $<$ giá trị cut off.

Nhận xét:

Về giá trị ADA: ngưỡng ADA 30,2 UI/L độ nhạy là 100%; độ đặc hiệu là 88,9%, giá trị dự đoán dương tính là 86.9%, âm tính là 100%.

Nghiên cứu tại Nam Phi sử dụng ngưỡng cut-off 30 U/L cho độ nhạy 94%, độ đặc hiệu 92%, PPV 57%, NPV 99% [3]. Nghiên cứu tại Ai Cập sử dụng ngưỡng cut-off 35 U/L cho độ nhạy 100%; độ đặc hiệu 92,6%; PPV

87,5%; NPV 100% [4]. Một nghiên cứu của Hàn Quốc cũng cho thấy độ nhạy chẩn đoán của ADA đối với viêm phúc mạc do lao là 94,2% và giá trị tiên đoán dương của nó là 75% [8]. Theo Liu R. với ngưỡng ADA 31.5U/L độ nhạy, độ đặc hiệu cho chẩn đoán lao là 88.6% và 92.1%. Nghiên cứu của Trần Thị Khánh Tường và cộng sự sử dụng ngưỡng cut-off 40 U/L, độ nhạy và độ đặc hiệu đều đạt 100% [9]. Một phân tích gộp

dựa trên 16 nghiên cứu đã được công bố có liên quan đến ADA trong chẩn đoán lao màng bụng đã được thực hiện. Cỡ mẫu trung bình của các nghiên cứu là 49 (41-368). Ngưỡng cut-off của ADA dịch màng bụng ≥ 30 (30-40) U/L được sử dụng trong 14 nghiên cứu và < 30 U/L được sử dụng trong 2 nghiên cứu (bao gồm 21 và 7 U/L). Độ nhạy và độ đặc hiệu được xác định là 93% (95%CI: 89-95%) và 96% (95%CI: 94-97%) [10].

Tuy nhiên nghiên cứu của Mỹ cho rằng hoạt độ ADA dịch cổ trướng có độ nhạy kém và độ đặc hiệu hạn chế ở khu vực không lưu hành lao và xơ gan tiềm ẩn là phổ biến.

Về giá trị chẩn đoán của IL-1 β : Điểm cut-off 112.8 pg/mL của IL-1 β mang lại giá trị chẩn đoán lao màng bụng với độ nhạy, độ đặc hiệu giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính, giá trị chẩn đoán đúng lần lượt là: 75.0%, 62.9%, 60.0%, 77.3%, 70.2%. Trong số 10 ca dương tính giả có ba trường hợp viêm phúc mạc do gram (-), những trường hợp này có số lượng dịch không nhiều, triệu chứng nhiễm trùng rõ, 7 trường hợp khác thì có 5 trường hợp ở nhóm xơ gan, một trường hợp ở nhóm bệnh lý ác tính.

Về giá trị chẩn đoán của IL-2: Điểm cut-off 86.0 pg/mL của IL-2 mang lại giá trị chẩn đoán lao màng bụng với độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính, giá trị chẩn đoán đúng lần lượt là: 75.0%, 85.2%, 78.9%, 82.1%, 80.9%. Trong số 4 ca dương tính giả có 2 trường hợp viêm phúc mạc do gram (-), triệu chứng nhiễm trùng rõ, trường hợp này tăng cả IL-1 β . Hai trường hợp còn lại có một trường hợp là xơ gan, một trường hợp là bệnh lý ác tính.

Về giá trị chẩn đoán của TNF- α : Điểm cut-off 56.8 pg/mL của TNF- α mang lại giá

trị chẩn đoán lao màng bụng với độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự đoán dương tính, giá trị dự đoán âm tính, giá trị chẩn đoán đúng lần lượt là 80.0%, 74.1%, 69.6, 83.3, 76.6.

Chúng tôi chưa thấy có công bố nào đánh giá về giá trị IL-1 β , IL-2, TNF- α trong chẩn đoán lao màng bụng.

Về giá trị chẩn đoán của IFN- γ : Với ngưỡng IFN- γ trong dịch màng bụng là 2.0 ng/mL, độ nhạy là 80.0%; độ đặc hiệu là 92.6%, giá trị dự đoán âm tính là 86.2%, giá trị dự đoán dương tính là 88.9%, độ chính xác là 87.2%.

Nghiên cứu của Sharma S. K. trên 31 bệnh nhân TDMB do lao và 88 bệnh nhân TDMB không do lao, với ngưỡng IFN- γ 112 pg/mL có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 0.97 và 0.94, để phân biệt lao màng bụng và TDMB do bệnh lý ác tính [7]. Saleh M. A (2012) nghiên cứu trên 14 bệnh nhân lao phúc mạc và 27 bệnh nhân TDMB do nguyên nhân khác cho thấy độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị chẩn đoán dương tính, giá trị chẩn đoán âm tính của IFN- γ trong chẩn đoán lao lần lượt là 92.9%, 100%, 100%, 96.4% [4]. Nghiên cứu của Zhou, L. cũng cho thấy giá trị của IFN- γ trong chẩn đoán lao là rất cao với độ nhạy 91.7%, độ đặc hiệu 76.5%, giá trị dự đoán dương tính là 84.6% [11].

Các nghiên cứu cho thấy giá trị chẩn đoán phân biệt TDMB do lao của IFN- γ đều cao.

Về giá trị chẩn đoán khi kết hợp các test:

- Khi kết hợp ADA và IFN- γ giá trị chẩn đoán thấp hơn khi chỉ sử dụng ADA. Các nghiên cứu của Sharma S. K [7], đánh giá đồng thời hoạt độ ADA và nồng độ IFN- γ đều cho rằng ADA và IFN- γ là những xét nghiệm có giá trị cao trong chẩn đoán lao màng bụng với độ nhạy, độ đặc hiệu trên

90%, và các nghiên cứu đều không đưa ra ý kiến về sự kết hợp hai marker này trong chẩn đoán. Chúng tôi cũng cho rằng với một xét nghiệm có độ nhạy tốt như ADA việc kết hợp thêm một xét nghiệm khác sẽ tăng thêm giá trị dự đoán âm tính.

- Khi kết hợp TNF- α và IFN- γ thì độ nhạy chẩn đoán tăng lên 90%, giá trị dự đoán âm tính là 90%, khi cả hai test đều thấp hơn giá trị cut off nguy cơ bị lao là rất thấp.

Giá trị chẩn đoán tăng lên khi kết hợp nhiều test, khi tất cả các test cùng dương tính nguy cơ bị lao có thể đến 100% ngược lại nếu cùng âm tính nguy cơ bị lao là rất thấp.

V. KẾT LUẬN

ADA, IFN- γ , TNF- α dịch chọc dò là một xét nghiệm hữu ích trong chẩn đoán lao màng bụng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Henrard, S., et al.**, Proportions of interferon- γ -producing ascites lymphocytes in response to mycobacterial antigens: A help for early diagnosis of peritoneal tuberculosis in a low TB incidence country. *PLoS One*, 2019. **14**(4): p. e0214333.
2. **Luo, X., et al.**, Immunological recovery in patients with pulmonary tuberculosis after intensive phase treatment. *J Int Med Res*, 2018. **46**(9): p. 3539-3551.
3. **Burgess, L.J., C.G. Swanepoel, and J.J. Taljaard**, The use of adenosine deaminase as a diagnostic tool for peritoneal tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)*, 2001. **81**(3): p. 243-8.
4. **Saleh, M.A., et al.**, Use of adenosine deaminase measurements and QuantiFERON in the rapid diagnosis of tuberculous peritonitis. *J Med Microbiol*, 2012. **61**(Pt 4): p. 514-9.
5. **Hamed, E.A., et al.**, Vasoactive mediators (VEGF and TNF-alpha) in patients with malignant and tuberculous pleural effusions. *Respirology*, 2004. **9**(1): p. 81-6.
6. **Tao, L., et al.**, Diagnostic value of adenosine deaminase in ascites for tuberculosis ascites: a meta-analysis. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2014. **79**(1): p. 102-7.
7. **Sharma, S.K., et al.**, Diagnostic accuracy of ascitic fluid IFN-gamma and adenosine deaminase assays in the diagnosis of tuberculous ascites. *J Interferon Cytokine Res*, 2006. **26**(7): p. 484-8.
8. **Hwangbo, Y., et al.**, [Etiologic and laboratory analyses of ascites in patients who underwent diagnostic paracentesis]. *Korean J Hepatol*, 2007. **13**(2): p. 185-95.
9. **Trần Thị Khánh Tường et al**, Đánh giá ban đầu giá trị của Adenosin Deaminase (ADA) trong dịch báng để chẩn đoán lao màng bụng. *Nghiên cứu y học*, 2011. **15**(2): p. 1-5.
10. **Shen, Y.C., et al.**, Diagnostic accuracy of adenosine deaminase for tuberculous peritonitis: a meta-analysis. *Arch Med Sci*, 2013. **9**(4): p. 601-7.
11. **Zhou, L., et al.**, [T-SPOT.TB in the diagnosis of tuberculous peritonitis]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2013. **38**(5): p. 526-31.

NGHIÊN CỨU TÁC DỤNG ĐIỀU CHỈNH RỐI LOẠN LIPID MÁU CỦA CHẾ PHẨM PHYTOSOME CURCUMINOID TRÊN MÔ HÌNH THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Thúy Nga¹, Phạm Văn Trân²,
Đàm Thị Phương Lan², Nguyễn Văn Long²

TÓM TẮT

Curcumin là hoạt chất quý hiếm được chiết xuất từ củ nghệ vàng. Bột Phytosome curcuminoid là sản phẩm do các nhà khoa học của Học viện Quân y bào chế. Đây là chế phẩm được dùng để hỗ trợ điều trị rối loạn lipid máu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng điều trị rối loạn lipid máu của chế phẩm trên thực nghiệm, kết quả cho thấy Phytosome curcuminoid có tác dụng hạ lipid máu trên động vật thực nghiệm. Khi cho uống ở mức liều 50 mg/kg thể trọng và 150 mg/kg thể trọng liên tục trong 4 tuần trên chuột cống trắng chủng Wistar gây rối loạn lipid máu thực nghiệm, các chỉ số sinh hóa máu như cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL-C đều giảm, còn chỉ số HDL-C máu không thay đổi.

Từ khóa: rối loạn lipid máu, curcumin

SUMMARY

RESEARCH ON THE EFFECTS OF PHYTOSOME CURCUMINOID ON BLOOD LIPID DISORDERS IN EXPERIMENTAL MODEL

Curcumin is a rare active ingredient extracted from yellow turmeric. Phytosome curcuminoid is a product prepared by scientists of Vietnam

Military Medical University. It is used for supportive treatment of dyslipidemia. In this study, we evaluated the therapeutic effect of this product for dyslipidemia on experimental study. The results showed that Phytosome curcuminoid has hypolipidemic effects in mouse with dyslipidemia. As oral administration of Phytosome curcuminoid at 50 mg/kg body and 150 mg/kg bodyweight for 4 consecutive weeks, blood biochemical indicators of Wistar albino rats with dyslipidemia such as astotal cholesterol, triglycerides, LDL-C were reduced significantly, but HDL-C was not change.

Key words: dyslipidemia, curcumin

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Rối loạn lipid máu (RLLPM) là bệnh lý ngày càng phổ biến và trẻ hóa hiện nay. Các nhóm thuốc Tây y tuy đạt hiệu quả điều trị nhất định nhưng cũng kèm theo một số tác dụng không mong muốn và giá thành cao so với thu nhập của người Việt Nam. Xu hướng điều trị RLLPM hiện nay hướng tới sử dụng các thuốc có nguồn gốc thảo dược đã được chứng minh hiệu quả điều trị và tính an toàn, đồng thời giảm được chi phí điều trị cho người bệnh. Curcuminoid chiết xuất từ nghệ (bao gồm gồm curcumin (Cur), demethoxycurcumin (DMC), và bisdemethoxycurcumin (BDMC) có tác dụng hạ lipid máu nhưng nhược điểm là kém hấp thu, chuyển hoá nhanh và thải trừ khỏi cơ thể nhanh nên sinh khả dụng rất thấp. Chế phẩm Phytosome curcuminoid do Học viện Quân y

¹Bệnh viện đa khoa Đông Anh, Hà Nội

²Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thúy Nga
Email: ngathuyaaa@gmail.com

Ngày nhận bài: 1.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 10.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

nghiên cứu sản xuất là sản phẩm có dạng bào chế tiên tiến hiện nay, giúp hoạt chất có tính ổn định cao và tăng sinh khả dụng của hoạt chất so với chiết xuất thông thường. Để đảm bảo hiệu quả điều trị của chế phẩm, việc đánh giá tác dụng sinh học là rất quan trọng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu của chế phẩm Phytosome curcuminoid trên động vật thực nghiệm. Kết quả của nghiên cứu sẽ góp phần khẳng định hiệu quả điều trị của chế phẩm Phytosome curcuminoid khi đưa ra thị trường.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

* Đối tượng nghiên cứu:

+ Thuốc nghiên cứu: Phytosome curcuminoid do Viện nghiên cứu Y Dược học quân sự, Học viện Quân y sản xuất đạt tiêu chuẩn cơ sở; thuốc đối chứng: Atorvastatin viên nén 10mg (Lipistad 10 – Việt Nam); Cholesterol tinh khiết (Merck – Đức); dầu lạc (Công ty Trường An – Việt Nam); Propylthiouracil viên nén 50mg (Biệt dược Rieserstat® – Rudolf Lomapharm Lohmann GmbH KG – Đức); Acid cholic (The British drug houses LTD - England); hóa chất sinh hóa Dialab (Áo)

+ Động vật thực nghiệm: Chuột cống trắng chủng Wistar: 50 con giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 160- 180g. Động vật nghiên cứu của Học viện Quân y cung cấp, được nuôi trước khi làm thí nghiệm 7 ngày để thích nghi môi trường sống.

* Phương pháp nghiên cứu:

Chuột cống trắng được chia thành 5 lô, mỗi lô 10 con. Chuột ở các lô được uống thuốc hàng ngày bằng kim đầu tù trong 4 tuần như sau:

- Lô 1 (Chứng sinh học): Uống nước cất với thể tích 10 mL/kg thể trọng.

- Lô 2 (Mô hình): Uống hỗn hợp dầu cholesterol 0,5mL/100g thể trọng + uống nước cất 10 mL/kg.

- Lô 3 (Atorvastatin): Uống hỗn hợp dầu cholesterol 0,5mL/100g thể trọng + atorvastatin 10 mg/kg/ngày với thể tích 1mL/100g.

- Lô 4 (chế phẩm liều1): uống hỗn hợp dầu cholesterol 0,5mL/100g thể trọng + chế phẩm Phytosome curcuminoid liều 50mg /kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dự kiến trên người, tính theo hệ số 6) với thể tích 1mL/100g.

- Lô 5 (chế phẩm liều 2): Uống hỗn hợp dầu cholesterol 0,5mL/100g thể trọng + chế phẩm Phytosome curcuminoid liều 150mg /kg/ngày với thể tích 1mL/100g.

Trong 1mL hỗn hợp dầu cholesterol chứa: 0,1g cholesterol; 0,01g acid cholic và 0,005g propylthiouracil. Thuốc thử và thuốc chứng dương được uống 2 giờ sau khi uống hỗn hợp dầu cholesterol.

Tiến hành cân trọng lượng và lấy máu chuột ở tất cả các lô tại thời điểm trước nghiên cứu, sau 2 tuần và sau 4 tuần. Định lượng các chỉ số lipid máu: cholesterol toàn phần (TC), triglycerid (TG), HDL-cholesterol (HDL-C), LDL-cholesterol (LDL-C) sử dụng kit của Dialab (Mình Tâm, Hà Nội, Việt nam) trên máy BTS 350 (Biosystem, Hà Nội, Việt Nam).

* Phương pháp lưu trữ và xử lý số liệu: Số liệu được lưu trữ trên excel, xử lý số liệu bằng phần mềm SpSS 20.0.

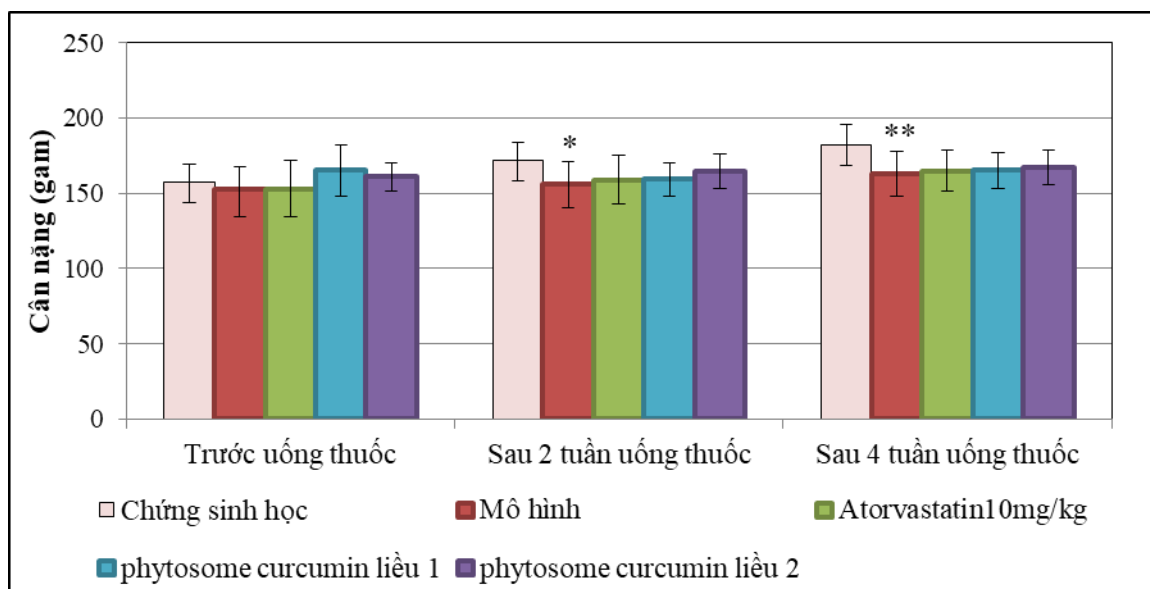
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sự thay đổi trọng lượng của chuột trong quá trình nghiên cứu được thể hiện ở Biểu đồ 1. Ở lô mô hình, sau 2 tuần và 4 tuần uống hỗn hợp dầu cholesterol, trọng lượng chuột giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng

sinh học ($p < 0,05$ và $p < 0,01$)

Các lô uống atorvastatin 10mg/kg, Phytosome curcuminoid liều 1 (50mg/kg/ngày) và liều 2 (150mg/kg/ngày) không làm thay đổi thể trọng chuột có ý

nghĩa thống kê so với lô mô hình tại tất cả thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt về trọng lượng chuột giữa các lô uống Phytosome curcuminoid và lô uống atorvastatin.



Ghi chú: Khác biệt so với lô chứng sinh học: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$

Biểu đồ 1. Sự thay đổi trọng lượng của chuột ở mô hình sau 2 tuần

và 4 tuần nghiên cứu ($n = 10, \bar{X} \pm SD, g$)

Bảng 1.1. Nồng độ các chỉ số lipid máu trước khi nghiên cứu

Lô nghiên cứu	TG	TC	HDL-C	LDL-C
	(n = 10) ($\bar{X} \pm SD, \text{mmol/L}$)			
Lô 1: Chứng sinh học	1,04 $\pm$ 0,33	1,07 $\pm$ 0,27	0,46 $\pm$ 0,06	0,64 $\pm$ 0,10
Lô 2: Mô hình	0,98 $\pm$ 0,29	1,04 $\pm$ 0,20	0,49 $\pm$ 0,06	0,68 $\pm$ 0,08
Lô 3: Atorvastatin 10mg/kg	0,98 $\pm$ 0,29	1,07 $\pm$ 0,13	0,49 $\pm$ 0,06	0,62 $\pm$ 0,08
Lô 4: Phytosome curcuminoid liều 1 (50 mg/kg/ngày)	0,93 $\pm$ 0,30	1,18 $\pm$ 0,28	0,50 $\pm$ 0,09	0,71 $\pm$ 0,13
Lô 5: Phytosome curcuminoid liều 2 (150 mg/kg/ngày)	1,12 $\pm$ 0,77	1,19 $\pm$ 0,26	0,48 $\pm$ 0,09	0,66 $\pm$ 0,08
p	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05	p > 0,05

Nhận xét: Tại thời điểm trước khi nghiên cứu, tất cả các chỉ số lipid máu ở các lô 1,2,3, 4,5 không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

* Kết quả đánh giá sự thay đổi của các chỉ số lipid máu giữa lô 1 (chứng sinh học) và lô 2 (mô hình) sau 2 tuần và sau 4 tuần được trình bày ở bảng 3.2

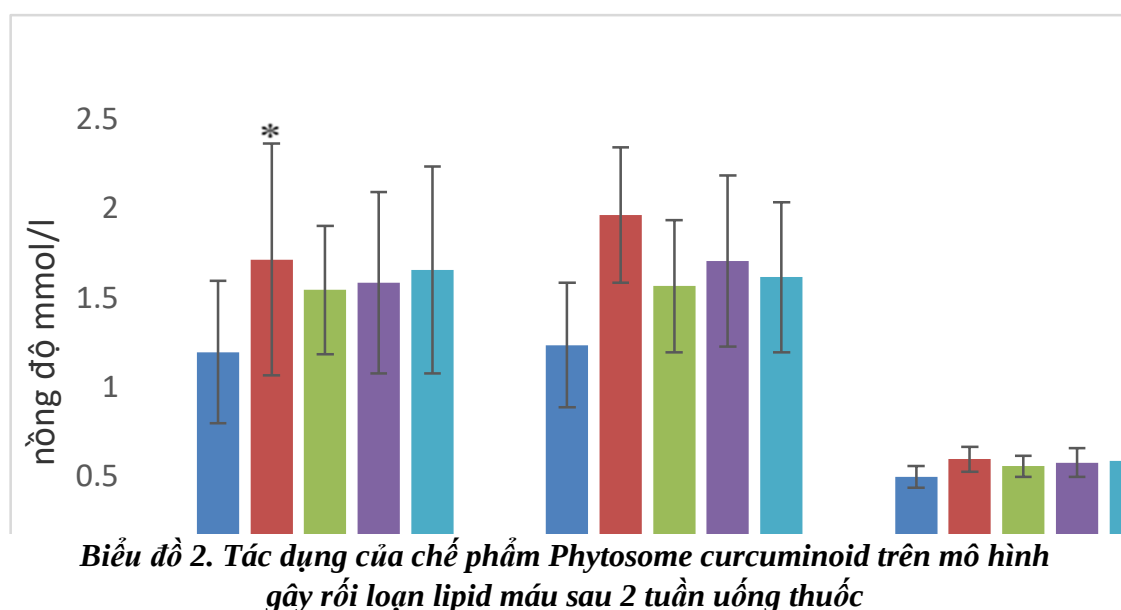
Bảng 1.2. So sánh thay đổi của các chỉ số lipid máu giữa lô 1 (chứng sinh học) và lô 2 (mô hình) sau 2 tuần và sau 4 tuần

Chỉ số lipid (mmol/L)		TC	TG	HDL – C	LDL – C
Lô 1: chứng sinh học	Trước	1,07 ± 0,27	1,04 ± 0,33	0,46 ± 0,64	0,64 ± 0,1
	Sau 2 tuần	1,23 ± 0,35	1,19 ± 0,40	0,49 ± 0,62	0,74 ± 0,07
	Sau 4 tuần	1,48 ± 0,32	1,34 ± 0,32	0,52 ± 0,05	0,81 ± 0,13
Lô 2 : mô hình	Trước	1.04 ± 0,20	0,98 ± 0,29	0,49 ± 0,06	0,68 ± 0,08
	Sau 2 tuần	1,96 ± 0,38	1,71 ± 0,65	0,59 ± 0,07	1,2 ± 0,12
	Sau 4 tuần	3,06 ± 0,41	2,7 ± 0,62	0,68 ± 0,06	1,73 ± 0,27
	p_{sau 2 tuần – trước}	p < 0,01	p < 0,05	p < 0,01	p < 0,01
	p_{sau 4 tuần – trước}	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01	p < 0,01
P₂₋₁ sau 2 tuần		p < 0,001	p > 0,05	p < 0,01	p < 0,001
P₂₋₁ sau 4 tuần		p < 0,001	p < 0,01	p < 0,001	p < 0,001

Nhận xét: Sau 2 tuần uống hỗn hợp dầu cholesterol đã gây được tình trạng RLLPM trên chuột cống trắng, thể hiện ở mức tăng nồng độ TC, HDL – C, LDL – C ở lô 2 (mô hình) so với lô 1 (chứng sinh học) trong cùng một thời điểm là khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,05). Nồng độ TG cũng có sự gia tăng sau 2 tuần nghiên cứu ở lô 2 (mô hình)

nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê (p > 0,05).

Sau 4 tuần uống hỗn hợp dầu cholesterol, ở lô mô hình, chuột bị RLLPM rõ rệt hơn so với thời điểm uống cholesterol 2 tuần, cả 4 chỉ số TC, TG, HDL-C, LDL-C đều tăng cao hơn và có sự khác biệt rõ rệt so với lô chứng sinh học (p < 0,01 và p < 0,001).



Ghi chú: Khác biệt so với lô chứng sinh học: *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$

Khác biệt so với lô mô hình: +: $p < 0,05$

Nhận xét: Ở lô uống atorvastatin 10 mg/kg, nồng độ TC và LDL-C giảm rõ rệt ($p < 0,05$) so với lô mô hình; TG có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê.

Ở lô uống Phytosome Curcumin liều 1 và liều 2, cả 3 chỉ số TG, TC và LDL-C đều có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Nồng độ HDL-C ở các lô uống atorvastatin, Phytosome Curcuminoid liều 1 và liều 2 không có sự khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$).

Bảng 1.3. Sự thay đổi nồng độ lipid máu chuột cống sau 4 tuần uống thuốc

Lô nghiên cứu	TG	TC	HDL-C	LDL-C
	(n = 10) ($\bar{X} \pm SD$, mmol/L) (% thay đổi so với lô mô hình)			
Lô 1: Chứng sinh học	1,34 $\pm$ 0,32	1,48 $\pm$ 0,32	0,52 $\pm$ 0,05	0,81 $\pm$ 0,13
Lô 2: Mô hình	2,7 $\pm$ 0,61	3,06 $\pm$ 0,41	0,68 $\pm$ 0,06	1,73 $\pm$ 0,27
Lô 3: Atorvastatin 10mg/kg (tham chiếu)	2,13 $\pm$ 0,64 (↓24,07%)	2,47 $\pm$ 0,66 (↓19,44%)	0,59 $\pm$ 0,1	1,26 $\pm$ 0,28 (↓27,01%)
p ₃₋₂	$p > 0,05$	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
Lô 4: Phytosome curcuminoid liều 1 (50 mg/kg/ngày)	2,32 $\pm$ 0,5 (↓13,89%)	2,60 $\pm$ 0,59 (↓14,87%)	0,63 $\pm$ 0,08	1,39 $\pm$ 0,33 (↓19,84%)
p ₄₋₂	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
p ₄₋₃	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Lô 5: Phytosome curcuminoid liều 2 (150mg/kg/ngày)	2,10 $\pm$ 0,63 (↓22,07%)	2,54 $\pm$ 0,69 (↓16,93%)	0,64 $\pm$ 0,07	1,36 $\pm$ 0,35 (↓21,46%)
p ₅₋₂	$p < 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,05$
p ₅₋₃	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
p ₅₋₄	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$P > 0,05$

Nhận xét:

- Ở lô uống atorvastatin 10 mg/kg, nồng độ TC và LDL-C giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), TG có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Ở lô uống Phytosome Curcumin liều 1, chỉ số LDL-C giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), chỉ số TG và TC đều có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác

biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Ở lô uống Phytosome Curcumin liều 2, chỉ số TG và LDL-C giảm rõ rệt so với lô mô hình ($p < 0,05$), chỉ số TC có xu hướng giảm so với lô mô hình, tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Nồng độ HDL-C ở các lô uống atorvastatin, Phytosome Curcuminoid liều 1 và liều 2 không có sự khác biệt so với lô mô hình ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Mô hình gây rối loạn lipid máu ở đây được tiến hành trên chuột cống trắng vì đây là loài động vật ăn tạp, thành phần thức ăn gần giống với người, do đó sẽ cho kết quả đáng tin cậy hơn. Bổ sung acid cholic và PTU trong hỗn hợp dầu cholesterol là một biện pháp để làm tăng hấp thu cholesterol và làm giảm chuyển hoá cholesterol thành acid mật, vì vậy gây được mô hình có độ ổn định, độ đồng nhất cao hơn và rút ngắn thời gian nghiên cứu. Atorvastatin - thuốc điều trị RLLPM thuộc dẫn xuất statin được chọn làm thuốc chứng dương. Chúng tôi chọn liều dùng ở chuột cống trong nghiên cứu là 10mg/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương với liều khuyến cáo tối đa trên người, tính theo hệ số 6). Đây cũng là liều atorvastatin được sử dụng làm thuốc chứng dương trong một số nghiên cứu khác trên thế giới[5],[6].

Liều dự kiến dùng trên người của Phytosome curcuminoid là 300mg bột DL/kg/ngày. Chúng tôi chọn hai liều Phytosome curcuminoid: liều thấp là 50mg bột được liệu/kg/ngày (liều có tác dụng tương đương liều dùng dự kiến trên người, tính theo hệ số 6) và liều cao là 150mg bột được liệu/kg/ngày (cao gấp 3 lần liều trên). Tác giả Ke Lin (2020) đã phân tích tổng hợp đáp ứng liều lượng dự đoán liều lượng hiệu quả của curcumin từ 0 đến 347 mg/kg thể trọng mỗi ngày là an toàn[3] nên mức liều chúng tôi sử dụng trong phạm vi an toàn.

Trước nghiên cứu, trọng lượng và các chỉ số lipid máu của chuột cống trắng không có sự khác biệt giữa các lô (biểu đồ 1.1 và bảng 1.1). Trong thời gian nghiên cứu, trọng lượng chuột ở lô mô hình giảm có ý nghĩa thống kê so với lô chứng; quan sát thấy chuột ăn uống ít hơn, có lẽ do uống hỗn hợp dầu cholesterol nhiều ngày liên tiếp, dẫn đến

chuột có hiện tượng chán ăn, gầy sút cân.

Atorvastatin đã thể hiện rõ tác dụng điều chỉnh RLLPM sau 4 tuần uống thuốc, làm giảm có ý nghĩa nồng độ TC và LDL-C so với lô mô hình (TC giảm 30,8%, LDL-C giảm 44,8%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê cao ($p < 0,001$). Nồng độ TG sau 4 tuần có xu hướng giảm so với lô mô hình, nhưng sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. Kết quả này phù hợp với đặc điểm tác dụng của nhóm statin, trong lâm sàng được ưu tiên lựa chọn trong trường hợp tăng TC, LDL-C máu và chỉ thể hiện rõ tác dụng sau 4 tuần điều trị.

Sau 2 tuần nghiên cứu, lô uống Phytosome curcuminoid liều 1(50mg bột được liệu/kg/ngày) và liều 2(150mg bột được liệu/kg/ngày) có xu hướng giảm các nồng độ lipid máu TC, TG, LDL-C so với lô mô hình tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Sau 4 tuần nghiên cứu, lô uống Phytosome curcuminoid liều 1 làm giảm rõ rệt chỉ số LDL-C ($\downarrow 19,84\%$, $p < 0,05$). Lô uống Phytosome curcuminoid liều 2 làm giảm rõ rệt chỉ số TG ($\downarrow 22,07\%$, $p < 0,05$) và LDL-C ($\downarrow 21,46\%$, $p < 0,05$); chỉ số TC giảm chưa có ý nghĩa thống kê. Nồng độ HDL-C ở lô uống atorvastatin và 2 lô uống Phytosome curcuminoid không khác biệt so với lô mô hình ($p < 0,05$). Như vậy tác dụng làm hạ lipid máu của lô uống Phytosome curcuminoid liều 2 rõ rệt hơn lô liều 1 và tương đương với lô uống atorvastatin. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu trên thế giới. [2],[3]

Tác dụng làm giảm nồng độ TG, TC, HDL-C, LDL-C của curcumin trên thế giới có nhiều lý giải như sau: Qiaohua Kang và cộng sự (2009) thấy rằng Curcumin làm ức chế thụ thể LDL (LDLR) trong các HSC (tế bào hình sao ở gan), làm giảm cholesterol tế bào[1]. Minji Kim và Yangha Kim (2010) đã

nghiên cứu cơ chế tác dụng hạ cholesterol máu của curcumin bằng cách đo cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1), một enzym giới hạn tốc độ trong quá trình sinh tổng hợp axit mật từ cholesterol, ở mức mRNA. Kết quả cho thấy chế độ ăn curcumin đã tăng mức mRNA CYP7A1 ở gan được điều chỉnh lên 2,16 lần, so với nhóm đối chứng p (p < 0,05). Những phát hiện này cho thấy rằng sự gia tăng biểu hiện gen CYP7A1 có thể giải thích một phần cho tác dụng hạ cholesterol máu của curcumin.[4] Su-Kyung Shin và cộng sự (2011) cho thấy curcumin làm giảm cholesterol huyết tương, triglyceride, LDL-C, làm tăng HDL-C trong huyết tương và biểu hiện Apo AI ở gan, tương tự như điều trị bằng lovastatin. Curcumin gây ra sự ức chế phiên mã của HMG-CoA reductase, không phụ thuộc vào biểu hiện ACAT1 và ACAT2. Biểu hiện PPAR α và LXR α ở gan được điều chỉnh bằng cách điều trị bằng curcumin. Điều trị curcumin dài hạn làm giảm cholesterol trong huyết tương, ngăn chặn các tổn thương xơ vữa động mạch sớm tương đương với tác dụng bảo vệ của lovastatin. Tác dụng chống xơ vữa của curcumin thông qua nhiều cơ chế bao gồm thay đổi lipid, cholesterol và biểu hiện gen miễn dịch.[7]

V. KẾT LUẬN

Trên mô hình gây rối loạn lipid máu bằng uống hỗn hợp dầu cholesterol, Chế phẩm Phytosome curcuminoid liều 50mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm rõ rệt LDL- cholesterol (19,84 %) so với lô mô hình.

Chế phẩm Phytosome curcuminoid liều 150mg/kg/ngày có tác dụng điều chỉnh rối loạn lipid máu rõ rệt hơn mức liều 50 mg/kg/ngày, thể hiện qua giảm nồng độ triglycerid (22,07%), cholesterol toàn phần

(16,93%) và LDL- cholesterol (21,46%) so với lô mô hình sau 4 tuần uống thuốc thử. Tác dụng làm giảm nồng độ cholesterol toàn phần, triglycerid, LDL- cholesterol của Phytosome curcuminoid liều 150mg/kg/ngày tương đương atorvastatin 10 mg/kg/ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Kang Qiaohua, Chen Anping** (2009), "Curcumin suppresses expression of low-density lipoprotein (LDL) receptor, leading to the inhibition of LDL-induced activation of hepatic stellate cells", Br J Pharmacol, 157(8).
- KB Soni , Kuttan R** (1992), "Effect of oral curcumin **administration** on serum peroxides and cholesterol levels in human volunteers", Indian J Physiol Pharmacol, 36(4).
- Ke Lin, Huaijun Chen, Xiaojun Chen** (2020), "Efficacy of Curcumin **on** Aortic Atherosclerosis: A Systematic Review and Meta-Analysis in Mouse Studies and Insights into Possible Mechanisms", Oxid Med Cell Longev.
- Kim Minji, Kim Yangha** (2010), "Hypocholesterolemic effects of curcumin via up-regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase in rats fed a high fat diet", Nutr Res Pract, 4(3).
- Pai PG, Habeeba PU, Ullal S et al** (2013), "Evaluation of hypolipidemic effects of Lycium Barbarum (Goji berry) in a Murine model", Journal of Natural Remedies, 13(1), pp. 4-8.
- Rachh PR, Rachh MR, Ghadiya NR et al** Antihyperlipidemic Activity of Gymenma sylvestre R. Br. Leaf Extract on Rats Fed with High Cholesterol Diet", International Journal of Pharmacology, 6(2), pp. 138 - 141.
- Shin Su-Kyung, et al.** (2011), "Long-term Curcumin Administration Protects Against Atherosclerosis via Hepatic Regulation of Lipoprotein Cholesterol Metabolism", Molecular Nutrition & Food Research 55(12).

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ CYSTATIN C HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 2 TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Nguyễn Thu Giang*, Cao Xuân Cường*, Bùi Thị Thu Hương**

TÓM TẮT

Mức độ cystatin C huyết tương có thể cho phép dự đoán nguy cơ phát triển bệnh thận mạn, do đó có vai trò báo hiệu một rối loạn chức năng thận ở giai đoạn tiền lâm sàng.

Mục tiêu: Khảo sát nồng độ Cystatin C huyết tương và mối liên quan với một số chỉ số sinh hóa khác ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2 tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Đối tượng nghiên cứu: 89 bệnh nhân đái tháo đường typ 2 điều trị ngoại trú tại Khoa khám bệnh Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Phương pháp nghiên cứu: Mô tả cắt ngang

Kết quả:

+ Giá trị trung bình cystatin C huyết tương là $1,8 \pm 1,75$ (mg/l), giá trị trung vị là 1,5 (mg/l), giá trị nhỏ nhất là 0,2 (mg/l), lớn nhất là 12 (mg/l) và không tuân theo quy luật phân phối chuẩn.

+ Tỷ lệ tăng cystatin C ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2 là 67,4%.

+ Có liên quan giữa creatin, ure, acid uric, MAU với cystatin C huyết tương ($p < 0,05$). Không có liên quan giữa đường máu lúc đói và creatin niệu với cystatin C huyết tương ($p > 0,05$).

+ Có mối tương quan thuận chặt chẽ giữa nồng độ cystatin C và nồng độ creatinin huyết

tương ($r=0,88$, $p < 0,05$) theo phương trình $y = 0,012x + 0,286$.

Từ khóa: suy thận, đái tháo đường typ 2, cystatin C

SUMMARY

SERUM CYSTATIN C LEVELS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS IN THAINGUYEN NATIONAL HOSPITAL

Serum cystatin C levels may allow the prediction of the risk of developing chronic kidney disease, thus signaling a preclinical renal dysfunction.

Object: Surveying serum Cystatin C concentration and the relationship with some other biochemical indices in patients with type 2 diabetes at ThaiNguyen General Hospital.

Subjects: 89 patients with type 2 diabetes mellitus outpatient treatment at the Department of Examination of ThaiNguyen General Hospital.

Method: Cross-sectional description

Results and conclusions:

+ The average value of serum cystatin C is 1.8 ± 1.75 (mg / l), the median value is 1.5 (mg / l), the minimum value is 0.2 (mg / l) , the maximum is 12 (mg / l) and does not follow the standard distribution law.

+ The rate of increase of cystatin C is 67.4%.

+ There is a relationship between creatin, urea, uric acid, MAU and serum cystatin C ($p < 0.05$). There was no association between fasting blood glucose and serum creatinuria with serum cystatin C ($p > 0.05$).

+ There is a positive positive correlation between cystatin C concentration and serum

*Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên

**Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Thị Thu Hương

Email: huongbuihithu@tnmc.edu.vn

Ngày nhận bài: 27.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 27.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

creatinine concentration ($r = 0.88$, $p < 0.05$) according to the equation $y = 0.012x + 0.286$.

Key words: renal failure, type 2 diabetes, cystatin C

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tổn thương thận do đái tháo đường hay còn gọi là bệnh thận mạn tính do đái tháo đường là biến chứng xuất hiện sớm, gặp với tỷ lệ cao làm giảm sức khỏe và gây tử vong ở bệnh nhân. Bệnh thận mạn tính được xác định dựa vào các dấu hiệu tổn thương thận và giảm mức lọc cầu thận. Microalbumin niệu là dấu hiệu có độ nhạy và độ đặc hiệu cao chẩn đoán tổn thương thận giai đoạn sớm. Mức lọc cầu thận (GFR) là một dấu ấn tốt để đánh giá chức năng của thận nhưng ít được sử dụng vì cách đo phức tạp, đắt tiền, tốn thời gian và đôi khi gây tác dụng phụ. Còn creatinine huyết tương thường được sử dụng để đánh giá chức năng thận nhưng ít chính xác khi mới suy thận, khối lượng cơ của cơ thể thấp và bị phụ thuộc vào lượng protein chế độ ăn. Trong khi đó, cystatin C là một protein có khối lượng phân tử thấp (13,3 kDa), được tách khỏi máu nhờ sự lọc của cầu thận. Mức độ cystatin C ít bị ảnh hưởng bởi tuổi, giới, khối lượng cơ của cơ thể và vào lượng protein của chế độ ăn. Nếu chức năng thận và độ lọc cầu thận giảm, mức độ cystatin C trong máu sẽ tăng. Vì vậy, mức độ cystatin C là một xét nghiệm chính xác hơn cho chức năng thận so với mức độ creatinin huyết tương.

Mức độ cystatin C huyết tương có thể cho phép dự đoán nguy cơ phát triển bệnh thận mạn, do đó có vai trò báo hiệu một rối loạn chức năng thận ở giai đoạn tiền lâm sàng. Mức độ cystatin C huyết tương còn có thể là một dấu hiệu của chức năng thận giúp điều chỉnh liều lượng thuốc. Ở Việt Nam chưa có

nhiều công trình nghiên cứu về nồng độ cystatin C ở bệnh nhân đái tháo đường type 2. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài “Nghiên cứu nồng độ Cystatin C huyết tương ở bệnh nhân đái tháo đường type 2” với mục tiêu: Khảo sát nồng độ Cystatin C huyết tương và mối liên quan với một số chỉ số sinh hóa khác ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

89 bệnh nhân đái tháo đường type 2 điều trị ngoại trú tại Khoa khám bệnh Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:

* Bệnh nhân được chẩn đoán đái tháo đường theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới 1999 [1]:

- Đường máu lúc đói (sau bữa ăn cuối cùng 8h) làm ít nhất 2 lần $> 7,0$ mmol/l.

- Hoặc đường máu bất kỳ $> 11,1$ mmol/l kết hợp với các triệu chứng của đái tháo đường như uống nhiều, tiểu nhiều. Xét nghiệm được làm ít nhất 2 lần.

- Hoặc đường máu sau 2 giờ làm nghiệm pháp tăng đường huyết $> 11,1$ mmol/l

* Bệnh nhân được chẩn đoán ĐTĐ type 2 theo tiêu chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới và vận dụng phù hợp với điều kiện Việt Nam [1]:

- Người lớn > 40 tuổi

- Triệu chứng lâm sàng không rõ ràng

- Thường có cơ địa béo phì

- Không có biến chứng nhiễm toan ceton

- Điều trị lâu dài có hiệu quả bằng chế độ ăn và/ hoặc các thuốc viên hạ đường huyết.

* Bệnh nhân đái tháo đường type 2 protein niệu âm tính (nhóm bệnh)

- Tiêu chuẩn loại trừ khỏi nghiên cứu

- Những bệnh nhân không đủ các tiêu chuẩn để được chọn vào nghiên cứu: đái tháo đường tít 1, đái tháo đường thai nghén hoặc các đái tháo đường khác không phải là đái tháo đường tít 2.

- Bệnh nhân có các biến chứng nặng, cấp tính như: hôn mê nhiễm toan ceton, hôn mê tăng áp lực thẩm thấu, các nhiễm trùng cấp tính...

- Bị đái tháo đường thứ phát sau các bệnh nội khoa hay nội tiết khác (basedow, hội chứng Cushing...).

- Đang trong đợt mất bù của suy tim, suy gan.

- Suy thận đã lọc máu có chu kỳ.

- Sử dụng corticoid trong 1 tháng trước thời điểm nghiên cứu.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: Từ tháng 01/2019 đến tháng 10/2019.

- Địa điểm: Khoa Khám bệnh, Khoa Sinh hóa - Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

- Phương pháp nghiên cứu mô tả

- Thiết kế nghiên cứu cắt ngang

- Phương pháp chọn cỡ mẫu có chủ đích.

2.4 Thiết bị và hoá chất nghiên cứu

- Máy xét nghiệm sinh hoá máu AU 640 của Olympus

- Hoá chất của hãng Beckman Coulter.

2.5. Các chỉ tiêu nghiên cứu:

* Thông tin chung: Tuổi, giới

* Lâm sàng:

- Tiền sử: đái tháo đường, thời gian mắc bệnh,...

- Các triệu chứng cơ năng: Đái buốt, đái dầm, tiểu nhiều lần, tiểu ít, đau thắt ngực, tê bì chân tay...

* Cận lâm sàng: ure, creatinin, uric, cystatin, microalbumin huyết tương, creatinin niệu

Ure huyết tương: Giá trị bình thường 2,5-8,3 mmol/l

Creatinin huyết tương: Giá trị bình thường là: nam: 62- 115 μ mol/l, nữ: 53-97 μ mol/l

Uric huyết tương: Giá trị bình thường là: nam: 180- 420 μ mol/l, nữ: 150-360 μ mol/l

CystatinC : Giá trị bình thường: 0,4-1,2mg/l

Microalbumin niệu: Giá trị bình thường <2mg/dl

Creatinin niệu: Giá trị bình thường : 8,8-12,6 mmol/l

2.6. Kỹ thuật thu thập số liệu

Tất cả các bệnh nhân nghiên cứu được hỏi bệnh, khám lâm sàng và làm bệnh án theo mẫu thống nhất.

2.7 Xử lý số liệu Các số liệu nghiên cứu được xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học với phần mềm SPSS 20.0.

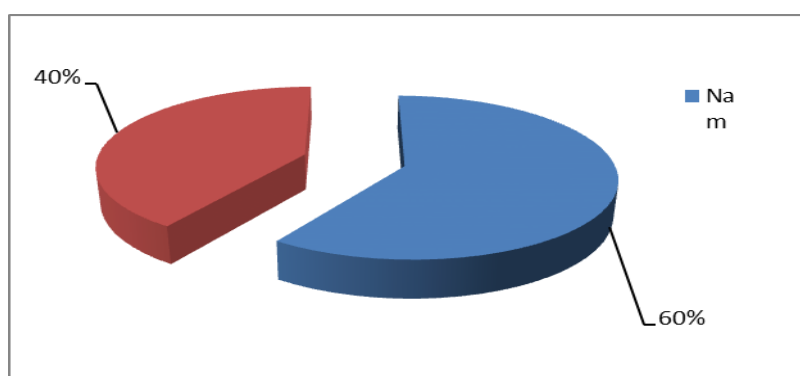
2.8. Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành sau khi hội đồng đạo đức của Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên thông qua.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm về tuổi của các đối tượng nghiên cứu

Nhóm NC	Giá trị trung bình
Tuổi trung bình	71,8 $\pm$ 4,58
Giá trị nhỏ nhất	51
Giá trị lớn nhất	85

Nhận xét: Tuổi trung bình của các đối tượng nghiên cứu là 71,8 $\pm$ 4,58, tuổi cao nhất là 85, thấp nhất là 51.

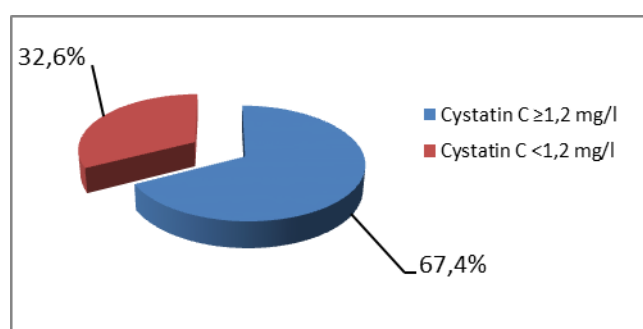


Biểu đồ 1. Đặc điểm phân bố về giới của nhóm nghiên cứu

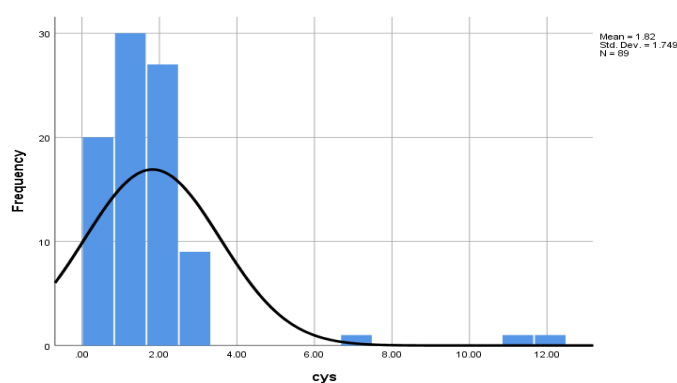
Nhận xét: Tỷ lệ giữa nam là 60% cao hơn giới nữ là 40%.

Bảng 2. Nồng độ Cystatin C của các đối tượng nghiên cứu

Giá trị trung bình	Số bệnh nhân	SD	Trung vị	Nhỏ nhất	Lớn nhất
1,8	89	1,75	1,5	0,2	12,0



Biểu đồ 2. Tỷ lệ tăng cystatin C



Biểu đồ 3. Nồng độ trung bình cystatin C

Nhận xét: Giá trị trung bình cystatin C huyết tương là $1,8 \pm 1,75$ (mg/l), giá trị trung vị là 1,5 (mg/l), giá trị nhỏ nhất là 0,2 (mg/l), lớn nhất là 12 (mg/l) và không tuân theo quy luật phân phối chuẩn.

Tỷ lệ tăng cystatin C là 67,4%.

Bảng 3. Nồng độ Cystatin C của các đối tượng nghiên cứu theo giới

Giới	Số BN	Nồng độ Cystatin C $\bar{X}$ (mg/l)	p
Nam	56	1,73 ± 1,5	p>0,05
Nữ	36	1,96 ± 2,1	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về nồng độ cystatin giữa 2 giới nam và nữ (p>0,05).

Bảng 4. Nồng độ Cystatin C của các đối tượng nghiên cứu theo nhóm tuổi

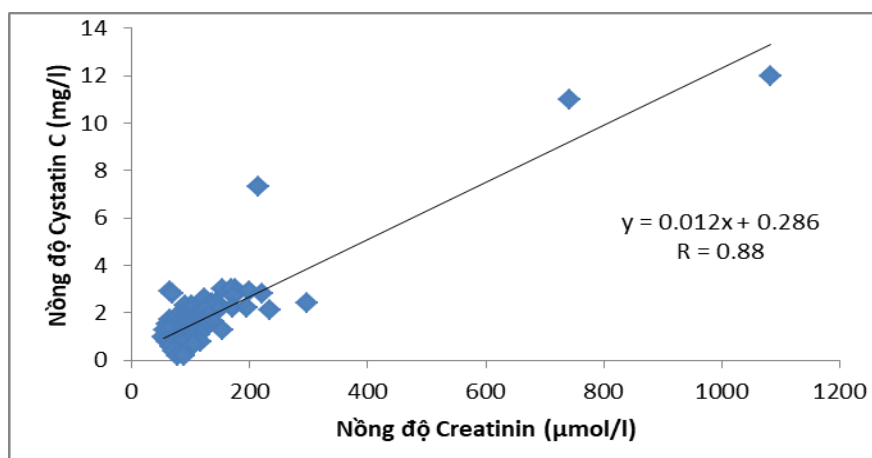
Nhóm tuổi	Số BN	Nồng độ Cystatin C $\bar{X}$ (mg/l)	p
< 70	27	1,51 ± 0,8	p<0,05
70 – 79	56	1,87 ± 1,9	
≥ 80	6	2,7 ± 2,3	
Tổng	89	1,8 ± 1,75	

Nhận xét: Có sự khác biệt về nồng độ cystatin giữa các nhóm tuổi (p<0,05).

Bảng 5. Mối liên quan giữa Cystatin C với các chỉ số hóa sinh khác

Các chỉ số hóa sinh		Cystatin C		p
		(>1,2mg/l) (n=60)	(<1,2mg/l) (n=29)	
Creatinin	Tăng (n=44)	36 (81,8%)	8 (18,2%)	<0,05
	Bình thường (n=45)	24 (53,3%)	21 (46,7%)	
Ure	Tăng (25)	20 (80%)	5 (20%)	<0,05
	Bình thường (64)	36 (56,3%)	28 (43,8%)	
Uric	Tăng (n=55)	42 (76,4%)	13 (23,6%)	<0,05
	Bình thường (n=34)	18 (52,9%)	16 (47,1%)	
Glucose	Tăng (n=45)	32 (71,1%)	13 (28,9%)	>0,05
	Bình thường (n=44)	28 (63,6%)	16 (36,4%)	
MAU	Tăng (n=62)	47 (75,8%)	15 (24,2%)	<0,05
	Bình thường (n=27)	13 (48,1%)	14 (51,9%)	
Cre niệu	Tăng (n=21)	15 (71,4%)	6 (28,6%)	>0,05
	Bình thường (n=68)	45 (66,2%)	23 (33,8%)	

Nhận xét: Có liên quan giữa creatin, ure, acid uric, MAU với cystatin C huyết tương (p<0,05). Không có liên quan giữa đường máu lúc đói và creatin niệu với cystatin C huyết tương (p>0,05).



Biểu đồ 4. Tương quan giữa nồng độ cystatin C và nồng độ creatinin huyết tương

Nhận xét: Có mối tương quan thuận chặt chẽ giữa nồng độ cystatin C và nồng độ creatinin huyết tương ($r=0,88$, $p<0,05$) theo phương trình $y = 0,012x + 0,286$.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu nồng độ cystatin C và liên quan với các chỉ số sinh hóa khác trên 89 bệnh nhân đái tháo đường type 2 điều trị tại Bệnh viện trung ương Thái Nguyên, chúng tôi thu được một số kết quả sau:

Tuổi trung bình của các đối tượng nghiên cứu là $71,8 \pm 4,58$, tuổi cao nhất là 85, thấp nhất là 51. Kết quả này cũng phù hợp với một số nghiên cứu khác cho thấy: tuổi trung niên và tuổi cao là yếu tố nguy cơ của hội chứng chuyển hóa và kháng insulin. Đái tháo đường là giai đoạn biểu hiện lâm sàng tăng glucose máu trong diễn tiến tự nhiên của kháng insulin. Do vậy, tuổi là yếu tố nguy cơ không thay đổi được của đái tháo đường type 2. Đái tháo đường type 2 tiến triển thầm lặng, bệnh thường phát hiện muộn khi đã có các biến chứng [1].

Nghiên cứu của Nazmu Saquib et al. cho thấy có sự gia tăng đáng kể cystatin C huyết tương ở những người mắc bệnh tiểu đường so với nhóm chứng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy tỷ lệ tăng cystatin C ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 là 67,4%.

Kết quả này cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu khác. Giá trị trung bình cystatin C huyết tương là $1,8 \pm 1,75$ (mg/l), giá trị trung vị là 1,5 (mg/l), giá trị nhỏ nhất là 0,2 (mg/l), lớn nhất là 12 (mg/l) và không tuân theo quy luật phân phối chuẩn.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ giới nam cao hơn giới nữ. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về nồng độ cystatin C giữa 2 giới nam và nữ ($p>0,05$) (bảng 3). Cystatin C được sản sinh ra ở tất cả các tế bào có nhân trong cơ thể với tốc độ hằng định, ít chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố giới. Ngược lại, ở nam và nữ nếu cùng độ tuổi và cân nặng thì khối lượng cơ trong cơ thể là khác nhau, do đó creatinin sẽ có sự khác biệt về giới. Kết quả nghiên cứu của Trần Quốc Toàn (2015) cho thấy nồng độ trung bình cystatin C huyết tương của nam ở cả nhóm tổn thương thận và nhóm chứng bệnh khác biệt không có ý nghĩa so với nữ. Ngược lại, giá trị trung bình nồng độ creatinin ở nam cao hơn có ý nghĩa so với nữ ở cả nhóm tổn thương thận và nhóm chứng bệnh. Như vậy, khi ước lượng mức lọc cầu thận bằng cystatin C thì việc có

hay không hiệu chỉnh theo giới cũng ít ảnh hưởng tới kết quả tính toán, ngược lại, ước lượng bằng creatinin thì phải hiệu chỉnh theo giới [1]. Nghiên cứu của Finney H. (1999) ở đối tượng người cao tuổi (65 – 101 tuổi) thấy không có sự khác biệt nồng độ cystatin C ở nam (1,53 mg/l) so với nữ (1,48 mg/l) [1].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: có sự khác biệt về nồng độ cystatin C giữa các nhóm tuổi ($p < 0,05$). Một số nghiên cứu khác ở lứa tuổi trẻ hơn cũng cho kết quả tương tự. Ở người bình thường, sau tuổi 40 mức lọc cầu thận sinh lý có xu hướng giảm dần, nói cách khác là khả năng lọc cystatin C giảm, nồng độ cystatin C huyết tương tăng tương ứng. Trong khi nồng độ trung bình creatinin giữa các nhóm tuổi khác biệt không có ý nghĩa ở cả nhóm tổn thương thận và nhóm chứng bệnh, do vậy mức lọc cầu thận ước lượng bằng creatinin khi đó phải hiệu chỉnh theo tuổi để tương xứng với sự giảm mức lọc cầu thận sinh lý theo tuổi. Kết quả nghiên cứu của Finney H. (1999) cũng cho kết quả tương tự, phân chia nhóm tuổi chênh nhau 10 năm thấy rằng giá trị trung bình cystatin C ở nhóm tuổi 60 – 70 tuổi (1,39 mg/l) thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm tuổi > 80 tuổi (1,79 mg/l). Như vậy, ước lượng mức lọc cầu thận bằng cystatin C huyết tương ở người lớn và người cao tuổi có thể sẽ đơn giản hơn bởi không đòi hỏi phải hiệu chỉnh theo tuổi. Trong khi đó, mức lọc cầu thận ước lượng bằng creatinin bắt buộc phải hiệu chỉnh theo tuổi để giá trị ước lượng tới gần với mức lọc cầu thận thực của bệnh nhân [3].

Kết quả nghiên cứu cho thấy giữa cystatin C và creatinin huyết tương có tương quan thuận mức chặt chẽ ($r = 0,88$; biểu đồ 3). Nghiên cứu của Stickle D. (1998) ở đối tượng bệnh nhi cũng cho kết quả tương tự ($r = 0,882$; $n = 63$). Nghiên cứu của Borges et

al. cho thấy có tương quan chặt giữa cystatin C và creatinine huyết tương ($r = 0,80$) trong nghiên cứu của mình. Điều này cũng phù hợp với nghiên cứu được thực hiện bởi Muasscheart M et al. cho thấy tương quan tuyến tính giữa cystatin C và huyết tương creatinin ($r = 0,92$). Như vậy, nồng độ cystatin C ở bệnh nhân đái tháo đường tổn thương thận có tương quan chặt chẽ với creatinin huyết tương. Creatinin huyết tương chịu ảnh hưởng nhiều yếu tố: giới, tình trạng dinh dưỡng, tình trạng bệnh lý, do đó, mức lọc cầu thận ước lượng dựa vào creatinin huyết tương cần được hiệu chỉnh theo các yếu tố, đặc điểm của bệnh nhân. Cystatin C có thể thay thế creatinin để ước lượng mức lọc cầu thận, cũng tương tự như creatinin, cần phải thiết lập các công thức toán học giúp ước lượng mức lọc cầu thận dựa vào nồng độ của cystatin C. Các trung tâm nghiên cứu khác nhau có đề nghị các công thức khác nhau nhưng trong đó công thức của Stevens L.A. (2008) được sử dụng nhiều hơn cả. Điều đó khẳng định cystatin C có thể thay thế creatinin để ước lượng mức lọc cầu thận ở các bệnh nhân đái tháo đường type 2 tổn thương thận [4].

Nghiên cứu của Dsa J và cộng sự, 2017 [5] đã chỉ ra rằng cả mức độ creatinin và cystatin C huyết tương tăng một cách rõ rệt ở các mức độ suy thận mạn ($p < 0,001$). Ở các đối tượng suy thận mạn có $eGFR \geq 60$ mL/phút/1,73m², khi giá trị trung vị (median) của creatinin huyết tương (1,01 mg/dL) vẫn còn nằm trong giới hạn bình thường thì giá trị trung vị của cystatin huyết tương (1,34 ng/mL) đã tăng quá giới hạn tham chiếu trên (1,09 ng/mL), mặc dù vẫn có sự tương quan dương giữa mức độ creatinin và cystatin C huyết tương và có sự tương quan nghịch giữa creatinin và cystatin C với

eGFR. Như vậy, cystatin C rất có ích trong việc phát hiện những người bị suy thận mạn có eGFR giảm nhẹ so với creatinin và có thể sử dụng để sàng lọc các bệnh nhân đái tháo đường kém kiểm soát hoặc bệnh nhân tăng huyết áp có mức độ creatinin tăng không rõ ràng (Bảng 5).

Kết quả bảng 5 cho thấy có liên quan giữa creatin, ure, acid uric, MAU với cystatin C huyết tương ($p < 0,05$). Không có liên quan giữa đường máu lúc đói và creatin niệu với cystatin C huyết tương ($p > 0,05$).

Như vậy, ở bệnh nhân đái tháo đường với mức lọc cầu thận giảm nhẹ, nồng độ cystatin C biến đổi sớm khi có sự xuất hiện microalbumin niệu trong khi nồng độ creatinin và mức lọc cầu thận ước lượng dựa vào creatinin biến đổi chưa có ý nghĩa. Định lượng nồng độ cystatin C huyết tương có thể giúp đánh giá mức độ tổn thương thận, mức lọc cầu thận ước lượng dựa vào cystatin C huyết tương sẽ biến đổi tương ứng tổn thương thận giai đoạn sớm, là cơ sở đưa ra biện pháp dự phòng và điều trị tổn thương thận do đái tháo đường týp 2 ở giai đoạn sớm, góp phần làm hạn chế tiến triển biến chứng thận [2].

V. KẾT LUẬN

+ Giá trị trung bình cystatin C huyết tương là $1,8 \pm 1,75$ (mg/l), giá trị trung vị là 1,5 (mg/l), giá trị nhỏ nhất là 0,2 (mg/l), lớn nhất là 12 (mg/l) và không tuân theo quy luật phân phối chuẩn.

+ Tỷ lệ tăng cystatin C là 67,4%.

+ Có liên quan giữa creatin, ure, acid uric, MAU với cystatin C huyết tương ($p < 0,05$). Không có liên quan giữa đường máu lúc đói

và creatin niệu với cystatin C huyết tương ($p > 0,05$).

+ Có mối tương quan thuận chặt chẽ giữa nồng độ cystatin C và nồng độ creatinin huyết tương ($r = 0,88$, $p < 0,05$) theo phương trình $y = 0,012x + 0,286$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Quốc Toàn (2015)**, Nghiên cứu nồng độ cystatin c huyết tương, nước tiểu ở bệnh nhân đái tháo đường týp 2 có tổn thương thận, Luận án Tiến sỹ Học viện 103.
2. **Yoshiji Ogawaa , Takashi Gotob,, Naoki Tamasawaa et al (2015)**, Serum cystatin C in diabetic patients, Diabetes reseach and clinical practice, Volume 79, Issue 2, Pages 357–361.
3. **Alaaeldin M. Bashier,1 Ayman Aly Seddik Fadlallah, 2,3 Nada Alhashemi,4 Puja Murli Thadani,1 Elamin Abdelgadir, 1 and Fauzia Rashid1 (2015)**, Cystatin C and Its Role in Patients with Type 1 and Type 2 Diabetes Mellitus, Advances in Endocrinology, Volume 2015, 8 pages.
4. **David M. Maahs, MD, PHD,1,2 Nicole Prentice, BS,1 Kim McFann, PHD,1 Janet K. Snell-Bergeon, PHD,1 Diana Jalal, MD,2 Franziska K. Bishop, MS,1 Brittany Aragon, BS,1 and R. Paul Wadwa, MD (2011)**, Age and Sex Influence Cystatin C in Adolescents With and Without Type 1 Diabetes, Diabetes Care. 2011 Nov; 34(11): 2360–2362.
5. **Dsa J, Shetty S, Bhandary RR, Rao AV.** Association Between Serum Cystatin C and Creatinine in Chronic Kidney Disease Subjects Attending a Tertiary Health Care Centre. J Clin Diagn Res 2017 Apr; 11(4): BC09-BC12.

GÂY ĐỘT BIẾN TẠO THƯ VIỆN PHAGE DISPLAY SIRP α VÀ THU NHẬN BIẾN THỂ CÓ ÁI LỰC CAO VỚI CD47

Lã Thị Huyền*, Trần Thị Bích Đào*,
Trần Mạnh Hải*, Nguyễn Trọng Linh*

TÓM TẮT

Một trong các cơ chế phát triển của khối u là lẩn tránh sự phát hiện của hệ miễn dịch, các nghiên cứu gần đây đã xác định được CD47 là tín hiệu “đừng ăn tôi” chống lại thực bào, các tế bào ung thư biểu hiện CD47 và trốn thoát khỏi sự kiểm soát của đại thực bào. Trong bài báo này chúng tôi tách dòng, xác định trình tự gen Sirp α , biến đổi vùng liên kết với CD47 của Sirp α tạo thư viện bọc lờ các biến thể Sirp α trên thực khuẩn thể dựa trên phagemid pHEN2. Chúng tôi tiến hành sàng lọc và chọn được ba dòng phage mang các biến thể có ái lực với kháng nguyên CD47 cao hơn Sirp α gốc và đã xác định trình tự ba biến thể này. Dòng D1 thay thế 5aa ở các vị trí V6I, V27I, K53R, H56P, S66T; dòng D9 thay thế 7aa ở các vị trí V6I, V27I, I31F, E47V, K53R, E54Q và V92I, dòng D13 thay thế 6aa giống dòng D9 trừ vị trí 54 là không bị thay thế.

Từ khóa: Sirp α , CD47, ung thư, phage display, thư viện

SUMMARY

CREATING LIBRARY PHAGE DISPLAY CARRYING SIRP α VARIANTS, SCREENING AND RECEIVING HIGH AFFINITY SIRP α WITH CD47

*Viện Công nghệ sinh học, VAST

Chịu trách nhiệm chính: Lã Thị Huyền

Email: lahuyenibt@gmail.com

Ngày nhận bài: 1.10.2020

Ngày phản biện khoa học: 10.10.2020

Ngày duyệt bài: 28.10.2020

One of the mechanisms of tumor growth is evading the detection of the immune system, recent studies have identified CD47 as a "don't eat me" signal against phagocytosis, cancer cells express CD47 and escape from the control of macrophages. In this paper, we cloned, identified Sirp α gene sequences, changed the CD47 binding region of Sirp α and created a library to reveal Sirp α variants on pHEN2 phagemids. We screened and selected three phage clones carrying Sirp α variants that had a higher affinity for CD47 antigen than the wild-type Sirp α and determined the sequence and analyzed the mutations in these three variants. Clone D1 is replaced 5aa in positions V6I, V27I, K53R, H56P, S66T; clone D9 is replaced 7aa at positions V6I, V27I, I31F, E47V, K53R, E54Q and V92I, clone D13 is replaced 6aa like D9 clone except position 54 is not replaced

Keywords: Sirp α , CD47, library, phage display, cancer

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Họ protein điều hòa tín hiệu (SIRP) bao gồm một thụ thể ức chế, SIRP α , một thụ thể kích hoạt, SIRP β [còn được gọi là cụm biệt hóa (CD) 172b] và một thụ thể không tín hiệu, SIRP γ (còn được gọi là CD172g). SIRP α , còn được gọi là miền CD172a hoặc Src homology 2 (SH2) - chứa chất nền phosphatase -1, là một thụ thể bề mặt tế bào được biểu hiện chủ yếu ở các tế bào đơn nhân, bạch cầu hạt, tế bào đuôi gai và tế bào gốc tạo máu. SIRP α , SIRP β và SIRP γ có các

kiểu biểu hiện riêng biệt, với SIRP α được biểu hiện trong các tế bào tủy và tế bào thần kinh, SIRP β thể hiện trong các đại thực bào và bạch cầu trung tính, và SIRP thể hiện trong các tế bào lympho và tế bào giết người tự nhiên (Barclay AN and Brown MH, 2006). SIRP α có hai dạng đồng phân biệt là SIRP α 1 và SIRP α 2. SIRP α 2, cũng được gọi là phân tử giống như immunoglobulin nào với các họa tiết kích hoạt dựa trên tyrosine, chia sẻ sự tương đồng về cấu trúc với SIRP α 1. Trên thực tế, SIRP α 1 và SIRP α 2 giống hệt nhau về mặt cấu trúc ngoại trừ miền giống như immunoglobulin (Ig) của họ (IgV), rất quan trọng để liên kết với CD47. Vì SIRP α được thành lập như một chất ức chế miễn dịch chứa một miền IgV, nên nó thường được coi là SIRP α 1 trừ khi có ghi chú khác. SIRP α là thành viên đặc trưng nhất trong gia đình SIRP người (Barclay AN et al., 2014; Van Beek EM 2005).

Các nghiên cứu gần đây đã xác định CD47 là phân tử chống thực bào, tạo ra tín hiệu “don’t eat me” để phân biệt tế bào sống với tế bào chết hoặc tế bào già (Gardai SJ et al., 2005) và CD47 được biểu hiện cao bởi nhiều loại ung thư để tránh phát hiện bởi đại thực bào (Willingham SB, 2012; Edris Bet al., 2012). Biểu hiện CD47 cũng hạn chế thực bào qua trung gian thụ thể Fc để đáp ứng với các kháng thể điều trị (Chao MP, 2009). Các kháng thể ngăn chặn sự gắn kết của CD47 với SIRP α , làm tăng đáng kể quá trình thực bào của các tế bào ung thư (Willingham SB, 2012; Edris Bet al., 2012). Tuy nhiên, các kháng thể có sự phân phối mô hạn chế và có thể gây ra tác dụng phụ do các tương tác qua trung gian Fc (Beckman RA, 2007). Trong nghiên cứu này, chúng tôi hướng tới cải thiện các liệu pháp nhắm đích CD47 bằng cách sử dụng vùng liên kết 14

kDa của SIRP α của người như một chất đối kháng cạnh tranh với CD47. Tuy nhiên do ái lực tương tác SIRP α -CD47 yếu $\sim 1 \mu\text{M}$ (Hatherley D et al., 2008), nên SIRP α là một chất đối kháng kém. Do đó, chúng tôi khai thác tương tác CD47-SIRP α và thực hiện tiến hóa in vitro thông qua phage display để tạo ra các biến thể SIRP α có ái lực cao có tác dụng như chất đối kháng CD47 mạnh. Đoạn gen mã hóa cho vùng liên kết với CD47 của SIRP α (aa 1-110) được gây đột biến và gắn vào hệ vector pHEN2 tạo thư viện phage display để sàng lọc được biến thể có khả năng liên kết đặc hiệu với CD47 và có ái lực cao hơn SIRP α .

Công nghệ phage display được George Smith giới thiệu lần đầu tiên vào năm 1985 và sau đó đã được sử dụng rộng rãi để xây dựng các thư viện protein, peptide, từ các thư viện này các protein hoặc peptide đặc hiệu với bất kỳ đích nào cũng có thể được sàng lọc và thu nhận (Guo et al., 2006). Các bước và các vòng sàng lọc nghiêm ngặt sẽ làm giàu các protein đã được bộc lộ trên phage và protein này bền trong suốt quá trình sàng lọc (Lee et al., 2002).

Với vai trò của kháng nguyên CD47 trong việc lẩn tránh hệ miễn dịch của các tế bào ung thư, chúng tôi tiến hành cải biến Sirp α , tạo thư viện và sàng lọc thu nhận biến thể Sirp α có ái lực cao với CD47.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Vật liệu

Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng phagemid pHEN2, chủng vi khuẩn Escherichia coli TG1 từ trung tâm nghiên cứu protein Cambridge (Anh), kháng nguyên CD47 tái tổ hợp, Helper phage M13K07 (Invitrogen, CA, USA), kháng thể cộng hợp kháng M13 (anti-M13 horseradish

peroxidase-conjugate, Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, USA), cặp primer LabF: 5'-CAGGAACAGCTATGAC-3'; LabR: 5'-GAATTTTCTGTATGAGG-3' (IDT), dòng tế bào ung thư máu Jurkat, tế bào đại thực bào người; plasmid pHEN2 (Griffin, Anh), Master mix (Gotaq, Promega); Lipofectamine 3000 (Invitrogen); cDNA synthesis kit (Invitrogen); Môi trường RPMI (Thermo Fisher Scientific); FPS (Sigma); T4-Ligase, NcoI, NotI (Biolabs); vector tách dòng pBT; và các loại hóa chất tiêu chuẩn dùng cho sinh học phân tử của hãng Invitrogen; Merck, Sigma.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Phương pháp tạo thư viện mang các biến thể Sirpa

Dựa trên cấu trúc tinh thể của phức hệ SIRPα: CD47 (Hatherley D et al., 2007), thiết kế gen mã hóa cho vùng biến đổi của Sirpα với các biến đổi ngẫu nhiên ở vùng liên kết với CD47. Các biến đổi ở các vị trí Ser29=RST, Leu30=NTT, Ile31=NTT, Pro32=CNT, Val33=NTT, Gly34=RST, Pro35=CNT, Gln52=SAW, Lys53=ARG, Glu54=SAW, Ser66=RST, Thr67=RST, Lys68=ARG, Arg69=ARG, Phe74=NTT, Lys93=ANG, Lys96=ANG, Gly97=RST, Ser98=RST, and Asp100=RAS. Các bộ 3 mã hóa cho Leu4, Val6, Val27, Ile36, Phe38, Leu47, Ile49, Tyr50, Phe57, Val60, Met72, Phe74, Ile76, V92, Phe94, và Phe103 được chuyển thành NTT. Sau đó đoạn gen được tổng hợp với 2 vị trí cắt của NcoI và NotI ở 2 đầu gen. Vector phagemid pHEN2 cũng được cắt mở vòng với 2 enzyme NcoI và NotI. Gắn đoạn gen biến đổi Sirpα vào vector pHEN2 nhờ tác dụng của T4 ligase, biến nạp vào tế bào TG1, thu nhận thư viện phage display mang các biến thể Sirpα.

Các phương pháp thao tác với DNA được thực hiện theo Sambrook và cộng sự (2001), phương pháp phage display thực hiện theo protocol của Griffin và cộng sự.

2.2.2. Sàng lọc dòng phage có khả năng sinh kháng thể kháng CD47

Kháng nguyên CD47 trong PBS (Phosphate Buffered Saline) (10 - 100 ng/ml) được phủ trên khay ELISA qua đêm ở nhiệt độ phòng. Để tránh phage liên kết không đặc hiệu với bề mặt đĩa, khay được phủ tiếp với dung dịch MPBS 2% sữa tách bơ và ủ ở 37°C trong 2h. Rửa khay bằng PBS 3 lần sau đó cho hỗn hợp phage (đã nhân nuôi từ thư viện gốc Bacteriophage Griffin.1) vào các giếng. Để khay 37°C trong 2 h. Sau đó rửa 10 lần bằng dung dịch TPBS (0,05% Tween 20 pha trong PBS), rửa tiếp 10 lần với dung dịch PBS. Các phage gắn với kháng nguyên được giải hấp bằng 1 ml triethylamine 100 mM trong 10 phút ở nhiệt độ phòng sau đó trung hòa bằng 0,5 ml Tris-HCl, pH = 7,5. Ly tâm 10.000 v/p. Thu dịch ly tâm, dịch ly tâm này chứa các phage mang mảnh kháng thể gắn đặc hiệu với kháng nguyên CD47. Các phage sau mỗi vòng sàng lọc sẽ được nhân nuôi trong tế bào TG1 để phục vụ cho các vòng sàng lọc tiếp theo. Sau lần sàng lọc thứ 3 ái lực trung bình của các kháng thể phage được kiểm tra bằng ELISA với kháng thể cộng hợp kháng M13.

2.2.3. Kiểm tra hoạt tính gắn kết của các phage bằng phương pháp ELISA

Khả năng gắn của phage với kháng nguyên được đánh giá bằng kỹ thuật ELISA sử dụng 100µl kháng nguyên CD47 (10 - 100ng/ml) phủ giếng qua đêm ở nhiệt độ phòng. Rửa khay 3 lần với PBS, làm khô trên giấy thấm, bổ sung vào mỗi giếng 300 µl MPBS, ủ tiếp 2 h ở 37°C, rửa 3 lần với T-PBS, 3 lần với PBS. 100 µl dịch phage với

vai trò là kháng thể 1 được bổ sung vào mỗi giếng và ủ 2 h tại nhiệt độ phòng. Rửa 3 lần bằng TPBS, 3 lần bằng PBS. Phát hiện phage gắn bằng cộng hợp kháng thể kháng M13 theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Xác định độ hấp thụ tại bước sóng 450 nm và 650 nm để chọn được các phage mang kháng thể đặc hiệu mong muốn.

2.2.4. Xác định trình tự các dòng phagemid thu được

Các dòng kháng thể phage có ái lực cao với kháng nguyên CD47 được nhân nuôi và tiến hành tách các phagemid bằng kit QIAGEN. Các phagemid thu được được xác định trình tự tự động trên máy ABI 3100 (Applied Biosystems), sử dụng cặp mồi LabF và bộ kit BigDye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystems, Weiterstadt, Germany).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

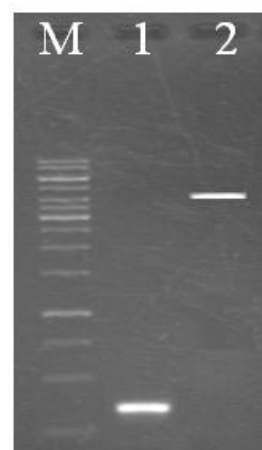
3.1. Kết quả tạo thư viện mang các biến thể Sirpα

Các bộ 3 mã hóa cho các aa trong vùng 110 aa (vùng liên kết với CD47) được biến đổi. Cụ thể Leu4, Val6, Val27, Ser29, Leu30, Ile31, Pro32, Val33, Ile36, Gly34, Pro35, Phe38, Leu47, Ile49, Tyr50, Gln52, Lys53, Glu54, Phe57, Val60, Ser66, Thr67, Lys68, Arg69, Met72, Phe74, Ile76, Val92, Lys93, Phe94, Lys96, Gly97, Ser98, Asp100 và Phe104 được thay đổi như đã trình bày trong phần phương pháp. Cụ thể trình tự đoạn gen biến đổi như sau:

CCATGGAGGAGGAGNTTCAGNTTA
TTCAGCCTGACAAGTCCGTGTTGGTTG
CAGCTGGAGAGACAGCCACTCTGCGC
TGCACTNTTACCRSTNTTNTTCNTNTT
RSGCNTNTTCAGNTTTTCAGAGGAGCT
GGACCAGGCCGGNTTTTANTTNTTAA
TSAWARGGAAGGCCACNTTCCCCGGN

TTACAACCTGTTTCAGACCTCACAAAG
AGAAACAACNTTGACNTTTCNTTCG
CATCGGTAACATCACCCCAGCAGATG
CCGGCACCTACTACTGTNTTANGNTTC
GGANGRSTRSTCCCRASGACGTGGAG
NTTAAGTCTGGAGCAGGCACTGAGCT
GTCTGTGCGCGCCAAACCCTCTGCCG
CGGCCGC

Sau khi được tổng hợp, đoạn gen Sirpα và đoạn gen biến đổi Sirpα, vector phagemid pHEN2 được cắt với 2 enzyme giới hạn NcoI và NotI, tinh sạch và điện di kiểm tra, kết quả thể hiện trên hình 1.



Hình 1. Hình ảnh điện di kiểm tra gen biến thể Sirpα và pHEN2 sau khi cắt với 2 enzyme NcoI và NotI. M: Thang DNA chuẩn, 1,2: gen biến thể Sirpα, pHEN2 cắt với NcoI và NotI đã tinh sạch khỏi gel agarose.

Kết quả thu được (Hình 1) cho thấy sản phẩm đảm bảo để thực hiện các bước tiếp theo, dưới tác dụng của T4 ligase, Gen biến thể Sirpα được gắn vào phagemid pHEN2, biến nạp vào chủng TG1, cấy trải trên môi trường 2xTY.

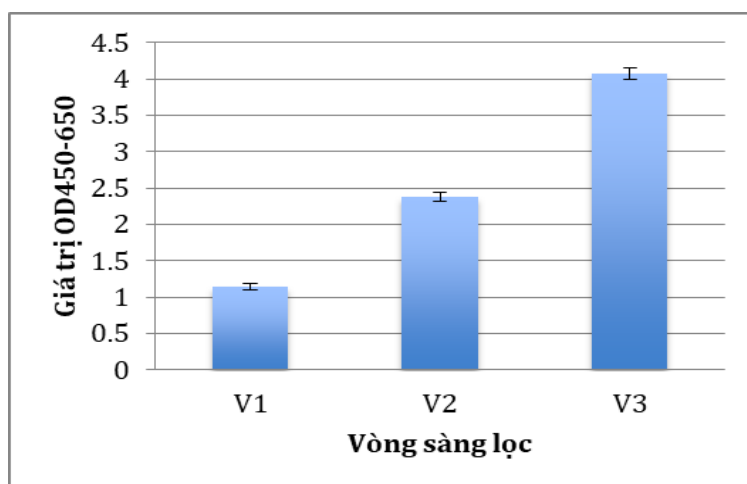
3.2. Sàng lọc các kháng thể phage có ái lực cao với kháng nguyên CD47

Nguyên tắc sàng lọc là dựa trên ái lực liên kết của kháng thể bọc lộ trên bề mặt phage

với kháng nguyên đích và được tiến hành theo các bước cơ bản sau: (1) khuếch đại thư viện và tạo phage; (2) Ủ các phage của thư viện với kháng nguyên đích; (3) loại bỏ phage không gắn bằng cách rửa; (4) tách phage gắn; và (5) tái xâm nhiễm vào vi khuẩn chủ để khuếch đại các phage đã sàng lọc. Vòng sàng lọc tiếp theo được tiến hành

với thư viện gồm các phage đã được chọn lọc ở vòng sàng lọc trước.

Kháng nguyên CD47 được phủ trên các giếng của khay ELISA qua đêm với nồng độ 60 ng/giếng. Quá trình sàng lọc được tiến hành theo phương pháp sàng lọc trình bày ở phần phương pháp. Kết quả sàng lọc được trình bày tại hình 2.



Hình 2. Kết quả xác định độ hấp thụ qua 3 vòng sàng lọc

Kết quả cho thấy từ vòng sàng lọc 1 đến 3 với CD47, ái lực của hỗn hợp phage thu được tăng đều. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với lý thuyết bởi sau mỗi vòng sàng lọc, lượng phage biểu hiện kháng thể gắn đặc hiệu với CD47 được làm giàu lên và phage gắn không đặc hiệu giảm đi. Ái lực hấp thụ ở vòng 3 cao gấp 4 lần so với vòng sàng lọc 1, kết quả này cho thấy sau 3 vòng sàng lọc, hỗn hợp phage thu được chứa chủ yếu là các kháng thể có ái lực cao với kháng nguyên CD47. Như vậy, 3 vòng sàng lọc là đủ cho việc thu nhận dòng biến thể đặc hiệu với kháng nguyên đích. Sản phẩm của vòng sàng lọc 3 được xâm nhiễm vào TG1 để tạo ra các dòng phage riêng rẽ, mỗi dòng sẽ được kiểm tra ái lực với kháng nguyên đích bằng phản ứng ELISA.

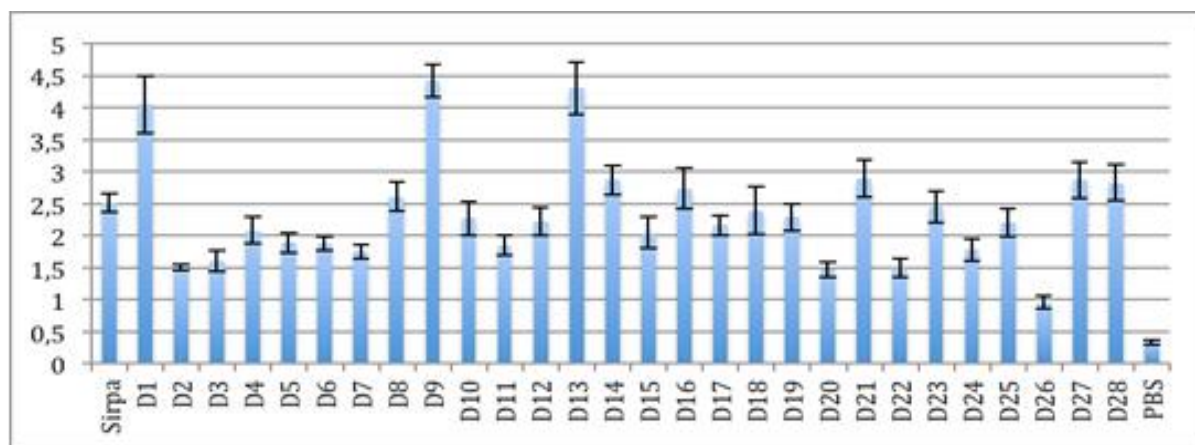
3.3. Chọn dòng phage mang biến thể *Sirpa* ái lực cao với CD47 bằng kỹ thuật ELISA

Để chọn dòng kháng thể phage có ái lực cao nhất phục vụ cho các nghiên cứu tiếp theo, chúng tôi chọn ngẫu nhiên 28 dòng phage riêng biệt để xác định ái lực với kháng nguyên CD47. Kết quả xác định ái lực của từng dòng phage được trình bày trên hình 3.

Qua biểu đồ cột ở hình 3, ta nhận thấy các clone 1, clone 9, clone 13 có ái lực cao nhất với CD47. Như vậy, qua kết quả ELISA, chúng tôi hy vọng những dòng kháng thể phage có ái lực cao nhất với kháng nguyên CD47 tái tổ hợp cũng sẽ có ái lực cao nhất với CD47 trong huyết thanh người bệnh cũng như CD47 bộc lộ trên tế bào ung thư. Để khẳng định được điều đó, chúng tôi chọn

ba dòng có ái lực cao nhất là clone 1, 9 và 13 kí hiệu D1, D9 và D13 để tách dòng xác định trình tự gen mã hóa cho mảnh kháng thể

scFv trên và tiến hành các phản ứng kiểm tra tiếp theo.



Hình 3. Kết quả xác định ái lực của các dòng phage với kháng nguyên CD47 bằng ELISA.

3.4. Kết quả tách phagemid và xác định trình tự gen mã hóa biến thể Sirpa từ 3 dòng phage có ái lực cao với CD47

Ba dòng phage D1, D9 và D13 được nhân nuôi và tách phagemid theo kit QIAGEN, xác định trình tự với primer LabF, phân tích kết quả thu được như sau: Qua kết quả phân tích trình tự aa các biến thể D1, D9 và D13 chúng tôi nhận thấy tương ứng dòng D1 thay thế 5aa ở các vị trí 6, 27, 53, 56, 66; dòng D9

thay thế 7aa ở các vị trí 6, 27, 31, 47, 53, 54 và 92, dòng D13 thay thế 6aa giống dòng D9 trừ vị trí 54 là không bị thay thế. Kết quả cho thấy cả 3 dòng đều có đột biến thay thế thành 6I, 27I, 53R, như vậy có thể đây là các aa quan trọng quyết định ái lực của Sirpa, kết quả này cũng tương đồng với một số kết quả của Weiskopf K. và cộng sự; Hatherley D và cộng sự.

Bảng 1. Kết quả xác định trình tự gen mã hóa cho đoạn scFv của các kháng thể phage clone D1, D9 và D13.

aa	4	6	21	27	31	47	53	54	56	63	66	68	92	94	103
Gốc	L	V	A	V	I	E	K	E	H	V	S	K	V	F	F
D1		I		I			R		P		T				
D9		I		I	F	V	R	Q					I		
D13		I		I	F	V	R						I		

V. KẾT LUẬN

Chúng tôi đã tạo thành công thư viện phage display mang các biến thể Sirpa, sàng lọc và chọn được ba dòng kháng thể scFv: clone D1, D9 và D13 có ái lực cao với kháng

nguyên CD47.

Đã xác định được trình tự gene mã hóa cho 3 biến thể trong 3 dòng D1, D9 và D13. Dòng D1 thay thế 5aa ở các vị trí V6I, V27I, K53R, H56P, S66T; dòng D9 thay thế 7aa ở

các vị trí V6I, V27I, I31F, E47V, K53R, E54Q và V92I, dòng D13 thay thế 6aa giống dòng D9 trừ vị trí 54 là không bị thay thế.

Lời cảm ơn: Công trình được hoàn thành với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài VAST mã số VAST02.03/18-19.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Barclay AN and Brown MH:** The SIRP family of receptors and immune regulation. *Nat Rev Immunol* 6: 457- 464, 2006.
2. **Barclay AN and Van den Berg TK:** The interaction between signal regulatory protein alpha (SIRP α) and CD47: Structure, function, and therapeutic target. *Annu Rev Immunol* 32: 25-50, 2014.
3. **Chao MP,** Weissman IL, Majeti R. The CD47-Sirp α pathway in cancer immune evasion and potential therapeutic implications. *Curr Opin Immunol.* 2012; 24:225–232.
4. **van Beek EM, Cochrane F, Barclay AN and van den Berg TK:** Signal regulatory proteins in the immune system. *J Immunol* 175: 7781-7787, 2005.
5. **Guo YC, Zho YF, Zhang XE, Zhan ZP, Qiao YM, Bi LJ, Wen JK, Liang MF, Zhang JB** (2006) Phage display mediated immuno-PCR. *Nucl Acids Res* 34(8): 6038-6044.
6. **Hoogenboom HR** (2002) Overview of antibody phage-display technology and its applications. *Methods MolBiol* 178: 1-37.

CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH CHO 2 THAI PHỤ CÓ ĐỘT BIẾN GEN GAA GÂY BỆNH POMPE

Nguyễn Thị Phương Thảo*, Dau Ming Niu*, Nguyễn Quỳnh Tho*,
Hoàng Thị Ngọc Lan*, Tạ Thành Văn*

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Pompe là bệnh bẩm sinh, di truyền gen lặn liên kết nhiễm sắc thể 17, gây ra bởi đột biến gen GAA mã hóa sản xuất enzyme alpha glucosidase A, dẫn đến thiếu hụt enzyme này. Cho đến nay, gần 600 đột biến đã được ghi nhận là nguyên nhân gây ra bệnh Pompe. **Mục tiêu:** Chẩn đoán trước sinh cho 2 thai phụ có con mất vì bệnh Pompe để đưa ra tư vấn di truyền hợp lý. **Phương pháp nghiên cứu:** Trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành phân tích trình tự

gen từ mẫu máu và dịch ối của 2 thai phụ có con đã mất vì bệnh Pompe và chồng của họ. **Kết quả:** phát hiện 3 đột biến c.[2040+1G>T]; c.2563 G > C (p.G855R) và c.2065 G>A (p.E689K) đều ở thể dị hợp tử, từ đó đưa ra tư vấn di truyền cho thai phụ. **Kết luận:** Hai thai đều mang đột biến ở thể dị hợp tử nên lời khuyên di truyền được đưa ra là tiếp tục theo dõi thai bằng siêu âm và làm xét nghiệm sàng lọc sơ sinh sau khi đứa trẻ được sinh ra.

Từ khóa: Pompe, đột biến, alphasglucosidase A (GAA).

SUMMARY

PRENATAL DIAGNOSIS FOR 2 PREGNANT WOMEN WHO HAVE GAA GENE MUTATIONS

**Trường Đại học Y Dược Hải Phòng*
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Phương Thảo
Email: dangtuyetminh@gmail.com
Ngày nhận bài: 5.10.2020
Ngày phản biện khoa học: 15.10.2020
Ngày duyệt bài: 28.10.2020

Object: Pompe disease (Glycogen storage disease type II), is an autosomal recessive metabolic disorder, which is caused by an accumulation of glycogen in the lysosome due to deficiency of the lysosomal acid alpha-glucosidase enzyme. To date, close to 600 different mutations have been reported in the GAA gene. The aim of this study: is to prenatal diagnosis for 2 pregnant women, who have children dead of Pompe disease to give genetic counsel. **Method:** we analyzed gene sequence of parents and 2 amniotic fluid to detect mutations. **Result:** We detected 3 mutations: c.[2040+1G>T], c.2563 G>C (p.G855R) and c.2065 G>A (p.E689K), heterozygous. **Conclusion:** detected 3 mutations c.[2040+1G>T]; [=] và c.2563 G>C (p.G855R) and c.2065 G>A (p.E689K), heterozygous which have been report before, and give genetic counsel. **Conclusion:** Two fetus have heterozygous mutation, genetic counsel is: follow up pregnancy by ultrasound and make newborn screening when these babies are born.

Key words: Pompe disease, mutation, GAA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pompe là một bệnh thuộc nhóm các bệnh liên quan đến rối loạn tích đọng các chất trong tiêu thể tế bào (Lysosomal storage diseases – LSDs). Đây là bệnh di truyền gen lặn trên NST 17, với đặc trưng là rối loạn chuyển hóa glycogen - được gây ra bởi sự thiếu hụt enzym α Glucosidase A của tiêu thể (lysosome). Nguyên nhân của sự thiếu hụt enzyme là do đột biến gen GAA mã hóa tổng hợp enzyme này[1].

Tỷ lệ Pompe dao động từ 1/40.000 đến 1/300.000 trẻ sống[2] phụ thuộc vào chủng tộc hoặc vùng địa lý được nghiên cứu [1].

Cho đến nay đã có gần 600 đột biến được ghi nhận là nguyên nhân gây bệnh Pompe[3], các đột biến xuất hiện với tỷ lệ khác nhau ở các quốc gia khác nhau, và ngày càng có nhiều đột biến được báo cáo gây bệnh Pompe.

Pompe là bệnh di truyền gen lặn trên nhiễm sắc thể thường nên người lành mang gen không biểu hiện bệnh, chính vì vậy việc chẩn đoán trước sinh có ý nghĩa lớn trong việc hạn chế sinh ra những đứa con bị bệnh.

Tuy nhiên ở Việt nam chưa có nghiên cứu nào về vấn đề này, vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu:

Chẩn đoán trước sinh cho 2 thai phụ có đột biến gen GAA để đưa ra tư vấn di truyền hợp lý.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng:

02 thai phụ có con đã mất vì bệnh Pompe và chồng của họ.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Mô tả ca bệnh.
- Chọc ối ở tuần thai thứ 16
- Nuôi cấy tế bào ối trong môi trường amniotic.
- Tách DNA từ tế bào ối đã nuôi cấy, sử dụng kit QIAamp DNA (theo hướng dẫn của nhà sản xuất).
- Lấy máu của bố mẹ, tách DNA từ máu toàn phần: sử dụng kit QIAamp DNA (theo hướng dẫn của nhà sản xuất).

Sau tách chiết, kiểm tra nồng độ và độ tinh sạch của DNA trên máy Nanodrop, sau đó được khuếch đại bằng phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu. Sản phẩm PCR được giải trình tự sử dụng BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit do Applied Biosystem cung cấp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Kết quả tách DNA

Kết quả đo OD các mẫu DNA tách từ máu toàn phần và các tế bào ối sau nuôi cấy

Bảng 1.1. Kết quả đo nồng độ và độ tinh sạch DNA sau tách chiết

STT	Mã số BN	Nồng độ (ng/ μ l)	260/280
1	VN 0055.0	85.5	1.87
2	VN 0055..1	63.8	1.92
3	VN 0550.1.1	97.4	2.04
4	VN 0056.1	75.7	1.98
5	VN 0056.2	64.8	1.85
6	VN 0056.1.1	96.5	1.94

DNA tách chiết đạt tiêu chuẩn để tiến hành các thí nghiệm tiếp theo.

3.2 Kết quả phân tích gen

DNA đủ tiêu chuẩn sẽ được dùng làm nguyên liệu cho phản ứng PCR với các cặp mồi đặc hiệu. Sản phẩm PCR được điện di trên gel agarose.

1	2	3	4	5	6	7	8	9	1	1	1	1	1	1	1	1
									0	1	2	3	4	5	6	7

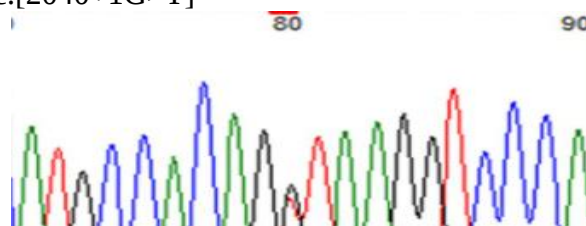


Hình 1: Hình ảnh điện di sản phẩm PCR khuếch đại gen GAA trên gel agarose

1: Marker	2: E1-2	3: E3	4: E4-5	5: E6	6: E7-8
7: E9	8: E10-11	9: E12	10: E13	11: E14	12: E15
13: E16	14: E17	15: E18	16: E19	17: E20	

Sản phẩm PCR được giải trình tự bằng phương pháp giải trình tự trực tiếp và so sánh với trình tự trên Genbank để tìm đột biến gen GAA.

- Kết quả giải trình tự gen của gia đình mã số VN.0055: ghi nhận đột biến ở vị trí nối 2040+1, từ G thành T: c.[2040+1G>T]



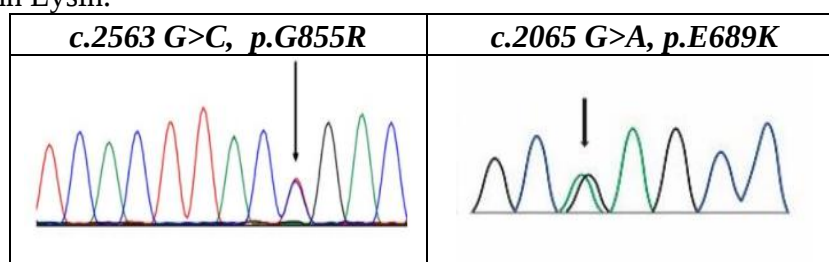
Hình 2: Hình ảnh kết quả giải trình tự trực tiếp, đột biến c.[2040+1G>T]

Bảng 2: Kết quả giải trình tự gen của gia đình bệnh nhân mã VN0055

Bệnh nhân	VN0055.0	VN0055.1	VN0055.0.1 (dịch ối)
Đột biến	c.[2040+1G>T]	c.[2040+1G>T]	c.[2040+1G>T]
Đồng/dị hợp tử	Dị hợp tử	Dị hợp tử	Dị hợp tử

Cả 2 vợ chồng và thai cùng mang đột biến c.[2040+1G>T] thể dị hợp tử.

- Kết quả giải trình tự gen của gia đình mã số VN.0056: ghi nhận đột biến ở vị trí 2563 của exon 18, từ G thành C, làm biến đổi acid amin ở vị trí 855 là Glycin thành Arginin và đột biến ở vị trí 2065 của exon 14, từ G thành A, làm biến đổi acid amin ở vị trí 689 từ Acid Glutamic thành Lysin.

**Hình 3: Hình ảnh kết quả giải trình tự đột biến c.2563 G>C và c.2065 G>A**

Bệnh nhân	VN.0056.1	VN.0056.2	VN.0056.1.1 (dịch ối)
Đột biến	c.2563 G>C, p.G855R	c.2563 G>C, p.G855R	c.2563 G>C, p.G855R c.2065 G>A, p.E689K
Đồng/dị hợp tử	Dị hợp tử	Dị hợp tử	Dị hợp tử

Cả 2 vợ chồng và thai cùng mang đột biến c.2563 G>C (p.G855R) thể dị hợp tử. Thai còn có đột biến c.2065 G>A, p.E689K ở thể dị hợp tử.

IV. BÀN LUẬN

Từ 2 thai phụ từng có con mắc bệnh Pompe, chúng tôi tiến hành chọc ối, nuôi cấy dịch ối và phân tích trình tự gen để tìm đột biến. Kết quả: phát hiện được đột biến c.[2040+1G>T] ở gia đình có mã số VN 0055 và đột biến c.2563 G>C (p.G855R); c.2065 G>A, p.E689K ở gia đình có mã số VN.0056.

Đột biến c.[2040+1G>T] tìm thấy trong nghiên cứu này đã được báo cáo ở một bệnh nhân mắc bệnh Pompe ở Đài Loan trong nghiên cứu trước đây của Huang HP và cộng sự năm 2011[4] và của YH Chien và cộng sự năm 2015 [5] trên các bệnh nhi mắc bệnh

Pompe thể khởi phát sớm ở Đài Loan. Đột biến này cũng được báo cáo là đột biến có khả năng gây bệnh (likely pathogenic) bởi Counsyl - ClinVar (mã đột biến: 370998) [4-6]. Đột biến này xảy ra tại vị trí nối và được dự đoán là gây ra sự gián đoạn trong quá trình nối RNA, dẫn đến không tổng hợp protein hoặc tổng hợp protein sai lệch, điều này dẫn đến sự mất chức năng của enzyme GAA là nguyên nhân gây ra bệnh Pompe. Đặc biệt, sự hiện diện của đột biến này kết hợp với một đột biến khác có thể tăng nguy cơ gây ra các biểu hiện lâm sàng nặng ở bệnh nhân Pompe[7].

Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng đột biến tại vị trí nối (splicing) có thể gây ra giảm hoạt độ enzyme GAA trong máu, và liên quan đến các biểu hiện lâm sàng của bệnh Pompe, ví dụ như nghiên cứu của Stefiana Zampieri và cộng sự năm 2011 [8]. Những đột biến này có thể dẫn đến việc bỏ qua hoàn toàn exon, giữ lại intron hoặc tạo vị trí mới nối mới trong exon hoặc intron. Đôi khi các đột biến không làm gián đoạn hoặc tạo ra vị trí nối mà sẽ kích hoạt các vị trí nối giả đã tồn tại từ trước, điều này phù hợp với giả thuyết cho rằng các intron chứa các trình tự ức chế tạo nối. Những đột biến này cũng có thể ảnh hưởng đến sự cân bằng của các đồng dạng (isoform) được tạo ra bởi các exon nối liền nhau và do đó gây ra bệnh [9].

Khi tiến hành giải trình tự từ mẫu tế bào ối sau nuôi cấy, chúng tôi cũng thu được đột biến này ở thể dị hợp tử, từ đó chúng tôi đưa ra tư vấn di truyền cho thai phụ.

Đột biến c.2563 G>C (p.G855R) đã được biết đến là đột biến điểm được tìm thấy ở bệnh nhân mắc bệnh Pompe như trong nghiên cứu của Xi Chen và cộng sự trên 25 bệnh nhi mắc bệnh Pompe thể khởi phát sớm ở Đài Loan. Tuy nhiên đột biến này có liên quan đến sự giảm hoạt độ enzyme hay các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân hay không thì còn chưa thực sự sáng tỏ [10].

Khi phân tích trình tự gen từ dịch ối sau nuôi cấy, chúng tôi còn thu được đột biến c.2065 G>A (p.E689K). Đột biến này thường gặp ở người châu Á (Nhật Bản và Trung Quốc) nhưng hiếm gặp ở Châu Âu hay các vùng khác. Đột biến này đã được ghi nhận là có thể gây giảm hoạt độ enzyme α -glucosidase hoặc không [11].

Giải trình tự DNA từ tế bào ối sau nuôi cấy, chúng tôi phát hiện đột biến ở dạng dị hợp tử, nên chúng tôi đưa ra tư vấn di truyền cho thai phụ là tiếp tục theo dõi thai bằng siêu âm và tiến hành chẩn đoán sơ sinh khi đứa trẻ được sinh ra.

V. KẾT LUẬN

Pompe là bệnh di truyền gen lặn trên NST thường, do giảm tổng hợp enzyme α -glucosidase A, là hậu quả của đột biến gen GAA. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã chẩn đoán trước sinh cho 2 thai phụ có con mất vì bệnh Pompe, phát hiện 2 thai mang đột biến: c.[2040+1G>T]; c.2563 G>C (p.G855R) và c.2065 G>A (p.E689K) đều ở thể dị hợp tử, từ đó đưa ra tư vấn di truyền cho thai phụ: tiếp tục theo dõi thai kỳ bằng siêu âm và làm sàng lọc sơ sinh khi đứa trẻ được sinh ra.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **P. S. K. ACMG Work Group on Management of Pompe Disease**., Robert D. Steiner, et al (2006). Pompe disease diagnosis and management guideline. *Genet Med.*, 8 (5), 267–288.
2. **V. J. Ausems MG, Hermans MP, et al. (1999)**. Frequency of glycogen storage disease type II in The Netherlands: implications for diagnosis and genetic counselling. *Eur J Hum Genet.*, 7 (6), 713-716.
3. **J. H. A. D. Arnold J. J. Reuser** Pompe Disease. National Organization for rare disorders,
4. **C. P. Huang HP, Hw WL et al (2011)**. Pompe disease induced pluripotent stem cell for pathogenesis modeling, drug testing and

- disease marker identification. *Hum Mol Genet*, 20 (24), 14.
5. **N. L. YH Chien, CA Chen et al. (2015 April).** Long-term prognosis of patients with infantile-onset Pompe disease diagnosed by newborn screening and treated since birth. *The journal of pediatrics*, 166 (4), 985-991.e982.
 6. **W.-L. H. Peng SS, et al. (2016).** Slow, progressive myopathy in neonatally treated patients with infantile-onset Pompe disease: a muscle magnetic resonance imaging study. *Orphanet J Rare Dis*, 11 (1), 63.
 7. **P. R. Kroos M, van Vliet L, et al. (2008).** Update of the Pompe disease mutation database with 107 sequence variants and a format for severity rating. *Hum Mutat*, 29 (6),
 8. **E. B. Stefania Zampieri, Silvia Dominissini, et al. (2011 Apr).** Splicing mutations in glycogen-storage disease type II: evaluation of the full spectrum of mutations and their relation to patients phenotypes. *Eur J Hum Genet.*, 19 (4), 422–431.
 9. **M. B. D Baralle (2005).** Splicing in action: assessing disease causing sequence changes. *J Med Genet*, 42 (10), 737-748.
 10. **L. T. Chen X, Huang M, et al (2017 jun).** Clinical and Molecular Characterization of Infantile-Onset Pompe Disease in Mainland Chinese Patients: Identification of Two Common Mutations. *Genet Test Mol Biomarkers*, 21 (6), 391-396.
 11. **F. M. Youichi Tajima, Sei-ichi Aikawa et al. (2007).** Structural and biochemical studies on Pompe disease and a “Pseudodeficiency of acid a-glucosidase”. *J Hum Genet*, 52, 898–906.