

CÁC BIẾN THỂ CẦN QUAN TÂM (VOC) CỦA SARS-COV-2, HIỆU QUẢ CỦA VACCINE VÀ CƠ CHẾ TÁC ĐỘNG CỦA CÁC THUỐC CHỐNG SARS-COV-2

Nguyễn Nghiêm Luật*

TÓM TẮT

1) SARS-CoV-2 là một virus loại RNA sợi đơn, dương, có kích thước ~29,9 kB. SARS-CoV-2 có 14 khung đọc mở (ORF). Nó có 5'UTR, phức hợp sao chép, các gen gai (S), bao (E), màng (M), nucleocapsid (N), 3'UTR, một số ORF phi cấu trúc và đuôi poly (A). Các đột biến ở RBD, đặc biệt là ở RBM, làm khả năng lây nhiễm và né tránh miễn dịch cao hơn so với chủng ban đầu.

2) Vòng đời của SARS-CoV-2 gồm 9 giai đoạn: (1) liên kết và xâm nhập của virus qua sự hòa màng hoặc nhập bào; (2) giải phóng RNA bộ gen của virus; (3) dịch mã ra RNA phụ thuộc RNA polymerase của virus (RdRp); (4) Sao chép bộ gen; (5) phiên mã dưới bộ gen; (6) dịch mã ra các protein cấu trúc của virus; (7) các protein S, E và M kết hợp với N; (8) hình thành virion trưởng thành và (9) xuất bào.

3) Các biến thể của SARS-CoV-2 được chia thành ba loại: biến thể cần quan tâm (VOC), biến thể cần chú ý (VOI) và biến thể đang theo dõi (VUM). Các biến thể VOC gồm B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), B.1.617.2 (Delta) và P.1 (Gamma). Trong các khả năng của các VOC, khả năng lây nhiễm và né tránh miễn dịch là đáng được quan tâm nhất.

4) Năm loại vaccine tiềm năng đối với COVID-19 đang được phát triển, gồm: (1)

vaccine virus bất hoạt hoặc bị làm suy yếu; (2) vaccine dựa trên protein; (3) vaccine vector virus; (4) vaccine RNA và (5) vaccine DNA. Các vaccine COVID-19 là an toàn và hiệu quả.

5) Cơ chế tác động của thuốc kháng SARS-CoV-2 có thể gồm: (1) ức chế sự xâm nhập của virus vào tế bào chủ bằng rhACE2, bromhexine, arbidol, hydroxychloroquine, ruxolitinib, và baricitinib; (2) ức chế sự sao chép RNA bằng remdesivir, molnupiravir, favipiravir và ribavirin, oseltamivir, emtricitabine và tenofovir; (3) ức chế các protease bằng atazanavir, lopinavir, darunavir, danoprevir và noscapine, ...

SUMMARY

SARS-COV-2 VARIANTS OF CONCERN (VOC), VACCINE EFFECTIVENESS AND THE MECHANISMS OF ACTION OF ANTI-SARS-COV-2 DRUGS

1) The SARS-CoV-2 is a single stranded positive RNA virus of ~29.9 kB in size. The SARS-CoV-2 has 14 open reading frames (ORFs). It has 5'UTR, replication complex, spike (S) gene, envelope (E) gene, membrane (M) gene, nucleocapsid (N) gene, 3'UTR, several non-structural ORFs and a poly (A) tail. Mutations in RBD, especially in RBM, allow for greater transmissibility and immune evasion than the progenitor strain.

2) SARS-CoV-2 life cycle including 9 phases: (1) binding and viral entry via membrane fusion or endocytosis; (2) releases of viral genome; (3) translation of viral RNA dependent RNA polymerase (RdRp); (4) genome replication; (5)

*Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nghiêm Luật

Email: luatnn@gmail.com

Ngày nhận bài: 20.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 24.11.2021

Ngày duyệt bài: 25.11.2021

subgenomic (nested) replication; (6) translation of viral structural proteins; (7) S, E, and M proteins combine with nucleocapsid; (8) formation of the mature virion, and (9) exocytosis.

3) Variants of SARS-CoV-2 are divided into three types: variants of concern (VOCs), variants of interest (VOI) and variants under monitoring (VUM). The current VOCs include B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), B.1.617.2 (Delta), and P.1 (Gamma). Among possibilities of VOCs, the transmissibility and the evade vaccine-induced immunity would be the most concerning.

4) Five different types of potential vaccines for COVID-19 are in development, include: (1) inactivated or weakened virus vaccines; (2) protein-based vaccines; (3) viral vector vaccines; (4) RNA vaccines and (5) DNA vaccines. COVID-19 vaccines are safe and effective.

5) The mechanisms of action of anti-SARS-CoV-2 drugs may include: (1) inhibition of viral entry the host cells by rhACE2, bromhexine, arbidol, hydroxychloroquine, ruxolitinib, and baricitinib; (2) inhibition of RNA replication by remdesivir, molnupiravir, favipiravir và ribavirin, oseltamivir, emtricitabine và tenofovir; (3) inhibition of proteases by atazanavir, lopinavir, darunavir, danoprevir và nospapine, ...

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh coronavirus 2019 (coronavirus disease 2019: COVID-19) do coronavirus-2 của hội chứng hô hấp cấp tính nặng (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2: SARS-CoV-2) thuộc nhóm Betacoronavirus, lây nhiễm cho người. Chủng virus ban đầu (original virus strain) được phát hiện ở Vũ Hán, tỉnh Hồ Bắc, Trung Quốc vào tháng 12/2019, lây lan nhanh chóng, sinh ra một số đột biến và đến tháng 4/2020, biến thể SARS-CoV-2 mang đột biến protein đột biến

acid amin D614G ở protein gai trở thành dạng chiếm ưu thế trên toàn cầu. Các biến thể cần quan tâm (variants of concern: VOC) với nhiều đột biến ở protein gai, gồm B.1.1.7 (alpha) lần đầu xuất hiện ở Anh Quốc, sau đó là B.1.351 (beta) ở Nam Phi, B.1.617 (delta) ở Ấn Độ và P.1 (gamma) ở Brazil, có thể làm tăng lây nhiễm (transmissibility) và né tránh miễn dịch (immune evasion) so với chủng ban đầu.

Bài viết này trình bày khái quát về bộ gen SARS-CoV-2, vòng đời, các biến thể đáng quan tâm (VOC), hiệu quả của các vaccine và cơ chế tác động của các thuốc kháng SARS-CoV-2.

II. CẤU TRÚC BỘ GEN CỦA SARS-COV2

SARS-CoV-2 là một virus loại RNA, có bộ gen là một RNA sợi đơn, dương, có kích thước khoảng 29,9 kB. SARS-CoV-2 gồm có 14 khung đọc mở (open reading frame: ORF), mã hóa cho 27 loại protein khác nhau. SARS-CoV-2 có vùng không dịch mã 5' (5' untranslated region: UTR), phức hợp sao chép (ORF1a và ORF1b), gen gai (spike: S), gen vỏ (envelope: E), gen màng (membrane: M), gen bao nhân (nucleocapsid: N), 3'UTR, một số gen phi cấu trúc và đuôi poly (A).

Về mặt cấu trúc, SARS-CoV-2 có một lớp vỏ lipid kép, gồm 4 loại protein cấu trúc là: protein gai (spike protein: S), protein vỏ (envelope protein: E), glycoprotein màng (membrane glycoprotein: M) và protein bao nhân (nucleocapsid protein: N). Protein gai của SARS-CoV-2 gồm 1273 acid amin, bao gồm một peptid tín hiệu (acid amin 1-13) ở đầu tận N, tiểu đơn vị S1 (acid amin 14-685) và tiểu đơn vị S2 (acid amin 686-1273), có vai trò giúp virus xâm nhập vào tế bào chủ. Trong cấu trúc của protein gai, đáng chú ý là vùng gắn thụ thể RBD (receptor-binding

domain) từ acid amin 333 đến acid amin 527), đặc biệt là dưới vùng (subdomain) kiểu gắn thụ thể RBM (receptor-binding motif) từ acid amin 438 đến acid amin 506, là vùng tương tác trực tiếp với thụ thể ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) của vật chủ, giúp cho vùng RBD của protein gai gắn vào ACE2 của tế bào để đi vào và lây nhiễm cho tế bào vật chủ [3].

III. VÒNG ĐỜI CỦA SARS-COV-2

Vòng đời hay chu kỳ nhân lên của SARS-CoV-2 gồm 9 giai đoạn:

1) SARS-CoV-2 xâm nhập vào tế bào: protein gai (S) của SARS-CoV-2 gắn vào thụ thể ACE2 (angiotensin-converting enzyme 2) và TMPRSS2 (transmembrane protease serine 2) của tế bào để vào tế bào đường hô hấp của vật chủ theo con đường hòa màng (membrane fusion) hoặc nhập bào (endocytosis);

2) Phóng thích bộ gen RNA (+) ra khỏi virus;

3) Dịch mã (translation) để tổng hợp enzym RNA phụ thuộc RNA polymerase (RdRp) của virus, tạo phức hợp enzym sao chép và phiên mã (replicase-transcriptase complex), xúc tác sự sao chép (RNA replication) RNA bộ gen (+) thành RNA bộ gen (-) của virus;

4) Sao chép bộ gen RNA (-) (RNA replication) thành RNA bộ gen (+) (genomic RNA) nhờ enzym RNA phụ thuộc RNA polymerase (RdRp);

5) Phiên mã dưới bộ gen RNA (-) không liên tục (discontinuous subgenomic transcription) thành các mRNA (+) của nucleocapsid (N), gai (spike: S), màng (membrane: M) và vỏ (envelope: E) nhờ enzym RdRp;

6) Dịch mã (translation) các mRNA thành các protein cấu trúc và các protease;

7) Lắp ráp (assembly) các protein S, E và M với nucleocapsid (N) để tạo bao nhân; protein N tạo phức hợp với RNA bộ gen mới.

8) Hình thành virion trưởng thành (mature virion) trong túi Golgi;

9) Virus bài xuất (exotosis) ra khỏi tế bào [4].

IV. CÁC BIẾN THỂ SARS-COV-2 CẦN ĐƯỢC QUAN TÂM (VOC)

Các biến thể của SARS-CoV-2 được chia thành ba loại: biến thể cần quan tâm (variants of concern: VOC), biến thể cần chú ý (variants of interest: VOI) và biến thể đang theo dõi (variants under monitoring: VUM). Biến thể cần quan tâm (VOC) của SARS-CoV-2 là biến thể có liên quan đến một hoặc nhiều thay đổi sau đây ở một mức độ có ý nghĩa toàn cầu về sức khỏe cộng đồng:

1) tăng khả năng lây truyền hoặc thay đổi bất lợi về dịch tễ học COVID-19; hoặc

2) tăng độc lực hoặc thay đổi biểu hiện bệnh lâm sàng; hoặc

3) làm giảm hiệu quả của các biện pháp xã hội và y tế cộng đồng hoặc các phương pháp chẩn đoán, vắc xin, phương pháp điều trị có sẵn.

Các đột biến dưới vùng RBM của protein gai như K417T, L452R và E484K có tác dụng làm dễ dàng cho virus thoát khỏi tác dụng của kháng thể (facilitates antibody escape), còn đột biến N501Y có tác dụng làm tăng ái lực gắn của protein S vào thụ thể ACE2 (enhances S protein binding to ACE2) khoảng 10 lần, nghĩa là làm tăng khả năng lây nhiễm [1]. Đến nay, người ta chưa phát hiện được đột biến nào của SARS-CoV-2 ảnh hưởng một cách có ý nghĩa đến số bệnh

nhân COVID-19 nhập viện (hospitalization) là các biến thể cần được quan tâm, gồm: biến thể B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), hoặc tử vong (mortality). Tính đến 15/ 6/ 2021, 4 biến thể SARS-CoV-2 đã được xem B.1.617.2 (Delta) và P.1 (Gamma) (Bảng 1).

Bảng 1. Tóm tắt các đặc điểm của các biến thể cần quan tâm (VOC) (Thye AYK, 2021 [7])

	B.1.1.7 (Alpha)	B.1.351 (Beta)	B.1.617.2 (delta)	P.1 (Gamma)
Phát hiện đầu tiên	Anh, 9/2020	Nam Phi, 10/2020	Ấn Độ, 12/2020	Brazil, 12/2020
Các đột biến ở protein gai	Xóa 69-70HV và 144Y; N501Y, D614G, A570D, P681H, T716I, S982A, D1118H E484K, S494P và K1191N*	Xóa L242-244; A701V, D215G, D80A, D614G, E484K, K417N, N501Y, R246I, L18F	Xóa 156-157; D614G, D950N, L452R, T19R, T478K, P681R, R158G, G142D*	K417T, E484K, N501Y, L18F, T20N, P26S, D138Y, R190S, D614G, H655Y, V1176F, T1027I
Khả năng lây nhiễm	Hơn 43-82%	Hơn 50%	Hơn 60%	Hơn 1,7-2,5 lần
Tải lượng virus	Cao	Không có sự khác biệt	Cao	Cao khi tái nhiễm
Thời gian lây nhiễm	Dài	N/A	N/A	N/A
Tỷ lệ nhập viện	Cao	Cao	Cao	Cao
Mức độ nặng	Không thay đổi	N/A	N/A	N/A
Tỷ lệ tử vong	Tăng	Tăng	N/A	Tăng
Kháng với sự trung hòa của kháng thể	Kháng với hầu hết mAbs chống NTD và kháng nhẹ với một số mAbs chống RBD	Kháng với hầu hết mAbs hướng chống NTD và nhiều mAbs chống RBD	N/A	Kháng một số mAbs chống RBD
Kháng với huyết tương khỏi bệnh	Kháng ít hơn	Kháng nhiều hơn	N/A	Kháng ít hơn
Hiệu quả của các vaccine	Tác động tối thiểu	Giảm đối với Pfizer, Moderna, Novavax, Johnson & Johnson, AstraZeneca	2 liều Pfizer hoặc AstraZeneca vẫn có tác dụng bảo vệ	Giảm đối với CoronaVac

Ghi chú: *Có thể có đột biến; mAbs: monoclonal antibodies (kháng thể đơn dòng); NTD: N-Terminal domain (vùng đầu tận N); RBD: receptor binding domain (vùng gắn thụ thể); N/A (no answer): chưa có câu trả lời.

Giữa 10/2021, người ta đã xác định thêm một dòng con (sublineage) của biến thể Delta, gọi là biến thể Delta plus AY4.2. So với biến thể Delta, biến thể Delta plus AY4.2 có thêm 3 đột biến Y145 H, A222V và K417N ở vùng gắn thụ thể (RBD), làm tăng lây nhiễm lên 10-15%. Ngày 24/11/2021, một biến thể mới xuất hiện ở Nam Phi là B.1.1.529 với nhiều đột biến ở protein gai hơn các biến thể VOC được báo cáo cho WHO. Ngày 26/11/2021, WHO xếp B.1.1.529 là biến thể cần quan tâm, đặt tên là Omicron. Hiện biến thể Omicron đang được nghiên cứu về khả năng lây nhiễm và thoát miễn dịch.

4. Hiệu quả của các vaccine đối với các biến thể SARS-CoV-2 mới

4.1. Các loại vaccine

Hiện có hơn 180 ứng cử viên vaccine, dựa trên các nền tảng khác nhau đang được phát triển để chống lại SARS-CoV-2. Hầu hết các loại vaccine này đều được thiết kế để cảm ứng hệ thống miễn dịch của cơ thể nhằm tạo ra các kháng thể trung hòa chống lại protein gai (S), có khả năng nhận ra, gắn và ngăn chặn SARS-CoV-2 [2]. Một số loại vaccine tiềm năng đối với COVID-19 đang được phát triển gồm:

1) Các vaccine virus bất hoạt hoặc bị làm suy yếu (inactivated or weakened virus vaccines): là loại vaccine được sản xuất bằng cách sử dụng một dạng virus đã bị bất hoạt

hoặc suy yếu, không gây bệnh, nhưng vẫn có khả năng tạo ra kháng thể, ví dụ: Sinopharm và Sinovac;

2) Các vaccine dựa trên protein hoặc các vaccine tiểu đơn vị protein (protein-based vaccines or protein subunit vaccines): là loại vaccine được sản xuất bằng cách sử dụng các mảnh protein hoặc vỏ protein vô hại có khả năng bắt chước virus COVID-19 để tạo ra kháng thể một cách an toàn, ví dụ: Novavax;

3) Các vaccine vector virus (viral vector vaccines): là loại vaccine được sản xuất bằng cách sử dụng một loại virus an toàn không thể gây bệnh nhưng đóng vai trò như một nền tảng để sản xuất các protein coronavirus có khả năng tạo ra kháng thể, ví dụ: Oxford-AstraZeneca, Johnson & Johnson, và Sputnik V;

4) Các vaccine DNA (DNA vaccines): vaccine DNA được sản xuất bằng cách sử dụng DNA biến đổi gen để tạo ra protein gai có khả năng kích thích tạo ra kháng thể kháng SARS-CoV-2 một cách an toàn, ví dụ: INO-4800 (Inovio) hiện đang thử nghiệm lâm sàng giai đoạn 2;

5) Các vaccine mRNA (mRNA vaccines): vaccine mRNA được sản xuất bằng cách sử dụng các mRNA thiết kế đơn giản, có khả năng tạo ra protein gai để kích thích cơ thể tạo ra kháng thể kháng SARS-CoV-2 mạnh, ví dụ: Pfizer-BioNTech và Moderna.

4.2. Hiệu quả của các vaccine đối với các biến thể Sars-CoV-2 mới

Hiệu quả (effectiveness) của các vaccine đối với sự ngăn chặn bệnh, tỷ lệ nhập viện, độ nặng của bệnh và tỷ lệ tử vong đối với các biến thể mới cần được quan tâm (VOC) của SARS-CoV-2 có sự khác nhau (Bảng 2).

Bảng 2. Cơ chế tác dụng và hiệu quả của các loại vaccine Covid-19 đối với các thể SARS-CoV-2 chung và với biến thể Delta (Mascellino MT, 2021 [5], ...)

	Pfizer/BioNTech	Moderna	Astra-Zeneca	Johnson & Johnson
Hiệu quả chung*	Ngăn chặn: 95% bệnh, 87,5% bệnh nặng, 90% tử vong	Ngăn chặn: 94% bệnh, 95% bệnh nặng, 81,5% tử vong	Ngăn chặn: 76% bệnh, 93% bệnh nặng, 91% tử vong	Ngăn chặn: 72% bệnh, 86% bệnh nặng, 83% tử vong**
Hiệu quả đối với biến thể Delta*	Ngăn chặn: 88% bệnh, 96% bệnh nặng, 90% tử vong	Ngăn chặn: 94,1% bệnh, 95% bệnh nặng, 85,5% tử vong	Ngăn chặn: 60% bệnh, 93% bệnh nặng, 91% tử vong	Ngăn chặn: 85% bệnh, 71% bệnh nặng, 96% tử vong**
Hiệu quả vaccine theo thời gian	86,9% xuống 43,3% sau 6 tháng	89,2% xuống 58% sau 6 tháng	77% xuống 67% (sau 4-5 tháng)	86,4% xuống 13,1% sau 6 tháng

Ghi chú: *14 ngày sau liều 2; **đối với vaccine Johnson & Johnson, sử dụng 1 liều, đánh giá ở ngày thứ 28.

Khả năng bảo vệ của các loại vaccine chống lại sự lây lan COVID-19 cũng giảm theo thời gian dẫn đến khả năng có thể cần tiêm mũi vaccine bổ sung (COVID-19 vaccine booster shots).

5. Cơ chế tác dụng của các thuốc kháng COVID-19

Cơ chế tác dụng của các loại thuốc kháng COVID-19 có thể gồm:

1) Ức chế virus đi vào tế bào vật chủ (viral to host cell): rhACE2 (recombinant human ACE2), bromhexine, arbidol, hydroxychloroquine, ruxolitinib và baricitinib;

2) Ức chế sự sao chép của virus (viral replication): enzym RdRp có thể bị ức chế bởi các thuốc tương tự nucleoside như remdesivir, molnupiravir, favipiravir và ribavirin, oseltamivir, emtricitabine và tenofovir;

3) Ức chế các protease của virus (viral proteases): atazanavir, lopinavir, darunavir, danoprevir và nescapine;

4) Tăng cường miễn dịch (immunoenhancement): interferon-alpha, interferon-beta, nivolumab (chặn sự chết tế bào theo chương trình: PD-1);

5) Điều biến miễn dịch (immunomodulating): immunoglobulin tiêm tĩnh mạch, fingolimod và thalidomide;

6) Ức chế miễn dịch (immunosuppressive): corticosteroid, các kháng thể đơn dòng tocilizumab, sarilumab, siltuximab (ức chế IL-6) và NSAID (paracetamol, ibuprofen);

7) Tăng thông khí phổi: nitric oxide, sildenafil, aviptadil, losartan [6].

V. KẾT LUẬN

SARS-CoV-2 là một virus RNA sợi đơn, dương, kích thước ~29,9 kB, có 14 khung đọc mở (ORF). Nó có phức hợp sao chép, gen gai (S), gen bao (E), gen màng (M), gen

nucleocapsid (N); các đột biến ở RBD, đặc biệt là ở RBM, làm tăng khả năng lây nhiễm và né tránh miễn dịch. Vòng đời của SARS-CoV-2 gồm 9 giai đoạn: protein gai gắn với ACE2 và virus xâm nhập vào tế bào chủ, virion giải phóng RNA, RNA dịch mã thành enzym RdRp, sao chép và phiên mã bộ gen, dịch mã thành các protein cấu trúc và các protease, capsid hóa, hình thành virion và xuất bào. Các biến thể VOC gồm B.1.1.7 (Alpha), B.1.351 (Beta), B.1.617.2 (Delta) và P.1 (Gamma), có các đột biến liên quan đến tăng lây nhiễm và né tránh miễn dịch. Năm loại vaccine COVID-19 đang phát triển gồm: vaccine virus bất hoạt hoặc bị làm suy yếu, vaccine protein, vaccine vector virus, vaccine RNA và vaccine DNA. Các vaccine đang được sử dụng là an toàn và hiệu quả. Cơ chế tác động của các thuốc kháng SARS-CoV-2 gồm: ức chế sự xâm nhập của virus vào tế bào chủ, ức chế sự sao chép RNA, ức chế các protease,....

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Jackson CB, Farzan M, Chen B & Choe H. Mechanisms of SARS-CoV-2 entry into cells. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2021 Oct 5: 1-18.
2. Kyriakidis NC, López-Cortés A, González EV, et al. SARS-CoV-2 vaccines strategies: a comprehensive review of phase 3 candidates. *NPJ Vaccines* 2021 Feb 22; **6**(1): 28.
3. Lan J, Ge J, Yu J, et al. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. *Nature* 2020 May; **581**(7807): 215-220.
4. Lebeau G, Vagner D, Frumence É, et al. Deciphering SARS-CoV-2 Virologic and Immunologic Features. *Int J Mol Sci* 2020; **21**(16): 5932.
5. Mascellino MT, Timoteo FD, Angelis MD, and Oliva A. Overview of the Main Anti-SARS-CoV-2 Vaccines: Mechanism of Action, Efficacy and Safety. *Infect Drug Resist* 2021; **14**: 3459-3476.
6. Sahebnaasagh A, Avan R, Saghafi F, et al. Pharmacological treatments of COVID-19. *Pharmacol Rep* 2020 Dec; **72**(6):1446-1478.
7. Thye AYK, Law JWF, Pusparajah P, et al. Emerging SARS-CoV-2 Variants of Concern (VOCs): An Impending Global Crisis. *Biomedicines* 2021 Oct; **9**(10): 1303.

COVID 19 VỚI UNG THƯ: THÁCH THỨC VÀ CƠ HỘI

Hán Minh Thủy¹, Đặng Thị Ngọc Dung², Phạm thiện Ngọc²

TÓM TẮT

Trên toàn cầu, hàng triệu người đang mắc COVID-19 và con số này vẫn liên tục tăng lên từng ngày. Đối tượng bệnh nhân tuổi cao hoặc có bệnh lý nền được WHO xếp vào nhóm dễ bị tổn thương. Trong đó, nhóm bệnh nhân ung thư dễ bị mắc và đe dọa tính mạng bởi COVID-19 tiến triển trầm trọng. Tuy nhiên, sự ảnh hưởng này là hai chiều. COVID-19 gây tổn thương đa cơ quan, rối loạn hệ thống miễn dịch trên nền sức khỏe suy giảm ở bệnh nhân ung thư. Mặt khác, COVID-19 làm gián đoạn việc chẩn đoán, thay đổi tiên lượng và gây khó khăn trong quá trình điều trị ung thư, đặc biệt trong thời điểm cách ly hoặc giãn cách xã hội. Bên cạnh đó, bước đầu đã có các giả thuyết cho rằng virus SARS-CoV-2 có khả năng gây ung thư ở người. Đồng thời, một số báo cáo cũng đang tập trung nghiên cứu về tương tác giữa khối u và virus ở cấp độ tế bào, mang tới những thách thức cũng như cơ hội mới để phát triển các liệu pháp hữu hiệu có tác dụng điều trị kép không những làm chậm sự phát triển của virus SARS-CoV-2 mà còn làm chậm tiến triển của bệnh ung thư.

Từ khóa: COVID-19, SARS-CoV-2, Ung thư

SUMMARY

COVID 19 WITH CANCER: CHALLENGES AND OPPORTUNITIES

Globally, millions of people are suffering from COVID-19 and this number is continuously increasing day by day. Patients who are elderly or have underlying medical conditions are classified as vulnerable by WHO. In particular, the group of cancer patients is susceptible to and life-threatening because of severe progression of COVID-19. However, this influence is bidirectional. COVID-19 causes multi-organ damage, immune system disorders on the background of poor health in cancer patients. On the other hand, COVID-19 disrupts diagnosis, changes prognosis and makes cancer treatment difficult, especially in times of isolation or social distancing. In addition, there were initially theories that the SARS-CoV-2 virus has the ability to cause cancer in humans. At the same time, a number of reports are also focusing on studying the interaction between tumors and viruses at the cellular level, providing new challenges and opportunities for the development of effective therapies. The dual effect not only slows down the growth of the SARS-CoV-2 virus, but also slows the progression of cancer.

Keywords: COVID-19, SARS-CoV-2, Cancer

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sự bùng phát của đại dịch SARS-CoV-2 đã khiến hệ thống chăm sóc sức khỏe ở nhiều quốc gia bị quá tải và trở thành một trong những vấn đề sức khỏe toàn cầu quan trọng nhất. Biểu hiện lâm sàng của SARS-CoV-2 rất khác nhau giữa những người bị nhiễm: từ hội chứng giống cúm đến viêm phổi nặng,

¹Bộ môn Y dược học cơ sở, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội

²Bộ môn Hoá sinh, ĐHY Hà Nội.

Chịu trách nhiệm chính: Hán Minh Thủy

Email: hanminhthuy@gmail.com

Ngày nhận bài: 23.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 24.11.2021

Ngày duyệt bài: 25.11.2021

suy đa cơ quan và tử vong. Đối với bệnh nhân ung thư, đa số báo cáo cho thấy ảnh hưởng bất lợi của việc nhiễm SARS-CoV-2. Bệnh nhân ung thư có thể có tính nhạy cảm cao hơn với việc nhiễm virus này. Bệnh nhân đang điều trị ung thư liên tục hoặc đối với thể bệnh tiến triển, khối u đặc di căn và khối u ác tính huyết học có nguy cơ cao hơn phát triển hội chứng suy hô hấp nghiêm trọng do Coronavirus, dẫn tới nhập viện và có hậu quả nặng nề hơn, thậm chí tử vong so với những người không bị ung thư hoặc ung thư không mắc COVID-19.[1] Các cơ chế góp phần làm nặng biểu hiện ở những bệnh nhân ung thư bị nhiễm COVID-19 bao gồm: Ức chế miễn dịch trong ung thư, sự giải phóng các cytokines một cách ồ ạt gây ra “cơn bão cytokine”, tăng cường biểu hiện các protein có vai trò quan trọng trong quá trình virus lây nhiễm vào tế bào chủ và các biến cố về huyết khối. Một số báo cáo gần đây đã chỉ ra các tác động lâu dài của SARS-CoV-2 lên cơ thể có tồn tại khả năng gây ung thư. Trái lại các nhà nghiên cứu đã ghi nhận một số liệu pháp chống ung thư có tác dụng điều trị kép làm chậm sự phát triển của virus SARS-CoV-2. Hơn nữa, người bệnh ung thư có tiến triển tích cực sau nhiễm virus mà trước đó không đáp ứng với các phương pháp điều trị.

II. TƯƠNG TÁC BẤT LỢI GIỮA SARS-COV-2 VÀ SINH BỆNH HỌC UNG THƯ

1.1. Sơ lược về SARS-CoV-2 và sự lây nhiễm vào tế bào

Xuất hiện vào cuối năm 2019, SARS-CoV-2 lây lan nhanh chóng trên toàn thế giới, gây ra một đại dịch mới được gọi là COVID-19. SARS-CoV-2 thuộc họ Coronaviridae: có vỏ bọc, RNA (+) sợi đơn. Vỏ bọc của virus được tạo thành từ glycoprotein M, protein vỏ E và bao xung

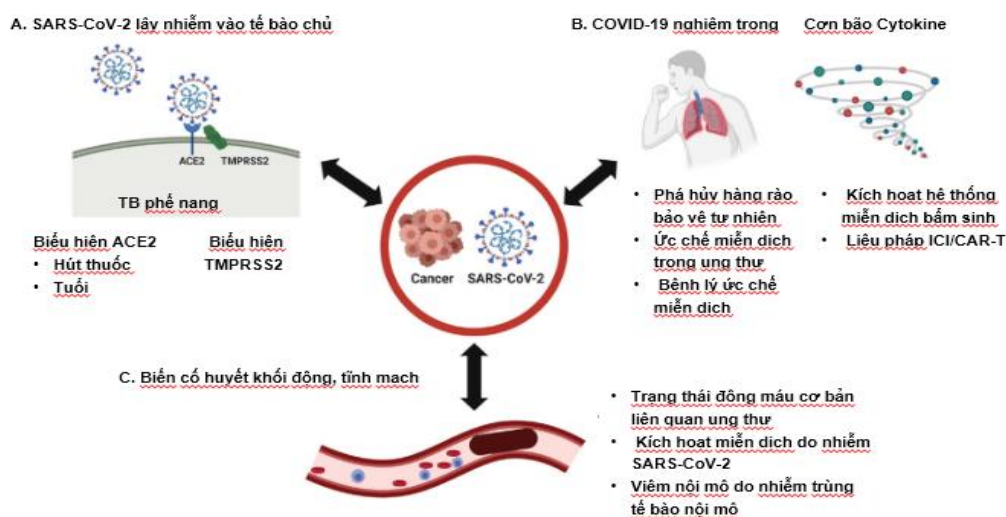
quanh bởi protein gai S. Sự lây nhiễm của virus phụ thuộc rất nhiều vào hoạt động của protein gai S, nó đã được chứng minh liên kết với thụ thể bề mặt ACE2 của các tế bào biểu mô đường hô hấp và sau đó được phân cắt bởi một loại protease serine của vật chủ, thành viên của họ protein serine xuyên màng loại II, TMPRSS2 để thâm nhập vào tế bào đích[1]. Khi virus nằm trong túi nội bào, các protease khác, chẳng hạn như protein cathepsin L (CTSL) của vật chủ sẽ phân cắt protein S để giải phóng RNA sợi đơn vào trong nguyên sinh chất của tế bào chủ. Do nhiều protein của tế bào chủ đã được đề xuất đóng vai trò then chốt cho sự lây nhiễm SARS-CoV-2, vì vậy các kiểu biểu hiện của những thụ thể kể trên và các yếu tố điều biến biểu hiện của chúng rất có thể sẽ ảnh hưởng tới tính nhạy cảm của tế bào chủ với virus.

1.2. Tăng nhạy cảm với COVID-19 ở bệnh nhân ung thư

Tuổi tác là một trong các yếu tố chính ảnh hưởng đến sự khác biệt giữa tế bào đơn nhân máu ngoại vi của mỗi cá nhân trong việc phản ứng lại các tác nhân gây bệnh. Điều này làm cho người cao tuổi dễ bị cả ung thư lẫn nhiễm virus hơn và ít có khả năng phát triển các phản ứng miễn dịch thích ứng khi nhiễm bệnh. Bệnh nhân ung thư có độ tuổi trung bình lớn tuổi hơn dân số chung, và là một trong các yếu tố dẫn tới các kết quả lâm sàng COVID-19 bất lợi. Biểu hiện ACE2 trong mô phổi đã được nghiên cứu và cho rằng tăng lên theo tuổi..[2] Bệnh nhân ung thư có thể coi là dễ bị nhiễm SARS-CoV-2 hơn những người không bị ung thư còn do các yếu tố nguy cơ ung thư cũng liên quan đến COVID-19, cụ thể là rối loạn chuyển hóa như ĐTĐ, béo phì hoặc các tác dụng phụ của hóa trị liệu có thể làm trầm trọng thêm COVID-19, bao gồm tăng huyết áp động

mạch, bệnh cơ tim, ức chế miễn dịch toàn thân và tăng tốc độ lão hóa tế bào. Tại Trung Quốc, tỷ lệ mắc COVID-19 quan sát thấy có xu hướng gia tăng ở những bệnh nhân đã được chẩn đoán mắc ung thư trước đó. Trong

một nghiên cứu cho thấy trong số 1524 bệnh nhân mắc bệnh ung thư từ một trung tâm ung thư ở Trung Quốc, tỷ lệ lưu hành tương đối của COVID-19 cao gấp đôi so với dân số nói chung.[3]



Hình 1. Tương tác giữa SARS-CoV-2 và bệnh học ung thư[1].

Loại ung thư, giai đoạn và các liệu pháp điều trị cụ thể cũng là những yếu tố nguy cơ bổ sung cho tình trạng COVID-19 nghiêm trọng ở nhóm bệnh nhân này. Những bệnh nhân ung thư máu, phổi hoặc ung thư vú dễ bị tổn thương hơn những bệnh nhân mắc các bệnh ung thư khác. Trong nghiên cứu Veneto ở Ý, ung thư vú và ung thư máu có liên quan đến nguy cơ nhập viện và tử vong cao hơn. Ung thư phổi có liên quan đến nguy cơ tử vong gấp 4 lần do nhiễm SARS-CoV-2.[4] Nghiên cứu báo cáo kết quả lâm sàng của COVID-19 trên 102 bệnh nhân ung thư phổi cho thấy quá trình lây nhiễm SARS-CoV-2 ở những người này lâu hơn và nghiêm trọng hơn so với báo cáo ở dân số Hoa Kỳ.[1] Những bệnh nhân được chẩn đoán mắc ung thư biểu mô di căn hoặc giai đoạn cuối dễ

biểu hiện COVID-19 nghiêm trọng hơn những người bị ung thư khu trú.[1] Ung thư ở giai đoạn tiến triển hoặc di căn, có thể làm tổn hại đến trạng thái cân bằng mong manh giữa sự nhân lên của virus và sự đáp ứng thích hợp của hệ thống miễn dịch nói chung và trong biểu mô phế nang phổi với các bạch huyết trung thất nói riêng. Virus SARS-CoV-2 lây nhiễm vào các tế bào nội mô của mao mạch phế nang phổi, gây ra nhiễm trùng và tổn thương nội mô. Thêm vào đó, nhìn chung thể trạng người bệnh ung thư kém hơn so với người bình thường, tình trạng hoạt động ECOG kém cũng có lợi cho mức độ nghiêm trọng của COVID-19. Việc kiểm soát khối u bằng các phương pháp điều trị ung thư cần phải được cân bằng về mặt độc tính trên tim mạch của các tác nhân gây độc

tế bào. Hóa trị liệu gây độc tế bào làm giảm các tế bào miễn dịch gây tăng nguy cơ mắc các bệnh đi kèm (sốt giảm bạch cầu, tăng nguy cơ nhiễm trùng cơ hội...). Theo đó, sau và trong thời gian hóa trị, bệnh nhân mắc bệnh ung thư đặc biệt nhạy cảm với COVID-19.[2] Xơ hóa phổi do bức xạ là một biến chứng phổ biến của xạ trị đối với ung thư phổi và ung thư vú. Xơ hóa phổi dẫn đến sự phá hủy không thể phục hồi của cấu trúc phổi và làm hạn chế quá trình trao đổi khí và có tính nhạy cảm cao với COVID-19 nghiêm trọng. Cuối cùng, phương pháp điều trị ung thư mới là liệu pháp ức chế trạm kiểm soát miễn và liệu pháp CAR-T, với mục đích đảo ngược sự ức chế miễn dịch trong ung thư đồng thời tăng cường phản ứng miễn dịch chống khối u của cơ thể, tuy nhiên lại gây ra tác dụng phụ chính là sự giải phóng quá mức các cytokine viêm tương tự như trong “con bão cytokine” trong bệnh cảnh COVID-19 nghiêm trọng.[1]

1.3. COVID-19 đóng vai trò là yếu tố tiên lượng xấu ở bệnh nhân ung thư

COVID-19 có liên quan đến các biến cố tĩnh mạch và huyết khối với mối liên hệ được gọi là rối loạn đông máu liên quan đến COVID-19. Các biến chứng nhiễm trùng ở những bệnh nhân bị bệnh nặng kích hoạt nhiều phản ứng đông máu toàn thân và phản ứng viêm để bảo vệ vật chủ nhưng ngược lại cũng có thể dẫn đến đông máu rải rác lòng mạch. Thêm vào đó, các tế bào nội mô cũng biểu hiện thụ thể ACE2 và thể vùi virus đã được chứng minh có tồn tại trong các tế bào nội mô của bệnh nhân COVID-19, gợi ý rằng tổn thương nội mô do virus và rối loạn chức năng vi tuần hoàn có thể góp phần vào biến

chứng huyết khối gặp ở bệnh nhân COVID-19.[1] Mặt khác, bệnh nhân ung thư đặc biệt có nguy cơ bị biến chứng huyết khối. Người bệnh có tăng nguy cơ mắc các biến cố huyết khối tĩnh mạch 4 đến 7 lần so với dân số chung, thay đổi theo loại ung thư, giai đoạn, liệu pháp tại chỗ hoặc toàn thân, và các bệnh kèm theo. Một nghiên cứu so sánh những bệnh nhân ung thư với những người không bị ung thư phát triển COVID-19 đã cho thấy COVID-19 thậm chí làm tăng nguy cơ biến chứng huyết khối còn lớn hơn ung thư. Do đó, COVID-19 thực sự là mối lo ngại gây tăng nguy cơ huyết khối ở bệnh nhân ung thư, yếu tố góp phần tăng tiên lượng tử vong trên nhóm bệnh nhân này.

1.4. Khả năng SARS-CoV-2 gây bệnh ung thư

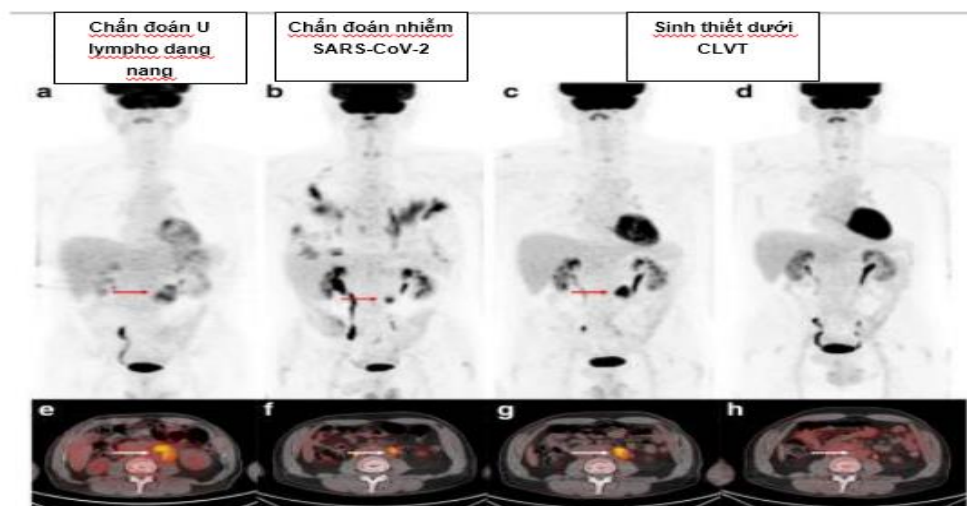
Một giả thuyết đang được nhiều nhà khoa học lo ngại, đó là liệu SARS-CoV-2 có khả năng gây ung thư. Đã ghi nhận một số trường hợp tái dương tính hoặc kích hoạt lại nhiễm trùng tiềm ẩn ở bệnh nhân hồi phục sau giai đoạn cấp tính COVID-19. SARS-CoV-2 có tính chất ái toan đối với nội mô, điều này có thể tạo điều kiện cho sự tồn tại lâu dài trong các mô[5]. Hơn nữa, do có sự tương đồng về cấu trúc với SARS-CoV-1, SARS-CoV-2 có thể trực tiếp làm suy yếu pRb và p53 là 2 gen ức chế khối u. Ngoài ra, COVID-19 có phản ứng viêm ưu thế với stress oxy hóa rõ rệt, liên kết SARS-CoV-2 có thể làm cạn kiệt ACE2 trên bề mặt tế bào, góp phần gây ra sự mất cân bằng hỗ trợ hoạt động chống viêm và oxy hóa của angiotensin II[5]. Mặc dù, cơ chế gây ung thư của nhiễm SARS-CoV-2 dai dẳng vẫn còn thiếu những nghiên cứu bổ sung, nhưng đây cũng là một hướng cần

quan tâm để ngăn ngừa những hậu quả và biến chứng lâu dài sau đại dịch. Bên cạnh khía cạnh về lâm sàng, việc tầm soát, quản lý và điều trị ung thư cũng đang bị ảnh hưởng đáng kể. Để đảm bảo tuân thủ giãn cách, tránh tập trung đông người, các bệnh viện cần phải trang bị các trạm phân loại bệnh nhân, thu hẹp không gian khám chữa bệnh khác để ưu tiên cơ sở vật chất cho đối tượng bị nhiễm SARS-CoV-2 cần cách ly điều trị. Nhiều bệnh nhân, cơ sở chăm sóc sức khỏe đã phải tạm thời đình chỉ việc kiểm tra ung thư định kỳ và các quy trình chẩn đoán đến khi có các biện pháp an toàn thích hợp.

2. Yếu tố thuận lợi của COVID-19 với bệnh lý ung thư

Mặc dù có nhiều tác động tiêu cực của nhiễm COVID-19 trên bệnh ung thư, một số báo cáo gần đây lại cho thấy mối liên quan tích cực của tình trạng nhiễm COVID-19 với sự thuyên giảm của số ít bệnh lý ung thư

máu. Tại Ý, bệnh nhân nam 61 tuổi được chẩn đoán U lympho dạng nang (ung thư tế bào B lớn) vào tháng 9 năm 2019, bắt đầu một quá trình hóa trị bằng R-bendamustine và kết thúc vào tháng 2 năm 2020[6]. Sau đó, bệnh nhân có biểu hiện viêm phổi, xác nhận SARS-CoV-2 dương tính. Đến tháng 4, bệnh nhân chụp FDG-PET/CT thấy hình ảnh co lại của tổn thương hạch bạch huyết cạnh động mạch chủ so với ban đầu (Hình 2.A-E và B-F). Giai đoạn phục hồi sau nhiễm SAR-CoV-2, trên hình ảnh chụp FDG-PET/CT có hiện tượng gia tăng kích thước và ái lực với 18-FDG của tổn thương cạnh động mạch chủ, gợi ý cho bệnh tiến triển (Hình 2.C-G). Trong thời gian nhiễm COVID-19 và sau đó, bệnh nhân không gặp bất kỳ triệu chứng nào của U lympho, khi sinh thiết dưới hướng dẫn CT 2 lần đều không thấy khối u (Hình 2.D – H).



Hình 2. Tiến triển khối u trên hình ảnh chụp FDG-PET/CT của bệnh nhân[6]

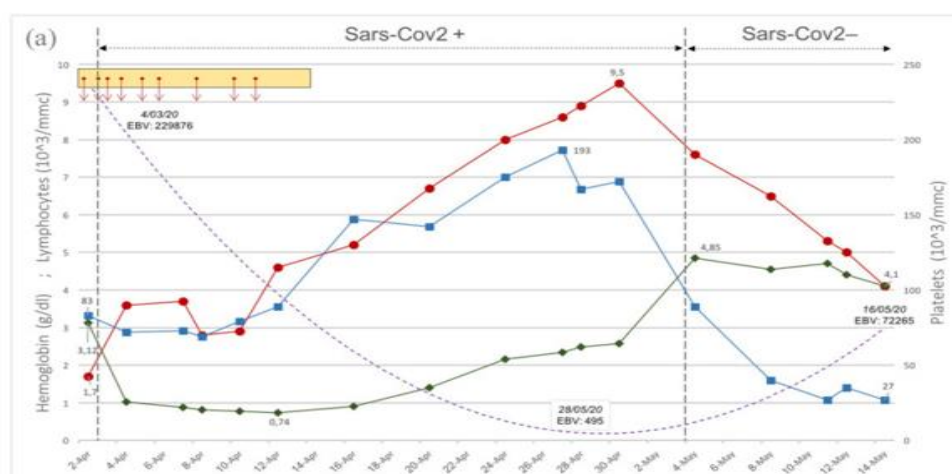
Trong trường hợp tương tự, mối liên hệ giữa COVID-19 và sự thuyên giảm ung thư dường như còn rõ ràng hơn: Một nghiên cứu

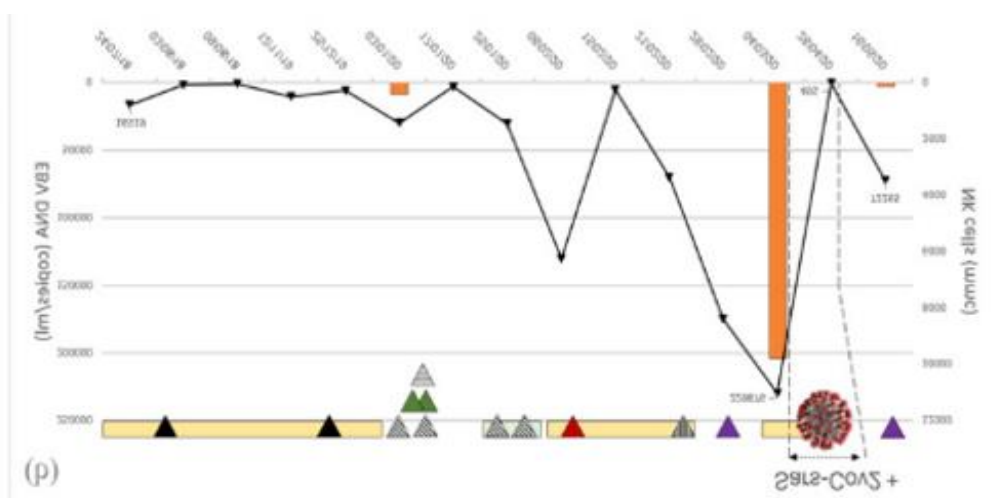
điển hình được công bố trên Tạp chí Huyết học Anh vào tháng 1 năm 2021 đã mô tả sự phục hồi của một người đàn ông 61 tuổi

được chuyển đến khoa huyết học với tình trạng nổi hạch tiến triển kèm theo sụt cân và đã ngừng điều trị ức chế miễn dịch trong ba năm sau khi ghép thận do bệnh thận IgA. Bệnh nhân được chẩn đoán U lympho Hodgkin giai đoạn III, virus Epstein – Barr (EBV) dương tính (4800 copies/mL). Sau đó, bệnh nhân nhập viện trong tình trạng khó thở và được chẩn đoán mắc viêm phổi, SARS-CoV-2 dương tính. Sau 11 ngày nằm viện, không dùng corticosteroid hoặc hóa trị liệu miễn dịch, bệnh nhân được xuất viện. Bốn tháng sau, tình trạng nổi hạch có thể sờ thấy đã giảm và chụp PET/CT cho thấy giảm hấp thu chuyển hóa trên toàn bộ tổn thương. PCR EBV cũng giảm xuống còn 413 copies/mL[7]. Giả thuyết được nhiều nhà nghiên cứu đặt ra chính là nhiễm trùng SARS-CoV-2 đã kích hoạt phản ứng miễn dịch chống khối u, tương tự như đã được mô tả với các bệnh nhiễm trùng đồng thời khác trong ung thư hạch bạch huyết không Hodgkin trước đây. Các cơ chế hoạt động giả định bao gồm phản ứng chéo của tế bào T đặc hiệu mầm bệnh với kháng nguyên khối u

và kích hoạt tế bào giết tự nhiên NK bởi các cytokine gây viêm được tạo ra để đáp ứng với nhiễm trùng. Cytokine có khả năng khuếch đại phản ứng miễn dịch để nó không chỉ tấn công một mục tiêu cụ thể virus, mà còn lan rộng hơn, bao gồm cả các khối u. Do đó, có khả năng rằng virus SARS-CoV-2 dường như đã kích hoạt hệ thống miễn dịch để không chỉ nhận ra tác nhân gây bệnh mà còn là ung thư cùng một lúc.

Một ví dụ cho sự kích hoạt này đã được báo cáo ở bệnh ung thư máu kháng điều trị nhập viện với COVID-19, các triệu chứng ung thư và kết quả xét nghiệm máu của bệnh nhân đột nhiên bắt đầu cải thiện trong tuần thứ hai nằm viện sau nhiễm COVID-19. Nam thanh niên 20 tuổi bị bệnh ung thư hạch tế bào NK, tái phát liên quan đến virus Epstein-Barr (EBV) và bệnh thiếu máu tan máu tự miễn có tiền sử mệt mỏi, sốt kéo dài 5 ngày, ho khan và khó thở. Ung thư hạch tế bào NK không đáp ứng điều trị với hóa trị liệu theo phác đồ CHOP và các liệu pháp miễn dịch.[8]





Hình 3. Diễn biến các chỉ số xét nghiệm của người bệnh trước và sau nhiễm SARS-CoV-2.

(a): Thay đổi các thông số trong xét nghiệm tế bào máu ngoại vi (● Hemoglobin

— Lympho — Tiểu cầu — EBV-DNA ↓ Thay đổi RBC — Prednisonlon)

(b): Thay đổi tải lượng virus EBV và số lượng tế bào NK

(— Số lượng Tế bào NK — Tải lượng EBV)

Sự cải thiện lâm sàng và xét nghiệm bất ngờ cho thấy sự thuyên giảm của ung thư hạch NK trong quá trình nhiễm COVID-19, như thể SARS-CoV2 đã thực hiện một số hoạt động “oncolytic” (ly giải ung thư). Vào ngày thứ 34, nhiễm trùng COVID-19 âm tính, u lympho tế bào NK đã tái phát trở lại biểu hiện thiếu máu tán huyết, sốt, lách to và tăng số lượng tế bào NK. (Hình 3b). Điều mà tất cả những trường hợp này làm nổi bật là nhiễm virus đã kích hoạt hệ thống miễn dịch theo nhiều cách mà chúng ta vẫn chưa hiểu được một cách rõ ràng. Ngoài ra, vẫn còn những câu hỏi về cách tốt nhất để sử dụng virus để tiêu diệt khối u, chẳng hạn như bệnh ung thư nào có thể dễ dàng tiếp nhận liệu pháp này nhất và liệu khả năng miễn dịch trước với virus có thể gây trở ngại cho việc điều trị hay không. Tuy nhiên không thể phủ nhận rằng các hiện tượng trên góp phần

không nhỏ vào các nghiên cứu sử dụng SARS-CoV2 và con đường miễn dịch liên quan giữa chống ung thư và virus nói chung như một phương pháp miễn dịch hữu hiệu để điều trị ung thư như: Liệu pháp Interferon, ức chế IL6-JAK-STAT3, loại bỏ Androgen (ADT), virotherapy...[2]

III. KẾT LUẬN

COVID-19 ảnh hưởng sâu sắc tới mọi đối tượng, đặc biệt là nhóm bệnh nhân ung thư. Bệnh nhân ung thư dễ mắc COVID-19 nghiêm trọng vì nhiều lý do như tuổi trung bình cao; thể trạng chung kém; đi kèm các bệnh lý nền (béo phì, tăng huyết áp, đái tháo đường); tác dụng phụ của các liệu pháp chống ung thư gây suy yếu hệ miễn dịch (phẫu thuật, hóa trị, xạ trị) hoặc tăng cường quá mức cytokine viêm làm rối loạn hệ miễn dịch (liệu pháp miễn dịch). Bên cạnh đó, đã

xuất hiện giả thuyết SARS-CoV-2 về lâu dài có thể gây nên ung thư ở người hay không vẫn đang chờ được làm sáng tỏ. Sự bùng phát COVID-19 toàn cầu khiến tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong của bệnh nhân ung thư bị ảnh hưởng nghiêm trọng, do hệ thống chẩn đoán sớm, khả năng duy trì điều trị cũng như chăm sóc sức khỏe gặp nhiều khó khăn và trì hoãn. Tuy nhiên, bên cạnh những tác động tiêu cực, SARS-CoV-2 còn góp phần đem lại hướng nghiên cứu mới về tác dụng điều trị kép của COVID-19 và bệnh lý ung thư thông qua tương tác miễn dịch phức tạp giữa virus với sinh bệnh học khối u.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] **Z. Bakouny et al.**, “COVID-19 and Cancer: Current Challenges and Perspectives,” *Cancer Cell*, vol. 38, no. 5, pp. 629–646, Nov. 2020.
- [2] **L. Derosa et al.**, “The immuno-oncological challenge of COVID-19,” *Nat. Cancer*, vol. 1, no. 10, Art. no. 10, Oct. 2020.
- [3] **J. Yu, W. Ouyang, M. L. K. Chua, and C. Xie**, “SARS-CoV-2 Transmission in Patients With Cancer at a Tertiary Care Hospital in Wuhan, China,” *JAMA Oncol.*, vol. 6, no. 7, pp. 1108–1110, Jul. 2020.
- [4] **M. Rugge, M. Zorzi, and S. Guzzinati**, “SARS-CoV-2 infection in the Italian Veneto region: adverse outcomes in patients with cancer,” *Nat. Cancer*, vol. 1, no. 8, Art. no. 8, Aug. 2020.
- [5] **M. Alpalhão, J. A. Ferreira, and P. Filipe**, “Persistent SARS-CoV-2 infection and the risk for cancer,” *Med. Hypotheses*, vol. 143, p. 109882, Oct. 2020.
- [6] **M. Sollini, F. Gelardi, C. Carlo-Stella, and A. Chiti**, “Complete remission of follicular lymphoma after SARS-CoV-2 infection: from the ‘flare phenomenon’ to the ‘abscopal effect,’” *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, pp. 1–3, Feb. 2021.
- [7] **S. Challenor and D. Tucker**, “SARS-CoV-2-induced remission of Hodgkin lymphoma,” *Br. J. Haematol.*, vol. 192, no. 3, pp. 415–415, 2021.
- [8] **F. Pasin et al.**, “Oncolytic effect of SARS-CoV2 in a patient with NK lymphoma,” *Acta Bio Medica Atenei Parm.*, vol. 91, no. 3, 2020.

MỨC ĐỘ D-DIMER DỰ ĐOÁN TỬ VONG Ở BỆNH NHÂN COVID-19 TẠI BỆNH VIỆN DÃ CHIẾN ĐIỀU TRỊ COVID-19 ĐA TẦNG QUẬN TÂN BÌNH, THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Phạm Quang Nhật, Cao Thị Vân, Đặng Đình Dân, Nguyễn Thế Hoàng
Nguyễn Đức Tới, Hồ Hữu Đức, Hồ Thị Thanh Tâm(*)

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: D-Dimer là một dấu ấn sinh học liên quan đến quá trình đông máu đang diễn ra và sự gia tăng nồng độ trong huyết tương là yếu tố quan trọng để bác sĩ lâm sàng nhận biết, chẩn đoán và dự đoán mức độ nghiêm trọng của bệnh nhân. Tại bệnh viện dã chiến, tỉ lệ bệnh nhân tử vong do tình trạng rối loạn đông máu là đáng lo ngại, vì vậy đề tài nghiên cứu khả năng dự báo nồng độ D-dimer ở bệnh nhân nhiễm covid-19 để từ đó có hướng xử trí tốt hơn trong việc theo dõi và tiên lượng khả năng sống còn của bệnh nhân.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu 230 bệnh nhân nhiễm covid-19, trong đó có 106 bệnh nhân tử vong từ ngày 01/09/2021 đến ngày 30/09/2021 đồng thời được xét nghiệm D-Dimer, Ferritin, Công thức máu. Kết quả xét nghiệm được lấy tại thời điểm lần 1.

Kết quả: Tỉ lệ tử vong ở bệnh nhân có bệnh nền chiếm 76,4% của nhóm nghiên cứu. Trong đó tỉ lệ bệnh nhân tăng huyết áp chiếm 59/81(72,8%), đái tháo đường 42/81 (51,9%). Nồng độ trung bình của D-Dimer có giá trị trung vị là 2410ng/ml, nồng độ trung bình của Ferritin: 1198 ± 490 ng/mL, Lympho: 571 ± 298 /ml. Phần diện tích dưới đường cong của D-dimer, Ferritin

và lympho lần lượt là 0,72, 0,64 và 0,72 với $p = 0,000$. Giá trị ngưỡng nồng độ D-Dimer phân biệt nhóm bệnh tử vong là 1677 ng/mL với độ nhạy là 69,8% và độ đặc hiệu 60,7%.

Kết luận: (1) Mức độ D-dimer cao hơn 1,677 mg/mL là giá trị cắt tối ưu để dự đoán tỷ lệ tử vong trong các trường hợp nặng của Covid-19; 2) Giá trị cắt của D-dimer có thể dự đoán các trường hợp tử vong do COVID-19 với độ chính xác vừa phải và cũng có thể được kết hợp với một số thông số xét nghiệm lâm sàng khác để sàng lọc bệnh nhân nhập viện.

SUMMARY

D-DIMER LEVELS FOR PREDICTION OF MORTALITY IN PATIENTS WITH COVID-19 AT MULTI-TIER FIELD HOSPITAL OF TAN BINH DISTRICT, HO CHI MINH CITY

Background: D-Dimer is a biomarker associated with ongoing coagulation and an increase in plasma concentration is important for clinicians to recognize, diagnose, and predict patient severity. At the three-level field hospital for COVID-19 patients, the death rate of patients due to blood clotting disorders is inevitable, so the study is able to predict the concentration of D-dimer in patients with covid-19 so that they can better direction in monitoring and predicting patient survival.

Subjects and methods: Studying 230 patients infected with covid-19, including 106 patients who died from September 1, 2021 to

(*)Bệnh viện Thống Nhất, Thành phố Hồ Chí Minh
Minh Chịu trách nhiệm chính: Cao Thị Vân
Email: caovan1969@gmail.com
Ngày nhận bài: 22.11.2021
Ngày phản biện khoa học: 24.11.2021
Ngày duyệt bài: 30.11.2021

September 30, 2021 and were tested for D-Dimer, Ferritin, CBC. Test results are obtained at time 1.

Results: The mortality rate in patients with underlying disease accounted for 76.4% of the study group. In which, the proportion of patients with hypertension accounted for 59/81 (72.8%), diabetes 42/81 (51.9%). The mean concentration of D-Dimer has the median value of 2410ng/mL, the mean concentration of Ferritin: 1198 ± 490 ng/mL, Lymph: 571 ± 298 /mL. The area under the curve of D-dimer, Ferritin and lymphocyte is 0.72, 0.64 and 0.72, respectively with probability $P = 0.000$. The threshold value of D-Dimer level that distinguishes the group of fatal diseases is 1677 ng/mL with a sensitivity of 69.8% and a specificity of 60.7%. D-dimer levels higher than 1.677 mg/mL are the optimal cut-off value for predicting mortality in severe cases of Covid-19 with a sensitivity of 69.8%; specificity of 60.7%; and area under the curve of 0.717 (95% CI 0,655 - 0,783; $P = 0.000$).

Conclusion. 1) D-dimer levels higher than 1.677 mg/mL are the optimal cut-off value for predicting mortality in severe cases of Covid-19; 2) The cut-off value D-dimer can predict fatal cases of COVID-19 with moderate accuracy and it can also be used in the combination with some other clinical laboratory parameters to screen for hospitalized patients.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh COVID-19 là đại dịch toàn cầu đang diễn ra. Diễn tiến lâm sàng của nhiễm COVID-19 từ không có triệu chứng đến bệnh nặng và tử vong. Ở bệnh COVID-19 có hiện tượng rối loạn tăng đông máu và nó có thể khiến bệnh nhân xuất hiện huyết khối, cả trong tuần hoàn tĩnh mạch và động mạch, do viêm quá mức, hoạt hóa tiểu cầu, rối loạn

chức năng nội mô và ứ máu. Vì vậy tăng D-Dimer có thể tương quan với tiên lượng xấu như sự nặng lên của hội chứng suy hô hấp cấp tính (ARDS), nguy cơ nhập khoa hồi sức và tử vong.

D-Dimer là một sản phẩm thoái hóa của các sợi Fibrin trong quá trình tiêu sợi huyết và dưới tác động của Plasmin. Trong điều kiện bình thường, quá trình hình thành các cục máu đông (tạo Fibrin) luôn cân bằng với quá trình tan cục máu đông (tiêu Fibrin). Tất cả các hoạt động quá mức quá trình tạo Fibrin đều có thể dẫn đến bệnh lý huyết khối, biến chứng chảy máu. Sự gia tăng nồng độ của D-Dimer là sự thay đổi nhạy cảm nhất trong các thông số đông máu trong COVID-19 cho thấy nguy cơ hình thành huyết khối gia tăng [2]. Tuy nhiên, D-dimer là một dấu hiệu của quá trình tiêu sợi huyết và chỉ là một đại diện cho tình trạng huyết khối đang diễn ra, độ đặc hiệu của nó đối với huyết khối tĩnh mạch là thấp. Đối với bệnh nhân nhiễm covid-19, cơ chế rối loạn đông máu chưa hoàn toàn hiểu rõ. Tại bệnh viện dã chiến, tỷ lệ bệnh nhân COVID-19 tử vong do tình trạng rối loạn đông máu được quan sát ở đa số các trường hợp, vì vậy đề tài nghiên cứu mô tả và đánh giá nồng độ D-dimer ở bệnh nhân nhiễm covid-19 tử vong để từ đó có hướng xử trí tốt hơn trong việc theo dõi và tiên lượng khả năng sống còn của bệnh nhân.

Mục tiêu nghiên cứu: *Xác định mức độ dự báo tử vong của D-Dimer ở bệnh nhân nhiễm Covid-19.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang có phân tích.

Nghiên cứu 106 bệnh nhân tử vong trên 330 bệnh nhân nhiễm Covid-19 được nhập viện và điều trị tại Bệnh viện dã chiến điều trị covid-19 đa tầng quận Tân bình từ ngày 01/09/2021 đến 30/09/2021. Tất cả các bệnh nhân đồng thời được làm các xét nghiệm D-

Dimer, Ferritin, công thức máu và kết quả được thu thập tại thời điểm lần thứ nhất.

Các phần mềm xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS và các thuật toán sẵn có trong Excel của Microsoft Office.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Bảng số 1: Phân bố tuổi

	20 - 30	31 - 40	41 - 50	51 - 60	61 - 70	71 - 80	>80	TC
Nam	1	2	1	5	15	12	13	49
Nữ	0	2	2	7	16	16	14	57
TC	1	4	3	12	31	28	27	106

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy tỷ lệ tử vong ở nhóm nghiên cứu ở nhóm tuổi > 60 tuổi chiếm 81,1%.

Bảng số 2: Số bệnh nhân tử vong và bệnh lý nền

Số BN có bệnh nền	Số BN không có bệnh nền	Tổng cộng
81	25	106

Tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân có bệnh nền chiếm 76,4% của nhóm nghiên cứu, trong đó tỷ lệ tăng huyết áp chiếm 59/81(72,8%), đái tháo đường 42/81 (51,9%)

Bảng số 3: Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu

Trung bình	69 ± 13
Nhỏ nhất	23
Lớn nhất	95

Bảng số 4: Nồng độ trung bình của D-Dimer, Ferritin, Lympho ở nhóm tử vong của nghiên cứu

	D-Dimer	Ferritin	Lympho
Trung bình	6267	1198	571
Trung vị	2410	1500	500
Độ lệch chuẩn	6852	490	298
Nhỏ nhất	753	27	100
Lớn nhất	20000	2000	1600
Độ tin cậy 95%	1319	94,5	57,55

Nồng độ trung bình của D-Dimer: 6267 ± 6852 ng/mL, Trung vị: 2410 ng/mL

Nồng độ trung bình của Ferritin: 1198 ± 490 ng/mL

Nồng độ trung bình của Lympho: 571 ± 298

Bảng số 5: Nồng độ trung bình của D-Dimer, Ferritin, Lympho ở nhóm còn sống của nghiên cứu

	D-Dimer	Ferritin	Lympho
Trung bình	3176	929	1092
Trung vị	1282	943	800
Độ lệch chuẩn	4845	529	956
Nhỏ nhất	176	18	100
Lớn nhất	20000	2000	7800
Độ tin cậy 95%	867	97	171

Bảng số 6: Dùng kiểm định Anova so sánh trung bình của 3 xét nghiệm giữa 2 nhóm tử vong và nhóm còn sống

	Tổng bình phương độ lệch	Độ tự do	Trung bình	F	p
D-Dimer	2729120108.031	1	2729120108.031	9.999	0.002
Ferritin	3831360.014	1	3831360.014	14.446	0.000
Lympho	16177867.513	1	16177867.513	29.868	0.000

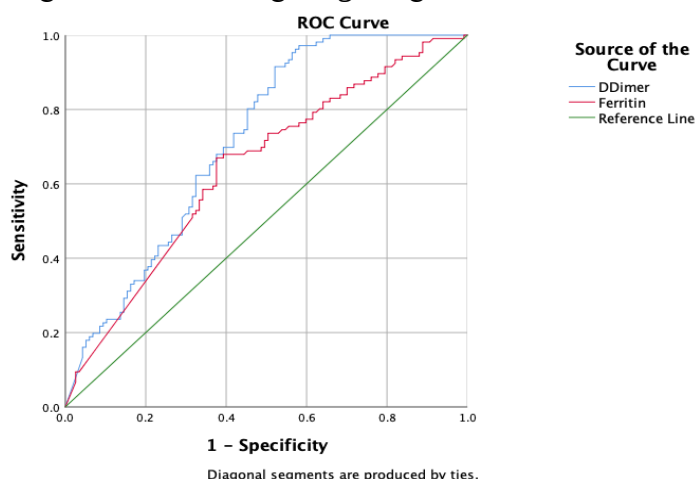
Dùng kiểm định Anova

$F = 9,999$ ứng với $P = 0,002 < 0,05 \rightarrow$ nồng độ trung bình D-Dimer của 2 nhóm sống và tử vong là khác nhau rõ rệt

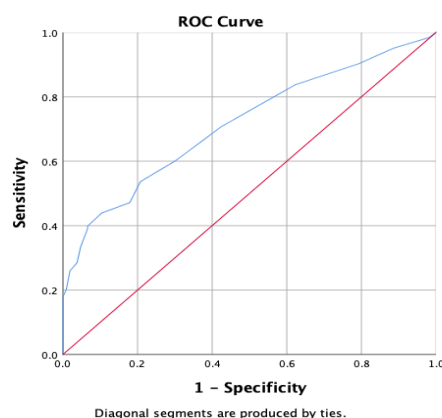
$F = 14,446$ ứng với $P = 0,000 < 0,05 \rightarrow$ nồng độ trung bình Ferritin của 2 nhóm sống và tử vong là khác nhau rất rõ rệt

$F = 29,868$ ứng với $P = 0,000 < 0,05 \rightarrow$ nồng độ trung bình Lympho của 2 nhóm sống và tử vong là khác nhau rất rõ rệt

Biểu đồ: Đường cong ROC xác định ngưỡng nồng độ

**Biểu đồ 1: Biểu diễn đường cong ROC của D-Dimer, Ferritin.**

Biểu đồ 1 cho thấy đường biểu diễn tọa độ tương ứng độ nhạy và dương tính giả lệch lên trên và sang trái.



Biểu đồ 2: Biểu diễn đường cong ROC của Lympho

Biểu đồ 2 cho thấy đường biểu diễn tọa độ tương ứng độ nhạy và dương tính giả lệch lên trên và sang trái.

Bảng số 7: Diện tích dưới đường cong ROC

	DTĐDC ROC	Sai số chuẩn	Xác suất	DTĐDC ở ĐTC 95%
DDIMER	0,717	0,034	0,000	0,655 - 0,783
FERRITIN	0,641	0,037	0,000	0,569 - 0,714
Lympho	0,715	0,033	0,000	0,650 - 0,781

Phân diện tích dưới đường cong ROC của D-Dimer, Ferritin, Lympho lần lượt là: 0,72; 0,64, 0,72 với xác suất $p = 0,000$.

Điểm cắt nồng độ D-Dimer ở nghiên cứu

Bảng số 8: Khảo sát giá trị lớn nhất của trị số J (bảng trích ngang của giá trị nồng độ D-Dimer từ 1548 đến 1797 ng/mL)

D-Dimer	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	DG (1 - ĐDH)	Giá trị J
1548	0.736	0.564	0.436	0.300
1527	0.736	0.556	0.444	0.292
1574	0.726	0.581	0.419	0.307
1581	0.717	0.581	0.419	0.298
1590	0.708	0.581	0.419	0.289
1677	0.698	0.607	0.393	0.305
1671	0.698	0.598	0.402	0.296
1630	0.698	0.59	0.41	0.288
1594	0.698	0.581	0.419	0.279
1688	0.689	0.607	0.393	0.296
1797	0.679	0.624	0.376	0.303

Bảng trích ngang giá trị của D-Dimer từ 1548 - 1797 cho thấy:

Nồng độ D-Dimer tăng 1677 ng/mL thì khi đó trị số J là 0,305 lớn nhất, lúc đó: Độ nhạy là 69,8% và độ đặc hiệu 60,7%.

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm lâm sàng nhóm nghiên cứu

Đề tài nhóm nghiên cứu có 106 bệnh nhân nhập viện điều trị có kết cục tử vong trong thời gian từ ngày 01 tháng 9 đến ngày 30 tháng 9 năm 2021. Phân bố tuổi ở nhóm nghiên cứu có tỷ lệ tử vong ở nhóm bệnh nhân trên 60 tuổi chiếm trên 80%, tuổi trung bình ở nhóm nghiên cứu là 69 ± 13 tuổi. Bất cứ lứa tuổi nào đều có thể bị nhiễm dịch bệnh COVID-19, tuy nhiên, người cao tuổi, nhất là những người có bệnh nền như: hen, đái tháo đường, tim mạch, ung thư, tăng huyết áp, suy thận mạn tính, ... , có thể làm cho bệnh trở nên nặng hơn. Trong nghiên cứu này, tỉ lệ tử vong ở bệnh nhân có bệnh nền chiếm 76,4%, trong đó tỉ lệ bệnh nhân tăng huyết áp chiếm 59/81(72,8%), đái tháo đường 42/81 (51,9%).

Về khảo sát ngưỡng nồng độ của D-Dimer, Ferritin, Lympho, ở nhóm nghiên cứu. Căn cứ vào Quyết định số 4689/QĐ-BYT ngày 06/10/2021: Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị COVID-19 (cập nhật lần thứ 7) của Bộ Y tế [1]. Dựa vào bảng điểm cơn bão Cytokine Cytokine Storm Score (CSS). Nghiên cứu khảo sát nồng độ của D-Dimer, Ferritin, Lympho ở nhóm bệnh nhân nhiễm covid 19 có kết cục tử vong tại bệnh viện đa chiến đa tầng.

Việc xuất hiện cơn bão cytokines ở những bệnh nhân nhiễm Covid-19 làm tình trạng hệ miễn dịch của cơ thể phản ứng quá mức với các tác nhân xâm nhập như virus gây bệnh và dẫn đến phản ứng viêm toàn hệ thống. Các biểu hiện cận lâm sàng trên bệnh nhân hội chứng cơn bão cytokine cho thấy: sự tăng nồng độ của D-Dimer, Ferritin, giảm số lượng bạch cầu lympho, ... , có thể dẫn đến phản ứng viêm quá mức và kích hoạt tình trạng tăng đông máu.

Trong nghiên cứu, như được chỉ ra ở bảng số 4 và bảng số 5, nồng độ trung bình của D-Dimer, Ferritin, Lympho ở nhóm tử vong lần lượt 6267 ± 6852 ng/mL, 1198 ± 490 ng/mL, 571 ± 298 . Nồng độ trung bình của D-Dimer, Ferritin, Lympho ở nhóm còn sống lần lượt 3176 ± 4845 ng/mL, 929 ± 529 ng/mL, 1092 ± 956 .

Việc kiểm định Anova so sánh trung bình của 3 xét nghiệm D-Dimer, Ferritin, Lympho cho thấy sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê với xác suất lần lượt là $P = 0,002$; $P = 0,000$; $P = 0,000$.

Biểu diễn đường cong ROC có tọa độ tương ứng ở trục hoành là tỷ lệ dương tính giả của xét nghiệm, trục tung là độ nhạy của xét nghiệm và phần diện tích dưới đường cong, nếu đường cong lệch lên trên và sang trái càng nhiều thì xét nghiệm càng có giá trị chẩn đoán [4]. Biểu đồ 1, 2 biểu diễn đường cong ROC của D-Dimer, Ferritin, Lympho cho thấy: Tọa độ tương ứng giữa độ nhạy và dương tính giả lệch lên trên và sang trái cho phép phân biệt giữa hai trạng thái sống và tử vong. Phần diện tích dưới đường cong ROC của D-Dimer, Ferritin, Lympho lần lượt là: 0,72; 0,64, 0,72 với xác suất $P = 0,000$.

Điểm cắt xác định ngưỡng chẩn đoán tốt nhất cho nồng độ D-Dimer bằng chỉ số J (Youden, $J = \max$) có trị số cao nhất tương ứng với điểm cắt nồng độ D-Dimer cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao nhất theo bảng tọa độ được tính từ đường cong ROC của nghiên cứu. Ở bảng số 8, bảng trích ngang giá trị của D-Dimer từ 1548 - 1797 cho thấy khi nồng độ D-Dimer tăng đến 1677 ng/mL, trị số J là 0,305, là lớn nhất, tương ứng độ nhạy là 69,8% và độ đặc hiệu 60,7%. So với tác giả Ayusha Poudel, ngưỡng phân biệt tối ưu của D-Dimer là 1500 ng/mL tương ứng với độ nhạy là 70,6% và độ đặc hiệu là 78,4% [5].

Suastika NKW và cộng sự 2021 [6] trong một nghiên cứu trên 80 bệnh nhân phải nhập viện, đã xác định rằng nồng độ D-dimer cao trên 1500 ng/ mL là giá trị ngưỡng tối ưu để dự đoán tỷ lệ tử vong trong các trường hợp nghiêm trọng của Covid-19 với độ nhạy 80,0%; độ đặc hiệu 64,3%; và diện tích dưới đường cong 0,754 (độ tin cậy 95% 0,586 - 0,921; $P = 0,010$).

Zhang L và cộng sự, 2020 [7] nghiên cứu trên 343 bệnh nhân nhập viện, trong đó có 13 bệnh nhân tử vong, lại cho thấy những bệnh nhân Covid-19 có nồng độ D-dimer ≥ 2000 ng/mL có tỷ lệ tử vong cao hơn khi so sánh với những người có nồng độ D-dimer < 2000 ng/mL (12/67 so với 1/267, $P < 0,001$; tỷ lệ nguy cơ, 51,5; khoảng tin cậy 95%, 12,9-206,7).

Mamta S và cộng sự 2020 [3] khi nghiên cứu trên 483 ca tử vong do Covid-19 đã thấy rằng, nồng độ D-dimer ≥ 2010 ng/ mL có thể giúp dự đoán hiệu quả tỷ lệ tử vong ở các bệnh nhân COVID-19 nhập viện và có một sự liên quan có ý nghĩa của sự tăng nồng độ D-dimer với đái tháo đường và tuổi cao.

Nghiên cứu của chúng tôi với cỡ mẫu $n = 106$ cho thấy mức độ D-Dimer cho ngưỡng phân biệt nhóm bệnh tử vong là 1677 ng/mL có độ nhạy là 69,8% và độ đặc hiệu 60,7%. Sự chênh lệch về ngưỡng nồng độ D-Dimer, độ nhạy và độ đặc hiệu trong nghiên cứu của chúng tôi với các tác giả nêu trên có thể là do sự khác nhau về cỡ mẫu nghiên cứu, tuổi tác, bệnh cảnh lâm sàng, ... Do D-Dimer chỉ có độ nhạy và độ đặc hiệu vừa phải để tiên lượng tử vong, việc kết hợp lâm sàng với các xét nghiệm cận lâm sàng khác có thể giúp bác sĩ lâm sàng có hướng điều trị tích cực, góp phần cải thiện tỷ lệ tử vong.

V. KẾT LUẬN

1) Mức độ D-dimer cao hơn 1,677 ng/mL là giá trị cắt tối ưu để dự đoán tỷ lệ tử vong trong các trường hợp nặng của Covid-19.

2) Giá trị giới hạn D-dimer có thể dự đoán các trường hợp tử vong do COVID-19 với độ chính xác vừa phải và cũng có thể được sử dụng kết hợp với một số thông số xét nghiệm lâm sàng khác để sàng lọc bệnh nhân nhập viện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y Tế (2021).** Quyết định số 4689/QĐ-BYT ngày 06/10/2021: Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị COVID-19 (cập nhật lần thứ 7).
2. **Conte G, Cei M, Evangelista I, et al.** The Meaning of D-Dimer Value in COVID-19. Clin Appl Thromb Hemost 2021; 27: 10760296211017668.
3. **Mamta S, Ram G, Raju V, Prabu, P.** D-dimer level is a useful predictor for mortality in patients with COVID-19: Analysis of 483 cases. Diabetes Metab Syndr 2020; 14(6): 2245-2249.
4. **Nguyễn Ngọc Rạng (2013).** Ứng dụng đường cong ROC trong nghiên cứu y học. Trang 1.
5. **Poudel A, Poudel Y, Adhikari A, et al.** D-dimer as a biomarker for assessment of COVID-19 prognosis: D-dimer levels on admission and its role in predicting disease outcome in Hospitalized patients with COVID-19. PLoS One 2021 Aug 26; 16(8): e0256744.
6. **Suastika NKW.** The Optimal Cutoff Value of D-dimer Levels to Predict in Hospital Mortality in Severe Cases of Coronavirus Disease 2019. Open Access Maced J Med Sci 2021 Nov; 9(B):1561-1564.
7. **Zhang L, Xinsheng Yan X, Fan Q, et al.** D-dimer levels on admission to predict in-hospital mortality in patients with Covid-19. J Thromb Haemost 2020 Jun; 18(6): 1324-1329.

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ TIỀN LƯỢNG TỬ VONG CỦA THANG ĐIỂM CYTOKINE STORM VÀ INTERLEUKIN-6 Ở BỆNH NHÂN COVID-19

Hoàng Quốc Trung*, Nguyễn Hữu Huy*, Lê Minh Khôi**/***,
Nguyễn Thị Băng Sương**/***, Nguyễn Hoàng Bắc**/***

TÓM TẮT

Mở đầu: Viêm đường hô hấp cấp tính (COVID-19) do chủng vi rút corona mới (SARS-CoV-2) gây ra hội chứng viêm đường hô hấp cấp tính, đã được Tổ chức Y tế Thế giới (WHO) tuyên bố là đại dịch toàn cầu. Nguyên nhân chính gây tử vong do COVID-19 là khởi phát cơn bão cytokine ở những bệnh nhân nặng. Các chỉ dấu của căn bệnh như ferritin, protein phản ứng C (CRP), LDH và D-Dimer được theo dõi để phát hiện và điều trị can thiệp. Tương tự, sự gia tăng interleukin-6 (IL-6) đã được báo cáo trong bệnh COVID-19.

Mục tiêu: khảo sát khả năng của interleukin-6 (IL-6), thang điểm Cytokine storm trong tiên lượng tử vong do bệnh COVID-19

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 106 bệnh nhân được chia thành hai nhóm, bao gồm 53 bệnh xuất viện và 53 trường hợp tử vong. Các biến số nghiên cứu, nồng độ Ferritin, CRP, LDH, D-dimers và IL-6 được ghi nhận lại.

Kết quả: Ở mức 18,3 pg / mL, IL-6 có thể dự đoán bệnh nhân tử vong với độ nhạy 83% và độ đặc hiệu 93,6%. Tại ngưỡng cắt là 3 điểm, thang điểm cytokine storm có thể tiên lượng bệnh nhân tử vong với độ nhạy 54,7% và độ đặc hiệu 93%. Kết hợp IL-6 và thang điểm cytokine storm đưa

ra dự báo chính xác hơn về tiên lượng tử vong ở bệnh nhân COVID-19.

Kết luận: IL-6 và thang điểm cytokine storm là những chỉ dấu sinh học có giá trị trong việc tiên lượng tử vong do COVID-19

Từ khóa: Interleukin-6, thang điểm cytokine storm, COVID-19

SUMMARY

ROLE OF CYTOKINE STORM SCORE AND INTERLEUKIN-6 IN PREDICTING MORTALITY IN PATIENTS WITH COVID-19

Introduction: COVID-19, caused by the severe acute respiratory syndrome coronavirus-2 (SARS-CoV-2), was declared a pandemic by the World Health Organization (WHO). A major underlying cause of COVID-19 mortality is a hyperinflammatory cytokine storm in severe patients. Markers of disease activity like ferritin, C-reactive protein (CRP), LDH and D-dimers were monitored to detect the best opportunity for intensive treatment. Similarly, increases in the interleukin-6 (IL-6) were described in COVID-19.

Objective: To investigate the ability of interleukin-6 (IL-6), cytokine storm score to predict mortality cases of COVID-19.

Materials and Methods: 106 patients were divided into two groups, including 53 patients in the survival group and 53 cases in the death one. The primary variable of interest, ferritin, CRP, LDH, D-Dimer and IL-6 were recorded.

*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: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 4.11.2021

Results: At IL-6 level of 18,3 pg/mL, IL-6 can predict mortality patients with 83% sensitivity and 93.6% specificity. At cut-off scores is 3 points, the cytokine storm score can predict mortality patients with 54.7% sensitivity and 93% specificity. Combining IL-6 and the cytokine storm score produced more accurate forecasts mortality in COVID-19 patients.

Conclusions: IL-6 and the cytokine storm score seem to be valuable biomarkers in predicting the mortality of COVID-19

Keywords: Interleukin-6, thang điểm cytokine storm, COVID-19

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Từ tháng 12 năm 2019, một chủng vi rút corona mới (SARS-CoV-2) đã được xác định là căn nguyên gây dịch Viêm đường hô hấp cấp tính (COVID-19) tại thành phố Vũ Hán (tỉnh Hồ Bắc, Trung Quốc), sau đó lan rộng ra toàn thế giới gây đại dịch toàn cầu. Người bệnh COVID-19 có biểu hiện lâm sàng đa dạng: từ nhiễm không có triệu chứng, tới những biểu hiện bệnh lý nặng như viêm phổi nặng, suy hô hấp cấp (ARDS), sốc nhiễm trùng, suy chức năng đa cơ quan và tử vong, đặc biệt ở những người cao tuổi, người có bệnh mạn tính [1]. Các nghiên cứu ước tính rằng 15–20% bệnh nhân COVID-19 cần nhập viện và 3–5% cần chăm sóc đặc biệt. Mặc dù kinh nghiệm điều trị COVID-19 tiếp tục phát triển, tỷ lệ tử vong được báo cáo ở những bệnh nhân bị COVID-19 nặng tại ICU dao động từ 21.6–50% [12], [11]. Việc phân tầng nguy cơ khi nhập viện có ý nghĩa quan trọng, giúp lọc ra những bệnh nhân có nguy cơ cao cần được chăm sóc đặc biệt. Cơ chế bệnh sinh của bệnh COVID-19 có vai trò của “cơn bão cytokine” (CS) dẫn đến giai

đoạn bệnh nặng nhất và việc kiểm soát kịp thời nó thông qua thuốc điều hòa miễn dịch, corticosteroid và thuốc đối kháng cytokine có thể là chìa khóa để giảm tỷ lệ tử vong. Nghiên cứu của tác giả Cappanera S và cộng sự (2021) đã xây dựng thang điểm cytokine storm dựa trên số lượng bạch cầu Lympho, D-Dimer, LDH, CRP nhằm xác định chính xác bệnh nhân COVID-19 trong giai đoạn đầu của CS để tiến hành điều trị kịp thời, ngăn ngừa bệnh tiến triển và giảm tỷ lệ tử vong [2]. Bên cạnh đó nồng độ Interleukin-6 tăng cao trong huyết thanh là dấu hiệu của CS và tương quan với tình trạng bệnh nặng, can thiệp thở máy, biến chứng tim mạch, ARDS và có thể tiên lượng tử vong [5], [16]. Chúng tôi thực hiện nghiên cứu dưới đây nhằm xác định vai trò của thang điểm cytokine storm và Interleukin-6 trong tiên lượng tử vong sau 30 ngày của bệnh nhân COVID-19 và lợi ích của việc bổ sung xét nghiệm Interleukin-6 trên nền thang điểm cytokine storm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu hồi cứu cắt ngang mô tả

Ước tính cỡ mẫu

Áp dụng công thức ước tính cỡ mẫu cho

$$\frac{Z_{\alpha}^2 x p_{sp} x (1 - p_{sp})}{w^2}$$

độ đặc hiệu FP + TN =

Ước độ đặc hiệu p_{sp} là 0,89 [10], chấp nhận sai số là 0,1 với tỷ lệ tử vong ước tính là 20% thì cỡ mẫu của nghiên cứu cần thì cỡ mẫu là 47 bệnh nhân.

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trong khoảng thời gian tháng 08 năm 2021 đến tháng 11/2021, chúng tôi thu thập số liệu của 106 bệnh nhân tham gia nghiên

cứu chia làm 2 nhóm tử vong (n=53) và xuất viện (n=53) tại Trung tâm Hồi sức tích cực COVID-19 của BV Đại học Y Dược TP.HCM

Tiêu chuẩn chọn bệnh

- Bệnh nhân từ 18 tuổi trở lên
- Được chẩn đoán nhiễm Sars-CoV-2 bằng phương pháp Realtime RT-PCR

- Bạch cầu Lympho < 1.000 G/L

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân không có đầy đủ xét nghiệm IL-6, D-Dimer, CRP, Ferritin, LDH.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Thu thập các số liệu kết quả xét nghiệm IL-6, D-Dimer, CRP, Ferritin, LDH của bệnh nhân. Thang điểm cytokine storm được tính theo công thức:

- Bạch cầu Lympho < 1.000 G/L (tiêu chí bắt buộc)

- D-dimer > 1000 ng/mL (1 điểm)

- LDH > 300 IU/L (1 điểm)

- Ferritin > 500 ng/mL (1 điểm)

Cơ bản Cytokine dương tính khi điểm ≥ 2 hoặc đạt 1 điểm và CRP > 10 mg/dL.

Xử lý và phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS version 20.0 cho các phân tích thống kê. Biến định tính được biểu diễn ở dạng tỉ lệ phần trăm. Biến liên tục được biểu diễn ở dạng trung vị và khoảng tứ phân vị. So sánh tỉ lệ bằng phép kiểm chi bình phương. So sánh trung vị của biến liên tục của 2 nhóm bằng phép kiểm MannWhitney. Vẽ đường cong ROC để tìm diện tích dưới đường cong, xác định độ nhạy và độ đặc hiệu của IL-6 và thang điểm cytokine storm trong dự báo tử vong sau 30 ngày. Tìm điểm cắt tối ưu của IL-6 và thang điểm cytokine storm trong dự báo tử vong sau 30 ngày.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong khoảng thời gian tháng 08 năm 2021 đến tháng 11/2021, chúng tôi thu thập số liệu của 106 bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn chọn bệnh và không có tiêu chuẩn loại trừ. 106 bệnh nhân này gồm 53 người tử vong và 53 người hồi phục xuất viện. Đặc điểm bệnh nhân được nêu trên bảng 1.

Bảng 1: Đặc điểm bệnh nhân

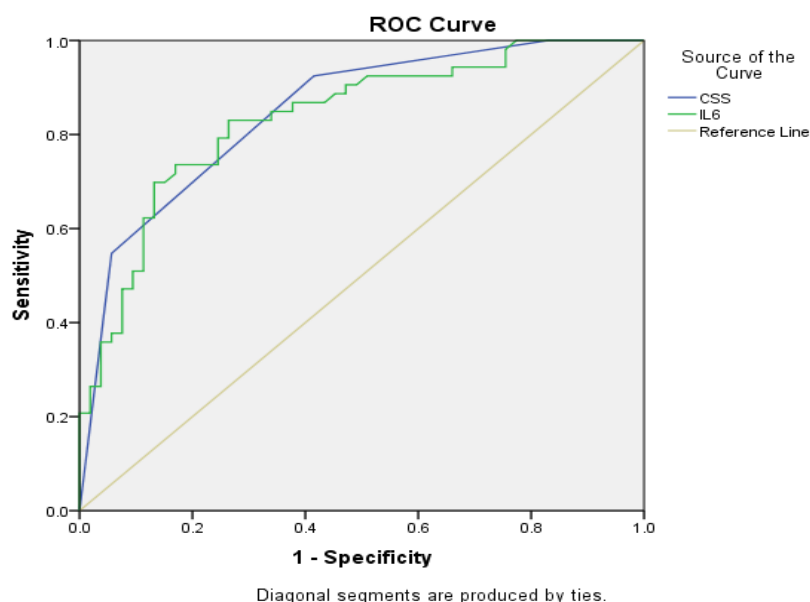
Đặc điểm	Nhóm tử vong (n=53)	Nhóm xuất viện (n=53)	P
Giới nữ	26	34	0,117
Tuổi	68 (58-80)	59 (46-69)	0,007*
Bệnh lý và yếu tố nguy cơ kèm theo			
Đái tháo đường	26(49,06%)	15(28,3%)	0,028*
Tăng huyết áp	34 (64,15%)	30 (56,6%)	0,427
Phổi	3 (5,66%)	2 (3,77%)	0,647
Bệnh lý khác	16 (30,19%)	10 (18,87%)	0,176
BMI	24 (21.9 – 26)	23.2 (21.6 – 25.7)	0,376
Thở máy xâm nhập	50 (94,34%)	4 (7,55%)	<0,001*
Nhiễm trùng hô hấp	31 (58,49%)	5 (9,43%)	<0,001*
Tiêm chủng 1 mũi vaccine trở lên	4 (7,55%)	7 (13,21%)	0,257

Nhận xét: Chúng tôi ghi nhận có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về độ tuổi, tỷ lệ mắc đái tháo đường, tỷ lệ thở máy và nhiễm trùng hô hấp ở nhóm tử vong so với nhóm xuất viện.

Bảng 2. Nồng độ IL-6 và thang điểm Cytokine Storm

Đặc điểm	Nhóm tử vong (n=53)	Nhóm xuất viện (n=53)	p
IL-6	52,8 (20,47 – 163,1)	9,9 (6,35 -18,7)	<0,001*
Ferritin	1149,1 (791,6 – 1927,7)	718,39(448,21 – 1184,7)	<0,001*
D-Dimer	1522 (839 -3097)	659 (421,2 – 907)	<0,001*
LDH	439 (348,7 -654)	266 (221,3 - 376)	0,004*
CRP	46,6 (32,5 – 113,4)	40,5 (16,1 – 74)	0,041*
Thang điểm Cytokine Storm			
Dương tính	53 (100%)	41 (77%)	<0,001*
3	29 (54,72%)	3 (5,66%)	<0,001*
2	20 (37,74%)	19 (35,85)	0,78
1	4 (7,55%)	19 (35,85%)	<0,001*
Âm tính	0 (0%)	12 (22,64%)	<0,001*

Nhận xét: Chúng tôi ghi nhận có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ IL-6, D-Dimer, CRP, Ferritin, LDH và thang điểm cytokine storm giữa 2 nhóm bệnh nhân tử vong và xuất viện.



Hình 1. Đường cong ROC biểu diễn độ nhạy và độ đặc hiệu của nồng độ IL-6 và thang điểm Cytokine storm trong dự báo tử vong sau 30 ngày

Nhận xét: Trên hình 1 là đường cong ROC biểu diễn độ nhạy và độ đặc hiệu của nồng độ IL-6 và thang điểm cytokine storm trong dự báo tử vong sau 30 ngày. Diện tích dưới đường cong ROC của thang điểm cytokine storm và IL-6 lần lượt là 0,861 và 0,837 ($>0,5$) có giá trị trong tiên lượng tử vong sau 30 ngày của bệnh nhân COVID-19.

Từ phân tích tương quan giữa độ nhạy với độ đặc hiệu, chúng tôi xác định ngưỡng cắt tối ưu của thang điểm Cytokine storm là 3 (độ nhạy 54,7% và độ đặc hiệu 94,3%). Ngưỡng cắt tối ưu của IL-6 trong tiên lượng tử vong sau 30 ngày của bệnh nhân COVID-19 là 18,3 pg/mL (độ nhạy 83% và độ đặc hiệu 73,6%).

Bảng 3. Giá trị thang điểm Cytokine Storm khi bổ sung tiêu chuẩn IL-6 $>18,3$ pg/mL (1 điểm)

Đặc điểm	Nhóm tử vong (n=53)	Nhóm xuất viện (n=53)	p
Dương tính	53 (100%)	44 (83,02%)	$<0,001^*$
4	27 (50,94%)	0 (0%)	$<0,001^*$
3	16 (30,19%)	8 (15,09%)	$<0,001^*$
2	9 (16,98%)	20 (37,74%)	$<0,001^*$
1	1 (1,89%)	16 (30,19%)	$<0,001^*$
Âm tính	0 (0%)	9(0%)	$<0,001^*$

Nhận xét: Khi kết hợp thang điểm cytokine storm và IL-6 bằng cách bổ sung tiêu chuẩn IL-6 $>18,3$ pg/mL (1 điểm) sẽ gia tăng độ nhạy và độ đặc hiệu trong tiên lượng tử vong (độ nhạy 81,1% và độ đặc hiệu 84,9%).

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm bệnh nhân

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có sự khác biệt về độ tuổi, bệnh nền đái tháo đường, tỉ lệ thở máy, tỉ lệ vi sinh dương tính giữa hai nhóm tử vong và còn sống khi xuất viện.

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện tại trung tâm hồi sức, vì vậy độ tuổi của bệnh nhân khá cao, và độ tuổi trung vị nhóm tử vong là 68 tuổi, cao hơn mức 65 tuổi theo định nghĩa người cao tuổi, ngược lại nhóm xuất viện có độ tuổi trung vị thấp hơn là 59 tuổi. Đặc điểm này phù hợp với nhiều nghiên cứu đã kết luận, lớn tuổi là yếu tố nguy cơ

độc lập cho tử vong ở người bệnh COVID-19 [7] [6].

Đái tháo đường type 2 đã được báo cáo làm tăng nhu cầu can thiệp y khoa, tăng tỉ lệ suy đa cơ quan, tăng tỉ lệ tử vong ở bệnh nhân COVID-19 [15]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy ĐTĐ2 cũng khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm tử vong và nhóm còn sống.

Tỉ lệ thở máy xâm nhập ở nhóm tử vong cao hơn vì thở máy là một yếu tố nguy cơ tử vong ở bệnh nhân COVID-19 nhập ICU tương tự như các báo cáo trên thế giới [1].

Tỉ lệ có kết quả cấy vi sinh dương tính ở nhóm tử vong cao hơn, do mẫu bệnh phẩm

được lấy vào các thời điểm bệnh diễn tiến xấu đi, đồng thời các bệnh nhân tử vong có thời gian nằm viện dài hơn, xâm lấn nhiều hơn. Ở nhóm xuất viện, tỉ lệ bệnh nhân có mẫu cấy dương tính chiếm 9.43%, nằm trong khoảng bội nhiễm được báo cáo ở nhiều bệnh viện tại Vũ Hán là 5-27% [3]. Tuy nhiên, tỉ lệ cấy dương tính ở các bệnh nhân tử vong lên đến 58.49% cho thấy bội nhiễm vi trùng có thể đóng góp đáng kể vào kết cục tử vong của bệnh nhân.

Tỉ lệ bệnh nhân tăng huyết áp trong nghiên cứu của chúng tôi không khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm tử vong và còn sống, điều này khác biệt so với nhiều nghiên cứu, xác định tăng huyết áp làm tăng nguy cơ bệnh nặng và tử vong [13]. Ở cả 2 nhóm, tỉ lệ tăng huyết áp đều cao >50%. Có lẽ chúng tôi thực hiện nghiên cứu tại một trung tâm hồi sức, nơi có tỉ lệ bệnh nền cao. Đồng thời, có bệnh nền là tiêu chuẩn để bệnh nhân được nhập viện theo dõi, làm tỉ lệ tăng huyết áp đều cao ở cả hai nhóm, cùng với cỡ mẫu nhỏ, làm cho sự khác biệt giữa 2 nhóm không có ý nghĩa.

Tỉ lệ bệnh nhân được tiêm vaccine ngừa SARS-CoV-2 ở nhóm còn sống cao hơn nhóm tử vong nhưng không có khác biệt có ý nghĩa thống kê. Tại thời điểm nghiên cứu, chỉ 10,4% tổng số bệnh nhân trong nghiên cứu được tiêm chủng. Có thể vì vậy, khác biệt về tiêm chủng giữa hai nhóm không có ý nghĩa.

Nồng độ Interleukin-6 và thang điểm Cytokine Storm

D-dimer là sản phẩm thoái biến của fibrin, xuất hiện trong máu sau quá trình tiêu cục máu đông. Nồng độ D-dimer >1000 ng/mL

xác định tiên lượng xấu trong giai đoạn sớm của bệnh nhân COVID-19 [14]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ D-dimer trung bình ở nhóm tử vong cao hơn 2 lần so với nhóm còn sống, và sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Đa số bệnh nhân tử vong có nồng độ D-dimer > 1000ng/mL, ngược lại nhóm xuất viện, đa số có nồng độ D-dimer < 1000ng/mL. Vì vậy D-dimer là một chỉ dấu xác định bệnh nhân nặng, cũng như tiên lượng tử vong ở bệnh nhân COVID-19.

Lactate dehydrogenase (LDH) là chỉ dấu của tổn thương mô, liên quan đến bệnh nhân COVID-19 nặng. Có nhiều ngưỡng tăng LDH liên quan đến độ nặng của COVID-19 trong nhiều nghiên cứu khác nhau. Ngưỡng >300IU/L của Cappanera và cộng sự cao hơn một số nghiên cứu khác, ngưỡng này cũng thích hợp cho nghiên cứu của chúng tôi, khi tiên lượng tử vong, là mức độ bệnh nặng nhất [2]. Nhóm tử vong trong nghiên cứu của chúng tôi có LDH trung bình >300IU/L, ngược lại nhóm còn sống khi xuất viện <300IU/L, khác biệt giữa 2 nhóm là có ý nghĩa.

Ferritin là protein nội bào chứa sắt cho cơ thể, một chất trung gian trong rối loạn điều hòa hệ miễn dịch, có tác động trực tiếp lên quá trình ức chế miễn dịch và tiền viêm, góp phần gây cơn bão Cytokine. Ferritin tăng cao là chỉ dấu dự đoán COVID-19 nặng hoặc tử vong [8], [9]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, Ferritin tăng cao ở cả nhóm tử vong và nhóm còn sống. Tuy nhiên, nhóm tử vong có Ferritin tăng cao hơn, và khác biệt có ý nghĩa. Điều này cho thấy Ferritin có thể góp phần tiên lượng tử vong ở bệnh nhân COVID-19.

CRP là protein được sản xuất bởi gan, trong pha cấp của phản ứng viêm, sau khi đáp ứng với IL-6. Trong nghiên cứu của chúng tôi, đa số bệnh nhân có CRP > 10mg/dL, với nhóm tử vong có nồng độ CRP cao hơn nhóm còn sống, và khác biệt có ý nghĩa. Điều này cũng phù hợp với nhiều báo cáo, ghi nhận tăng CRP là yếu tố nguy cơ độc lập cho tiên lượng xấu ở bệnh nhân COVID-19 [2].

Nghiên cứu của tác giả Cappanera S và cộng sự (2021) đã xây dựng thang điểm Cytokine Storm dựa trên các xét nghiệm D-Dimer, CRP, Ferritin, LDH nhằm nhanh chóng phát hiện bệnh nhân khởi phát bão cytokine để tiến hành điều trị kịp thời ngăn ngừa bệnh tiến triển và giảm nguy cơ tử vong. Tác giả đã ghi nhận 100% bệnh nhân chuyển từ giai đoạn IIB sang giai đoạn III có thang điểm Cytokine Storm dương tính (11/11 bệnh nhân) trong khi đó 100% bệnh nhân ở giai đoạn IIA có thang điểm Cytokine Storm âm tính (10/10 bệnh nhân) [2]. Trong nghiên cứu của chúng tôi khi sử dụng thang điểm Cytokine Storm với ngưỡng cắt là 3 để đánh giá nguy cơ tử vong đã ghi nhận độ nhạy 54,7% và độ đặc hiệu 94,3%.

Interleukin 6 là một cytokine của dòng thác viêm liên quan đến sự phối hợp, kích hoạt tuần tự các con đường phản ứng miễn dịch. Các nghiên cứu hiện nay nhấn mạnh rằng sự gia tăng IL-6 tương quan với các phản ứng nghiêm trọng với SARS-CoV-2 bao gồm ARDS, nhiễm trùng huyết, thở máy và tử vong [4]. Theo nghiên cứu của Zhou J và cộng sự (2021) cho thấy với ngưỡng cắt 26.09 pg/mL thì IL-6 có độ nhạy 87,5% và độ đặc hiệu 77,6% trong tiên lượng tử vong

[16]. Trong nghiên cứu của chúng tôi thì ngưỡng cắt tối ưu của IL-6 trong tiên lượng tử vong sau 30 ngày của bệnh nhân COVID-19 là 18,3 pg/mL (độ nhạy 83% và độ đặc hiệu 73,6%). Vì IL-6 gia tăng cũng là một dấu hiệu của khởi phát bão cytokine nên chúng tôi kết hợp thang điểm cytokine storm và IL-6 bằng cách bổ sung tiêu chuẩn IL-6 > 18,3 pg/mL (1 điểm) làm gia tăng độ nhạy và độ đặc hiệu trong tiên lượng tử vong (độ nhạy 81,1% và độ đặc hiệu 84,9%).

V. KẾT LUẬN

So với bệnh nhân sống sót, bệnh nhân COVID-19 tử vong trong 30 ngày đầu có nồng độ IL-6, D-Dimer, CRP, Ferritin, LDH, PCT cao hơn có ý nghĩa thống kê. Chúng tôi xác định ngưỡng cắt tối ưu của thang điểm cytokine storm là 3 (độ nhạy 54,7% và độ đặc hiệu 94,3%). Với ngưỡng 18,3 pg/mL, IL-6 cho phép dự báo tử vong sau 30 ngày với độ nhạy 83% và độ đặc hiệu 73,6%. Bổ sung xét nghiệm này trên nền thang điểm cytokine storm cho phép dự báo tử vong sau 30 ngày của bệnh nhân COVID-19 chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Auld, Sara C, et al. (2020), "ICU and ventilator mortality among critically ill adults with COVID-19", MedRxiv.
2. Cappanera, Stefano, et al. (2021), "When does the cytokine storm begin in COVID-19 patients? A quick score to recognize it", Journal of Clinical Medicine. 10(2), p. 297.
3. Clancy, Cornelius J and Nguyen, M Hong (2020), "Coronavirus disease 2019, superinfections, and antimicrobial

- development: what can we expect?", *Clinical Infectious Diseases*. 71(10), pp. 2736-2743.
4. **Coomes, Eric A and Haghbayan, Hourmazzd (2020)**, "Interleukin-6 in COVID-19: a systematic review and meta-analysis", *Reviews in medical virology*. 30(6), pp. 1-9.
 5. **Copaescu, Ana, et al. (2020)**, "The role of IL-6 and other mediators in the cytokine storm associated with SARS-CoV-2 infection", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 146(3), pp. 518-534. e1.
 6. **D'ascanio, Michela, et al. (2021)**, "Age is not the only risk factor in COVID-19: the role of comorbidities and of long staying in residential care homes", *BMC geriatrics*. 21(1), pp. 1-10.
 7. **Ho, Frederick K, et al. (2020)**, "Is older age associated with COVID-19 mortality in the absence of other risk factors? General population cohort study of 470,034 participants", *PLoS One*. 15(11), p. e0241824.
 8. **Kappert, Kai, Jahić, Amir, and Tauber, Rudolf (2020)**, "Assessment of serum ferritin as a biomarker in COVID-19: bystander or participant? Insights by comparison with other infectious and non-infectious diseases", *Biomarkers*. 25(8), pp. 616-625.
 9. **Khinda, Jaskaran, et al. (2021)**, "Association between markers of immune response at hospital admission and COVID-19 disease severity and mortality: A meta-analysis and meta-regression", *Journal of medical virology*. 93(2), pp. 1078-1098.
 10. **Laguna-Goya, Rocio, et al. (2020)**, "IL-6-based mortality risk model for hospitalized patients with COVID-19", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 146(4), pp. 799-807. e9.
 11. **Myers, Laura C, et al. (2020)**, "Characteristics of hospitalized adults with COVID-19 in an integrated health care system in California", *Jama*. 323(21), pp. 2195-2198.
 12. **Oliveira, Eduardo, et al. (2021)**, "ICU outcomes and survival in patients with severe COVID-19 in the largest health care system in central Florida", *Plos one*. 16(3), p. e0249038.
 13. **Pranata, Raymond, et al. (2020)**, "Hypertension is associated with increased mortality and severity of disease in COVID-19 pneumonia: a systematic review, meta-analysis and meta-regression", *Journal of the renin-angiotensin-aldosterone system: JRAAS*. 21(2).
 14. **Vidali, Sofia, et al. (2020)**, "D-dimer as an indicator of prognosis in SARS-CoV-2 infection: a systematic review", *ERJ open research*. 6(2).
 15. **Wu, Zeng-hong, Tang, Yun, and Cheng, Qing (2021)**, "Diabetes increases the mortality of patients with COVID-19: a meta-analysis", *Acta diabetologica*. 58(2), pp. 139-144.
 16. **Zhou, Jiali, et al. (2020)**, "Association of interleukin-6 level with morbidity and mortality in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)", *Jpn J Infect Dis*.

XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN EGFR-T790M GÂY KHÁNG THUỐC ỨC CHẾ TYROSINE KINASE THẾ HỆ THỨ NHẤT Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ BẰNG KỸ THUẬT SCORPIONS ARMS REAL-TIME PCR

Trần Khánh Chi*, Trần Văn Khánh*, Lê Hoàn*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Bước đầu xác định tỷ lệ đột biến EGFR-T790M gây đề kháng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ. **Đối tượng và phương pháp:** 66 bệnh nhân được xác định kháng thuốc EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất theo tiêu chuẩn của Hội ung thư học lâm sàng Hoa Kỳ, được xét nghiệm tìm đột biến EGFR-T790M thứ phát bằng kỹ thuật Scorpion-ARMS real-time PCR với bệnh phẩm mô ung thư tại thời điểm kháng thuốc. **Kết quả:** 36/66 (54,5%) bệnh nhân có xuất hiện đột biến EGFR-T790M thứ phát. **Kết luận:** đột biến EGFR-T790M là căn nguyên phổ biến gây nên tình trạng kháng thuốc EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ.

Từ khóa: Ung thư phổi, Điều trị đích, EGFR, T790M

SUMMARY

**IDENTIFICATION OF EGFR- T790M
MUTATION ASSOCIATED WITH
ACQUIRED RESISTANCE TO FIRST-
GENERATION TYROSINE KINASE
INHIBITORS IN NON-SMALL-CELL**

*Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trần Khánh Chi

Email: tran Khanh Chi@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

LUNG CANCER PATIENTS BY SCORPION-ARMS REAL-TIME PCR

Objective: Determine of the rate of EGFR-T790M mutations causing first generation EGFR-TKIs resistance in non-small cell lung cancer patients. **Materials and methods:** 66 patients identified as resistant to first-generation EGFR-TKIs according to the American Society of Clinical Oncology's criteria, were tested for secondary EGFR-T790M mutations by Scorpion-ARMS real-time PCR technique with cancer tissue specimens at the time of drug resistance. **Results:** 36/66 (54.5%) patients had a secondary EGFR-T790M mutation. **Conclusion:** EGFR-T790M mutation is a common cause of resistance to first-generation EGFR-TKIs in non-small cell lung cancer patients.

Keywords: Lung cancer, Targeted treatment, EGFR, T790M

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư phổi (UTP) hiện là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu do ung thư trên toàn thế giới [1]. Điều trị đích bằng thuốc ức chế tyrosine kinase (Tyrosine kinase inhibitors-TKIs) của EGFR đã được chứng minh là lựa chọn hiệu quả cho bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ có đột biến gen EGFR [2]. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trên thế giới ghi nhận sau khoảng 10- 16 tháng điều trị với các thuốc EGFR-TKIs, ở hầu hết các bệnh nhân (BN) xuất hiện tình trạng không đáp ứng với thuốc đang điều trị, tổn thương ung

thư tiến triển [3]. Nhiều nguyên nhân gây kháng thuốc đã được xác định như xuất hiện đột biến mới tại chính phân tử EGFR; khuếch đại hoặc tăng cường biểu hiện của một gen khác; hoặc do sự chuyển dạng của tế bào ung thư, trong đó đột biến EGFR-T790M được xác định là nguyên nhân phổ biến nhất [4]. Cho đến nay, nhiều phương pháp sinh học phân tử khác nhau có thể phát hiện đột biến EGFR-T790M thứ phát. Tuy nhiên, kỹ thuật Scorpion-ARMS real-time PCR được xem là phương pháp thường quy để phát hiện đột biến này. Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu xác định đột biến EGFR-T790M gây đề kháng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ bằng kỹ thuật Scorpion-ARMS real-time PCR.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Chọn mẫu thuận tiện, lựa chọn được 66 bệnh nhân UTP tại 3 bệnh viện (Bệnh viện Bạch Mai, Bệnh viện K Trung ương và Bệnh viện Trung ương Quân đội 108) đảm bảo các tiêu chuẩn sau đây:

1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn:

Đáp ứng được các tiêu chuẩn của Hội ung thư học lâm sàng Hoa Kỳ đưa ra để đánh giá tình trạng kháng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất cho ung thư phổi không tế bào nhỏ [5]:

- Được chẩn đoán xác định là UTP không tế bào nhỏ bằng kết quả mô bệnh học.
- Được xác định có đột biến gen EGFR nhạy cảm EGFR-TKIs.
- Được điều trị bằng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất (erlotinib hoặc gefitinib).
- Được đánh giá có đáp ứng hoặc ổn định trong vòng ít nhất 6 tháng.

- Tổn thương tiến triển hoặc xuất hiện các tổn thương mới mặc dù vẫn đang điều trị với erlotinib hoặc gefitinib.

- Không có điều trị toàn thân gì trong khoảng thời gian giữa kết thúc điều trị erlotinib hoặc gefitinib với bắt đầu một điều trị mới.

1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân UTP đang điều trị thuốc EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất nhưng không được xác định có đột biến gen EGFR nhạy cảm TKIs.

- Bệnh nhân không được đánh giá là ổn định bệnh hoặc đáp ứng điều trị sau 6 tháng điều trị EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất.

- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu

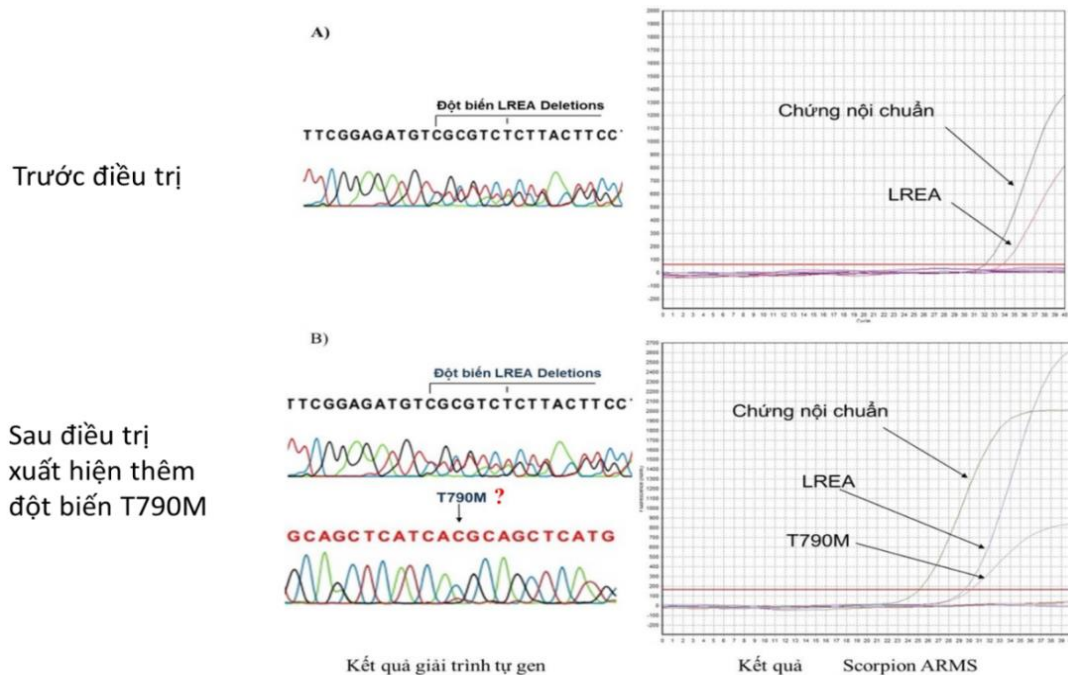
2. Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang chùm ca bệnh

3. Các bước tiến hành:

- Các bệnh nhân nghi ngờ kháng thuốc được lấy bệnh phẩm ung thư (tái sinh thiết) bằng một trong những phương pháp sau: sinh thiết u nguyên phát, sinh thiết các tổn thương thứ phát (phổi, gan, xương), sinh thiết hạch ngoại vi, hút dịch nghi ngờ do di căn (màng phổi, màng tim).

- Phân tích mô bệnh học hoặc khối tế bào tại các khoa Giải phẫu bệnh, thuộc 3 bệnh viện tham gia nghiên cứu. Khẳng định tổn thương ung thư trong mẫu bệnh phẩm tái sinh thiết.

- Xác định đột biến EGFR-T790M bằng kỹ thuật Scorpions ARMS real-time PCR sử dụng bộ Kit cobas® EGFR Mutation test của Roche tại Trung tâm Nghiên cứu Gen & Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.



Hình 1: Phân tích đột biến EGFR bằng kỹ thuật Scorpions ARMS real-time PCR trước và sau điều trị EGFR-TKIs

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Phân tích kết quả từ 66 bệnh nhân đảm bảo tiêu chuẩn kháng thuốc EGFR- TKIs thế hệ thứ nhất, chúng tôi thu được kết quả như sau:

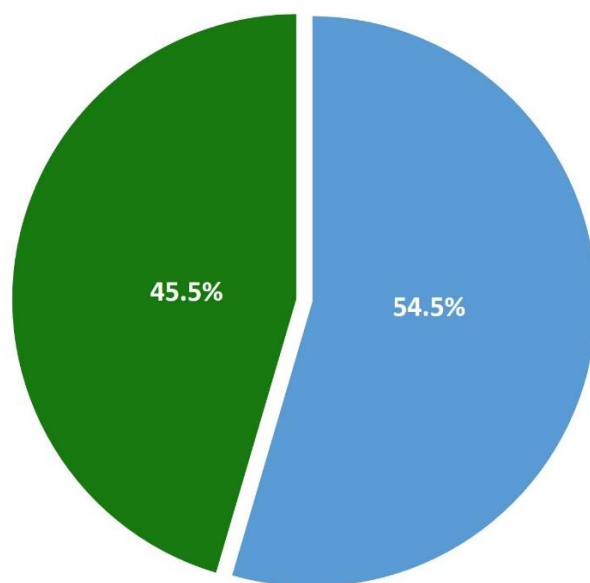
3.1 Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 1: Một số đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm		Số lượng	Tỷ lệ %
Tuổi trung bình: $60,6 \pm 10,7$ tuổi (dao động từ 26-80 tuổi)			
Giới tính	Nam	34	51,5
	Nữ	32	48,5
Loại đột biến EGFR trước điều trị	LREA (exon 19)	36	54,5
	L858R (exon 21)	29	44
	G719S (exon 18)	1	1,5
Thời gian trung bình xuất hiện kháng thuốc: $14,48 \pm 3,9$ (dao động 8- 26 tháng)			

Nhận xét: các đặc điểm chung phù hợp với những ghi nhận hiện nay về ung thư phổi có đột biến EGFR. Thời gian xuất hiện kháng thuốc EGFR-TKIs dao động từ 8-26 tháng, trung bình là $14,48 \pm 3,9$ tháng

3.2 Kết quả phân tích đột biến EGFR-T790M bằng kỹ thuật Scorpions ARMS real-time PCR



■ EGFR-T790M mutation ■ Non EGFR-T790M mutation

Biểu đồ 1: Kết quả xác định đột biến EGFR-T790M

Nhận xét: có 36/66 bệnh nhân (54,5%) xuất hiện đột biến EGFR-T790M thứ phát gây kháng lại các EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu trên 66 BN UTP mang đột biến EGFR, chúng tôi ghi nhận tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $60,6 \pm 10,7$ tuổi, BN trẻ tuổi nhất là 26 tuổi, lớn tuổi nhất là 80 tuổi. Kết quả này tương tự với ghi nhận của Nguyễn Thanh Hoa và cộng sự nghiên cứu trên 100 BN UTP có đột biến EGFR tại BV K Trung ương năm 2019, tuổi trung bình mắc bệnh là $56,27 \pm 7,9$ tuổi, dao động từ 39 đến 80 tuổi [6].

Về đặc điểm giới tính, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có 34 BN nam (51,5%) và 32 BN nữ (48,5%), tỷ lệ UTP có đột biến EGFR ở nam giới gần tương tự nữ giới. Một nghiên cứu gần đây tại Việt Nam ghi nhận một tỷ lệ nam giới cao hơn nữ giới, Nguyễn Thanh Hoa và cộng sự tại Bệnh viện K Trung ương (2019) ghi nhận nam giới chiếm tỷ lệ 60% [6]. Tuy nhiên, các nghiên cứu trên

thế giới với cỡ mẫu lớn hơn lại ghi nhận nữ giới phổ biến hơn ở nhóm UTP có đột biến EGFR. Wang JF và cộng sự tiến hành một phân tích cộng gộp với 478 BN UTP có đột biến gen EGFR từ 10 nghiên cứu trước đó, kết quả cho thấy nữ giới chiếm 64,9% [7].

Về đặc điểm đột biến EGFR nhạy cảm TKIs của nhóm nghiên cứu, chúng tôi ghi nhận có 54,5% BN mang đột biến LREA tại exon 19; 44% BN có đột biến L858R tại exon 21; và 1 trường hợp mang đột biến G719S tại exon 18. Kết quả này cũng phù hợp với ghi nhận hiện nay về đột biến EGFR nhạy cảm TKIs, 2 đột biến phổ biến nhất là LREA và L858R. Kim HR và cộng sự nghiên cứu trên 110 BN UTP mang đột biến EGFR tại Hàn Quốc ghi nhận 62,7% có đột biến LREA; 33,6% có đột biến L858R và chỉ có 3,7% gặp những đột biến nhạy cảm khác của EGFR [8].

Nghiên cứu về thời gian xuất hiện kháng thuốc, chúng tôi ghi nhận thời gian trung bình từ thời điểm bắt đầu điều trị EGFR-TKI đến khi bệnh tiến triển là $14,48 \pm 3,9$ tháng; thời gian xuất hiện tiến triển sớm nhất là 8 tháng, muộn nhất là 26 tháng. Kết quả này cũng phù hợp với ghi nhận từ các nghiên cứu trên thế giới gần đây, thời gian trung bình từ khi bắt đầu điều trị đến khi xuất hiện tình trạng kháng lại các EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất khoảng 10-16 tháng [3,9].

Hiện nay, có nhiều phương pháp sinh học phân tử khác nhau để phát hiện các đột biến của gen EGFR, trong đó 2 phương pháp phổ biến nhất được FDA chấp thuận là Scorpions ARMS real-time PCR và giải trình tự gen thế hệ mới. Với ưu điểm về kỹ thuật đơn giản, hệ thống thiết bị sẵn có, thời gian cho kết quả nhanh, Scorpions ARMS real-time PCR được chấp thuận là phương pháp thường quy để phát hiện đột biến EGFR trên thực hành lâm sàng.

Bằng việc sử dụng bộ Kit cobas® EGFR Mutation test của Roche, chúng tôi phát hiện có 36/66 bệnh nhân kháng thuốc EGFR-TKIs xuất hiện đột biến thứ phát EGFR-T790M, chiếm 54,5%. Theo những báo cáo gần đây, đột biến EGFR-T790M ghi nhận ở khoảng 40-55% bệnh nhân UTP kháng lại các EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất [4]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng thấy rằng, đột biến thứ phát EGFR-T790M là cơ chế phổ biến nhất gây nên đề kháng lại các EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất.

V. KẾT LUẬN

Sử dụng kỹ thuật Scorpion-ARMS real-time PCR với bộ Kit cobas® EGFR Mutation test của Roche, chúng tôi phát hiện 54,5% mẫu mô sinh thiết tại thời điểm kháng

thuốc xuất hiện đột biến thứ phát EGFR-T790M. Đây là nguyên nhân phổ biến nhất gây kháng lại các EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất ở bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bray F, Ferlay J, Soerjomataram I, et al (2018). Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA Cancer J Clin*; 68(6):394-424.
2. Lee CK, Brown C, Gralla RJ, et al (2013). Impact of EGFR inhibitor in non-small cell lung cancer on progression-free and overall survival: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst*; 105: 595-605.
3. Oxnard GR, Arcila ME, Sima CS, et al (2011). Acquired Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors in EGFR-Mutant Lung Cancer: Distinct Natural History of Patients with Tumors Harboring the T790M Mutation. *Clin Cancer Res*; 17(6):1616-1622.
4. Westover D, Zugazagoitia J, Cho BC (2018). Mechanisms of acquired resistance to first and second-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Annals of Oncology*; 29 (Supplement 1):i10-i19.
5. Jackman D, Pao W, Riely GJ, et al (2010). Clinical definition of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*; 28 (2):357-60.
6. Nguyễn Thanh Hoa, Đỗ Hùng Kiên (2019). Đánh giá kết quả điều trị bước một của thuốc Erlotinib trên bệnh nhân ung thư phổi tại Bệnh viện K. *Y học thực hành*; 1106 (8):10-12.
7. Wang ZF, Ren SX, Li W, et al (2018). Frequency of the acquired resistant mutation T790 M in non-small cell lung cancer patients with active exon 19Del and exon 21 L858R: a

- systematic review and meta-analysis. BMC Cancer; 18(1): 148.
8. Kim HR, Shim HS, Chung JH, et al (2012). Distinct clinical features and outcomes in never-smokers with non-small cell lung cancer who harbor EGFR or KRAS mutations or ALK rearrangement. Cancer; 118 (3):729-39.
9. Kim C, Liu SV (2019). First-line EGFR TKI therapy in non-small-cell lung cancer: looking back before leaping forward. Ann Oncol; 30(12):1852-1855.

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH PHÁT HIỆN BẤT THƯỜNG NHIỄM SẮC THỂ BẰNG KỸ THUẬT ARRAY-CGH TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN HÀ NỘI

Hoàng Hải Yến¹, Lê Anh Đào^{1,2}, Nguyễn Duy Ánh^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá kết quả chẩn đoán trước sinh phát hiện bất thường nhiễm sắc thể bằng kỹ thuật array-CGH tại Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội. **Đối tượng và phương pháp:** 306 mẫu dịch ối của các thai phụ có tuổi thai từ trên 16 tuần thai thuộc nhóm nguy cơ cao lệch bội nhiễm sắc thể và siêu âm bất thường hình thái thai. DNA mẫu và DNA chứng được nhuộm màu huỳnh quang, lai với các đoạn dò tương ứng trên array và sử dụng phần mềm chuyên dụng để tính tỷ số giữa các màu huỳnh quang tại mỗi vị trí trên array để xác định các trường hợp mất đoạn hoặc nhân đoạn trên toàn bộ bộ NST, so sánh với kết quả karyotype truyền thống để đánh giá hiệu quả của xét nghiệm array-CGH. **Kết quả:** Kỹ thuật array-CGH giúp phát hiện thêm 5,6% các bất thường mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST, cao hơn 1,5 lần so

với kỹ thuật karyotype truyền thống. **Kết luận:** Kỹ thuật array-CGH giúp tăng tỷ lệ phát hiện bất thường mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST trong chẩn đoán trước sinh.

Từ khóa: array-CGH, bất thường nhiễm sắc thể, CNVs, chẩn đoán trước sinh

SUMMARY

EVALUATE THE RESULT OF PRENATAL DIAGNOSTIC DETECT CHROMOSOMAL ABNORMALITIES USING ARRAY-CGH TECHNIQUE AT HANOI OBSTETRICS AND GYNECOLOGY HOSPITAL

Objectives: Evaluate the result of prenatal diagnosis to detect chromosomal abnormalities using array-CGH (comparative genomic hybridization microarray) at Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital. **Materials and methods:** 306 amniotic fluid samples of gestation pregnancies at ≥ 16 weeks of gestation with high risk for fetal aneuploidy and structural anomalies on ultrasonography. The patient's DNA is fragmented into many small regions and stained with fluorescence, reference DNA is

¹Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội

²Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Hải Yến

Email: trangnhi0109@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 30.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

stained with a different fluorescent color. The patient's DNA and reference DNA are stained with two fluorescent colors and then hybridized with the corresponding probes on the array. After that, specialized software is used to calculate the ratio between the fluorescent colors at each position on the array to identify deletions or duplications on the chromosomes, compare results with the traditional karyotype technique.

Results: Using the array-CGH technique, it detected 5,6% more chromosomal submicroscopic abnormalities, 1,5 times higher than that of the traditional karyotype technique.

Conclusion: The array-CGH technique helps to increase the detection rate of chromosomal submicroscopic abnormalities in prenatal diagnosis.

Keywords: array-CGH, chromosomal abnormalities, CNVs, prenatal diagnosis

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bất thường bẩm sinh là một trong các nguyên nhân hàng đầu gây chết chu sinh và gây ra nhiều gánh nặng về kinh tế, tâm lý cho gia đình cũng như toàn xã hội [1]. Bất thường bẩm sinh gây ra do rất nhiều nguyên nhân, trong đó hay gặp và gây hậu quả nặng nề nhất là nguyên nhân do bất thường nhiễm sắc thể (NST) [2]. Cho đến nay, vẫn chưa có biện pháp nào điều trị triệt để các bất thường bẩm sinh. Chẩn đoán sớm bất thường NST là việc làm hết sức cần thiết nhằm đưa ra các biện pháp can thiệp kịp thời giảm tỷ lệ sinh con bất thường bẩm sinh.

Để chẩn đoán trước sinh bất thường NST, các thai phụ có nguy cơ cao sẽ được tư vấn các thủ thuật xâm lấn như sinh thiết gai rau hoặc hút dịch ối để khảo sát số lượng và cấu trúc NST. Hiện tại, kỹ thuật karyotype đang được sử dụng trong chẩn đoán trước sinh phát hiện lệch bội, khảm, bất thường cấu trúc

như chuyển đoạn/đảo đoạn không cân bằng, mất đoạn/nhân đoạn NST ($> 5-10\text{Mb}$). Tuy nhiên, hạn chế của kỹ thuật là độ phân giải thấp, phải nuôi cấy tế bào, thời gian trả kết quả kéo dài. Kỹ thuật FISH không cần nuôi cấy tế bào, có kết quả trong thời gian ngắn, tuy nhiên FISH chỉ có thể phát hiện các trường hợp lệch bội NST phổ biến do đó trong một số trường hợp ngoài FISH vẫn cần phối hợp việc phân tích karyotype. Kỹ thuật lai so sánh bộ gen array-CGH (comparative genomic hybridization microarray) cho phép đánh giá lệch bội NST cũng như tình trạng mất cân bằng dưới mức phát hiện của kính hiển vi (submicroscopic) trên toàn bộ bộ gen với thời gian trả kết quả ngắn và độ phân giải cao được coi là một công cụ chẩn đoán hiệu quả để đánh giá các biến thể số lượng bản sao (CNVs: copy number variants) hay nhân đoạn/mất đoạn nhỏ NST với siêu âm bất thường hình thái thai [3]. CNVs xảy ra khi có một đoạn DNA bị mất đi hoặc nhân lên một hoặc nhiều lần. CNVs là một dạng biến thể phổ biến của NST trong quần thể và thường vô hại [4], tuy nhiên trong một số trường hợp CNVs có thể ảnh hưởng đến sự phát triển và sức khỏe của cá thể. Array-CGH có thể phát hiện tới 6,0% CNVs trên thai phụ có siêu âm hình thái bất thường thai và kết quả karyotype bình thường [5].

Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: “Đánh giá kết quả chẩn đoán trước sinh phát hiện bất thường nhiễm sắc thể bằng kỹ thuật array-CGH tại Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng

- Mẫu nghiên cứu: 303 thai phụ được chỉ định xét nghiệm array-CGH

- Tiêu chuẩn lựa chọn: Thai phụ mang thai có tuổi thai từ 16 tuần, có ít nhất một trong những tiêu chuẩn sau được chọn làm đối tượng nghiên cứu: tuổi thai phụ ≥ 35 tuổi khi sinh; Kết quả sàng lọc sàng lọc trước sinh (Combined test, Triple test, NIPS) có nguy cơ cao lệch bội NST; Siêu âm bất thường hình thái thai; Tiền sử mang thai trước có lệch bội NST; Tiền sử gia đình có người lệch bội NST; Thai phụ đồng ý tham gia nghiên cứu.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Thai phụ mang thai dưới 16 tuần, thai phụ không có các yếu tố nguy cơ bất thường NST, kết quả siêu âm không có bất thường hình thái; Thai phụ không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 10/2020 đến tháng 09/2021.

- Địa điểm tiến hành: Trung tâm Sàng lọc, chẩn đoán trước sinh và sơ sinh, Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội.

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.3. Các quy trình tiến hành trong nghiên cứu

- Quy trình: 10mL dịch ối của thai phụ, tách DNA (trong vòng 24h sau lấy mẫu) sử dụng QIAam DNA mini kit. Định lượng và kiểm tra chất lượng DNA bằng máy quang phổ NanoDrop, nếu nồng độ DNA trong khoảng 200-500ng, tiến hành xét nghiệm trực tiếp; nếu mẫu < 200 ng hoặc mẫu dịch ối lẫn máu, tiến hành nuôi cấy tế bào ối để loại bỏ tế bào mẹ và gia tăng nồng độ DNA. Cắt DNA thành nhiều đoạn ngắn, đánh dấu DNA mẫu và DNA chứng bằng các màu huỳnh quang, lai DNA trên array, quét array trên máy Surescan.

- Phân tích kết quả: Sử dụng phần mềm CytoGenomics để tính tỷ số giữa các màu huỳnh quang tại mỗi vị trí ứng với một đoạn dò đặc hiệu trên array.

- Karyotype: sử dụng 10mL nuôi cấy tế bào ối, lập karyotype nhằm phân tích bộ NST thai được thực hiện theo chuẩn băng G như là một tiêu chuẩn vàng để so sánh với kỹ thuật array-CGH.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Giá trị
Tuổi mẹ	
Tuổi mẹ trung bình (năm)	28,2 $\pm$ 5,72 (17-41)
<35 tuổi (n, %)	249 (82,2%)
≥ 35 tuổi (n, %)	54 (17,8%)
Tuổi thai	
Tuổi thai trung bình (tuần)	21,3 $\pm$ 3,6 (16-29)
< 20 tuần (n, %)	175 (57,8%)
≥ 20 tuần (n, %)	128 (42,2%)

Nhận xét: Nghiên cứu trên 303 thai phụ có tuổi từ 17-41 tuổi, trung bình là 28,2 tuổi, trong đó nhóm < 35 tuổi chiếm tỷ lệ cao là 82,2%. Tuổi thai từ 16-29 tuần, trung bình là 21,3 tuần, nhóm tuổi thai < 20 tuần chiếm tỷ lệ cao là 57,8%.

3.2. Chỉ định xét nghiệm dịch ối**Bảng 3.2. Chỉ định xét nghiệm dịch ối**

Chỉ định XN dịch ối	n	%
Siêu âm bất thường hình thái	246	81,2%
Sàng lọc huyết thanh mẹ nguy cơ cao	18	5,9%
Sàng lọc NIPS nguy cơ cao	21	6,9%
Tiền sử sinh con/mang thai dị tật	8	2,6%
Thai phụ hoặc chồng có bất thường NST	2	0,7%
Bất thường siêu âm + sàng lọc trước sinh nguy cơ cao	1	0,3%
Bất thường siêu âm + NIPS nguy cơ cao	5	1,7%
Bất thường siêu âm+ tiền sử sinh con dị tật	2	0,7%
Tổng	303	100,0%

Nhận xét: Chỉ định lấy mẫu dịch ối làm xét nghiệm array-CGH do siêu âm bất thường hình thái chiếm tỉ lệ cao với 81,2% (246/303), 2,7% siêu âm bất thường phối hợp với các nguyên nhân khác).

3.3. Tỷ lệ bất thường NST phát hiện bằng xét nghiệm array-CGH**Bảng 3.3. Tỷ lệ bất thường NST trong xét nghiệm array-CGH**

Kết quả array-CGH	Số lượng	
	n	%
Bình thường	252	83,2%
Bất thường	51	16,8%
Tổng	303	100,0%

Nhận xét: Nghiên cứu phát hiện 51/303 thai phụ có kết quả bất thường NST chiếm tỷ lệ 16,8%.

Bảng 3.4. Phân loại các bất thường nhiễm sắc thể phát hiện bằng array-CGH

Kết quả array		Số lượng		
		n	%	Tổng (n, %)
Lệch bội NST	47,XY/XX,+21	18	35,3	25 (49,0%)
	47,XY/XX,+18	4	7,8	
	47,XXY	2	3,9	
	47,XXX	1	2,0	
Mất đoạn, nhân đoạn lớn ($\geq 5\text{Mb}$)	Tái sắp xếp NST không cân bằng	3	5,9	9 (17,7%)
	Đột biến mới	6	11,8	
Mất đoạn, nhân đoạn nhỏ ($< 5\text{Mb}$)		16	31,4	16 (31,4%)
Bất thường dạng khảm		1	2,0	01 (2,0%)
Tổng		51	100	51 (100,0%)

Nhận xét: Phát hiện 25/51 bất thường số lượng NST chiếm tỷ lệ cao nhất là 49,0%, tiếp theo là đột biến cấu trúc NST dạng mất đoạn/nhân đoạn nhỏ (< 5Mb) chiếm tỷ lệ 31,4%.

3.4. Tỷ lệ bất thường NST phát hiện bằng array-CGH so với karyotype

Bảng 3.5. Tỷ lệ bất thường NST phát hiện bằng array-CGH so với karyotype

Bất thường NST	Array CGH		Karyotype	
	n	%	n	%
Bất thường	51	16,8	34	11,2
Lệch bội	25		25	
Mất đoạn/nhân đoạn lớn ($\geq 5\text{Mb}$)	9		8	
Mất đoạn/nhân đoạn nhỏ (< 5Mb)	16		0	
Khảm	1		1	
Bình thường	252	83,2	269	88,8
Tổng	303	100	303	100

Nhận xét: 16,8% (51/303) trường hợp bất thường NST phát hiện bằng array-CGH trong khi karyotype chỉ phát hiện được 11,2% (34/303) trường hợp. 17 (5,6%) trường hợp không phát hiện được bằng karyotype, trong đó có 01 trường hợp mất đoạn/nhân đoạn lớn và 16 trường hợp mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST.

3.5. Các trường hợp kết quả array-CGH không phù hợp với karyotype

Bảng 3.6. Các trường hợp kết quả Array-CGH không phù hợp với karyotype

Stt	Array-CGH	n	Karyotype
1	arr[GRCh37] 22q11.21(19022279-21098156)x1 (Mất đoạn 2,8 Mb NST 22 gây HC DiGeorge)	3	46 NST
2	arr[GRCh37] 15q11.2(22765628_23217514)x1 (HC mất đoạn 450Kb NST 15)	2	46 NST
3	arr[GRCh37] 16p13.11(14910205_16586915)x3 18q23(76577645_77966288)x1 (HC nhân đoạn 1,35Mbp NST 16; mất đoạn 1,4Mb NST 18)	1	46 NST
4	arr[GRCh37] 1q21.1q21.2(146507518_147824207)x1 (HC mất đoạn 1.35 Mb NST 1)	1	46 NST
5	arr[GRCh37] 2q13(111128788_113065779)x1 (HC mất đoạn 1.9Mb NST 2)	1	46 NST
6	arr[GRCh37] 22q11.1q11.21(17397498_20311763)x1 (Mất đoạn 2,9Mb NST 22)	1	46 NST
7	arr[GRCh37] 4q13.3q21.1(73469538_77963570)x1 (Mất đoạn 4,5Mb NST 4)	1	46 NST
8	arr[GRCh37] 18p11.32p11.31(148963_3621272)x1 (Mất đoạn 3,4Mb NST 18)	1	46 NST
9	arr[GRCh37] 9q34.11q34.13(130859361_134154833)x1 (Mất đoạn 3,3Mb NST 9)	1	46 NST

10	arr[GRCh37] 10q22.1(71433716_72709027)x1 (Mất đoạn 1,2Mb NST 10)	1	46 NST
11	arr[GRCh37] 14q24.2(70939050_72192181)x3 (Nhân đoạn 1,2Mb NST 14)	1	46 NST
12	arr[GRCh37] 15q26.3(99194437_100300178)x1 (Mất đoạn 1,1Mb NST 15)	1	46 NST
13	arr[GRCh37] 19p13.3(1076339_1874196)x1 (Mất đoạn 797Kb NST 19)	1	46 NST
14	arr[GRCh37] 3q21.3q22.2(128836524_134543319)x1 (Mất đoạn 5,7Mb NST 3)	1	46 NST

IV. BÀN LUẬN

Kỹ thuật array-CGH đánh giá bất thường NST trên toàn bộ NST với độ phân giải cao hơn nhiều so với kỹ thuật karyotype. Độ phân giải của kỹ thuật array-CGH trong nghiên cứu là 50Kb với 60.000 probe, phân bố trên toàn bộ 24 NST nhưng tập trung hơn vào các vùng có ý nghĩa lâm sàng. Nếu xét độ phân giải bằng NST của kỹ thuật karyotype đạt mức 500 băng tương đương với mức phân giải 5Mb thì có thể thấy mức độ phân giải của array-CGH cao hơn gấp 100 lần so với kỹ thuật karyotype truyền thống. Kỹ thuật array-CGH thực hiện việc so sánh DNA mẫu với DNA chứng thông qua sự khác biệt giữa 2 DNA này để phát hiện các trường hợp mất đoạn hay nhân đoạn nếu có trên DNA của bộ gen.

Nghiên cứu trên 303 thai phụ có nguy cơ cao lệch bội NST và siêu âm bất thường hình thái thai. Kết quả nhận thấy tuổi thai phụ < 35 tuổi chiếm tỷ lệ cao là 82,2%. Một số nghiên cứu đã chỉ ra tuổi thai phụ càng cao, khả năng điều chỉnh các quá trình sinh học trong quá trình sinh trứng có thể gặp sai sót, dẫn tới rối loạn phân ly NST trong giảm phân II, kết quả sẽ tạo ra giao tử lệch bội. Tuy nhiên, các hội chứng mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST thường không phụ thuộc vào

độ tuổi khi mang thai của thai phụ. Nghiên cứu của Grati trên 5 hội chứng mất đoạn nhỏ NST như DiGeorge, Cri du chat, Prader Willi, Angelman cho thấy tỷ lệ sinh con bất thường NST không có sự khác biệt ở các nhóm tuổi thai phụ [6].

Đối tượng thai phụ được lựa chọn vào nghiên cứu hoàn toàn phù hợp với nghiên cứu của Linda và cộng sự [7], trong đó nhóm thai phụ siêu âm hình thái bất thường chiếm tỷ lệ cao là 83,7%. Theo khuyến cáo của các tổ chức, hiệp hội di truyền học Hoa Kỳ ACMG, kỹ thuật Array-CGH là lựa chọn đầu tay khi chẩn đoán trước sinh trong các trường hợp thai nhi có bất thường hình thái phát hiện trên siêu âm, tiền sử sinh con bất thường NST, thai phụ và chồng mang đột biến NST ở dạng cân bằng như chuyển đoạn, đảo đoạn [8].

Kỹ thuật array-CGH phát hiện 51 trường hợp bất thường NST chiếm tỷ lệ 16,8%, cao hơn 5,6% so với kỹ thuật karyotype. Kết quả nghiên cứu phù hợp với phân tích tổng hợp của Callaway và CS (2013) cho thấy array-CGH đã phát hiện các bất thường mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST ở 5,2–10,0% thai nhi có kết quả siêu âm thai bất thường và karyotyp bình thường [9]

Nghiên cứu phát hiện lệch bội NST là 25 trường hợp chiếm tỷ lệ cao 49,0%, trong đó hội chứng Down chiếm tỷ lệ cao nhất 35,3%, kết quả tương tự với kỹ thuật karyotype. 09 trường hợp phát hiện đột biến cấu trúc mất đoạn/nhân đoạn lớn NST, trong đó 08 trường hợp có kết quả tương tự với kỹ thuật karyotype, chỉ có 01 trường hợp mất đoạn 5,7Mb trên NST số 3 bằng kỹ thuật array-CGH nhưng không phát hiện được bằng karyotype dù độ phân giải bằng ở mức 500 kb. Nhiều trường hợp tái sắp xếp NST rất khó phát hiện hoặc không thể phát hiện được bằng kỹ thuật karyotype do cường độ thuốc nhuộm không đủ hoặc tại các vùng mẫu băng phân định không rõ, trên những NST có kích thước lớn [10]. Như vậy, có thể nhận thấy độ phân giải bằng ngưỡng 5Mb chỉ mang tính chất tương đối.

Giá trị của kỹ thuật array-CGH phát hiện các CNVs gây bệnh có liên quan chặt chẽ đến chỉ định xét nghiệm hút dịch ối. Với các chỉ định hút dịch ối như xét nghiệm sàng lọc trước sinh nguy cơ cao, tiền sử mang thai sinh con dị tật, thai phụ và chồng thai phụ là người có bất thường NST thì kỹ thuật array-CGH không phát hiện được thêm bất thường nào so với karyotype. Các nghiên cứu trên cỡ mẫu lớn hơn cũng cho thấy phát hiện các CNVs bệnh lý ở nhóm này rất thấp. Phân tích tổng hợp của Srebniak và CS (2018) trên 10.614 trường hợp cho thấy kỹ thuật array-CGH chỉ phát hiện thêm 0,89% các CNVs gây bệnh trên nhóm thai phụ có chỉ định hút dịch ối không liên quan đến siêu âm bất thường hình thái thai [11].

Kỹ thuật array-CGH đã phát hiện thêm 16 trường hợp mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST trên thai phụ có kết quả siêu âm bất thường hình thái mà kết quả karyotype bình thường

(46 NST), trong đó 08 trường hợp được quy vào các hội chứng như hội chứng Digeorge, nhân đoạn nhỏ 16p13.11, mất đoạn nhỏ 15q11.2, mất đoạn nhỏ 1q21.1, mất đoạn nhỏ đồng hợp 2q13. Các hội chứng trên có tần số gặp tương đối phổ biến. Tuy nhiên, đột biến có thể xảy ra 1 cách ngẫu nhiên trên tất cả các đoạn khác nhau của NST, mặc dù không thường xuyên gặp. Do đó, nếu chỉ tập trung vào các hội chứng mất đoạn/nhân đoạn nhỏ phổ biến, việc bỏ sót các mất đoạn/nhân đoạn nhỏ ít gặp là rất cao. Kết quả nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của Srebniak trên 1.000 thai có kết quả siêu âm bất thường hình thái, phát hiện CNVs gây bệnh trong 5,5% trường hợp [12].

Một số hạn chế của kỹ thuật array-CGH so với karyotype là không phát hiện được thể đa bội, chuyển đoạn cân bằng và tỷ lệ khảm thấp [13]. Giới hạn của nghiên cứu có thể là do cỡ mẫu nhỏ nên chưa gặp được các trường hợp trên. Do đó, nghiên cứu không có trường hợp nào mà kỹ thuật karyotype phát hiện được bất thường mà kỹ thuật array-CGH không phát hiện được.

Như vậy có thể thấy kỹ thuật array-CGH không chỉ cho phép phát hiện các trường hợp bất thường không cân bằng NST như kỹ thuật karyotype mà còn cho phép phát hiện các trường hợp bất thường không cân bằng của NST ở dưới mức kính hiển vi mà kỹ thuật karyotype không thể phát hiện được.

V. KẾT LUẬN

Kỹ thuật array-CGH giúp phát hiện thêm 5,6% các bất thường mất đoạn/nhân đoạn nhỏ NST, tỷ lệ phát hiện bất thường NST gấp 1,5 lần so với xét nghiệm karyotype, đặc biệt trên nhóm thai phụ có kết quả siêu âm bất thường hình thái thai nhi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **World Health Organization (2016).** Congenital anomalies.
2. **Zhang Y-X, Zhang Y-P, Gu Y et al (2009).** Genetic analysis of first-trimester miscarriages with a combination of cytogenetic karyotyping, microsatellite genotyping and array CGH. *Clin Genet.*, 75, 133-140.
3. **Dugoff, L., Norton, M. E., and Kuller, J. A. (2016).** The use of chromosomal microarray for prenatal diagnosis. *Am J. Obstet. Gynecol.*, 215, B2-B9.
4. **Conrad D. F. et al. (2010).** Origins and functional impact of copy number variation in the human genome. *Nature* 464, 704-712
5. **Wapner RJ, Martin CL, Levy B, et al. (2012).** Chromosomal microarray versus karyotyping for prenatal diagnosis. *The New England journal of medicine*, 367(23), 2175–84.
6. **Grati FR, Denise Molina et al (2015).** Prevalence of recurrent pathogenic microdeletions and microduplications in over 9,500 pregnancies. *Prenatal Diagnosis*, 35(8), 801-9.
7. **Linda K., Diana W.B., Lisa G.S et al (2009).** Use of array comparative genomic hybridization for prenatal diagnosis of fetuses with sonographic anomalies and normal metaphase karyotype. *Prenatal Diagnosis*, 29(13), 1213-1217.
8. **Melanie M., Louanne H et al (2010).** Array-based technology and recommendations for utilization in 19 medical genetics practice for detection of chromosomal abnormalities. *ACMG practice guidelines (2010). Genetics IN Medicine*, 12(11), 742-745.
9. **Callaway, J. L., Shaffer, L. G. et al. (2013).** The clinical utility of microarray technologies applied to prenatal cytogenetics in the presence of a normal conventional karyotype: a review of the literature. *Prenat. Diagn.* 33, 1119-1123.
10. **Lisa G Shaffer, Bassem A Bejjani. (2004).** A cytogeneticist's perspective on genomic microarrays. *Hum Reprod Update*, 10(3), 221-6.
11. **M I Srebniak et al (2018).** Frequency of submicroscopic chromosome aberrations in pregnancies without increased risk for structural chromosome aberrations: a systematic review of literature and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*, 51(4), 445-452.
12. **Malgorzata I Srebniak et al (2016).** Prenatal SNP array testing in 1000 fetuses with ultrasound anomalies: causative, unexpected and susceptibility CNVs. *Eur J Hum Genet*, 24(5), 645-651.
13. **F Vialard et al (2008).** Array comparative genomic hybridization in prenatal diagnosis: another experience. *Fetal Diagn Ther*, 25(2):277-84

NGHIÊN CỨU ĐA HÌNH ĐƠN GEN OPRM1 VÀ ABCB1 Ở BỆNH NHÂN NGHIỆN CHẤT DẠNG THUỐC PHIỆN ĐIỀU TRỊ METHADONE THAY THẾ

Nguyễn Quỳnh Giao¹, Trần Văn Chiêu¹, Trần Khánh Chi¹,
Vũ Văn Quý¹, Trịnh Thị Phương Dung¹,
Lê Hoàng Nam¹, Đặng Thị Ngọc Dung¹

TÓM TẮT

Trong nghiên cứu dược lý di truyền học, biểu hiện của các đa hình đơn (Single nucleotide polymorphism – SNP) khác nhau có thể làm thay đổi đáp ứng với thuốc. **Mục tiêu nghiên cứu:** Xác định đa hình nucleotid đơn rs1799971 gen OPRM1 và rs1045642 gen ABCB1 ở bệnh nhân điều trị methadone thay thế và đánh giá mối liên quan với liều điều trị. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, 302 bệnh nhân được chẩn đoán lệ thuộc và các chất dạng thuốc phiện theo QĐ 3140/QĐ-BYT năm 2010 và nghị định 90/2016/NĐ-CP năm 2016 đang được điều trị methadone. **Kết quả:** Biến thể rs1799971 mang alen G có liều điều trị cao hơn so với cá thể mang alen A ($p = 0.044 < 0.05$). Không có sự khác biệt về liều điều trị giữa các biến thể rs1045642 gen ABCB1 với các cá thể hoang dại. **Kết luận:** Cung cấp cái nhìn thực tế về sự khác biệt giữa các cá nhân với liều điều trị ảnh hưởng bởi các đa hình gen.

Từ khóa: Dược lý di truyền học, đa hình đơn rs1799971, đa hình đơn rs1045642, gen ABCB1, gen OPRM1, liều methadone

SUMMARY

DETERMINE OPRM1, ABCB1 POLYMORPHISMS IN OPIOID- DEPENDENT PATIENTS UNDERGOING METHADONE MAINTENANCE THERAPY

The large interindividual variability of methadone maintenance dose therapy may be partially explained by the variations found in multiple genes that are involved in the pharmacokinetic and pharmacodynamic pathways of methadone. **Objective:** Determining OPRM1 rs1799971 and ABCB1 rs1045642 genotypes in patient undergoing methadone maintenance therapy and assessing relationship between genotypes and methadone doses **Material and methods:** Genomic DNA was extracted from 302 opioid-dependent patients and Sanger sequencing were conducted to determine the genotypes **Results:** In our study, with rs 1799971, individuals with G allele should take higher methadone dosage compared to those with A allele ($p = 0.044 < 0.05$). On the other hand, there is no significance difference with methadone dose between rs1045642 and wild-type carriers. **Conclusion:** These findings provide new insight to the fact that the interindividual variability of methadone dosage requirement is genetic polymorphism.

Keywords: Pharmacogenetic, rs1799971, OPRM1 gene, ABCB1 3435C>T, ABCB1 gene, methadone dose

¹Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Quỳnh Giao

Email: quynhgioa@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 30.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiện chất dạng thuốc phiện nói chung và ma túy nói riêng gây ra những tác hại nghiêm trọng về mặt sức khỏe, tổn hại về mặt xã hội. Methadone một chất chủ vận của receptor μ (receptor opioid), là thuốc giảm đau thuộc nhóm opioid được sử dụng để điều trị nhằm làm giảm các triệu chứng cai nghiện và thèm thuốc. Trong điều trị methadone có sự dao động lớn giữa liều lượng của các cá thể, có những cá thể với liều 2 mg/ngày đã có cải thiện giảm sử dụng heroin trong khi những bệnh nhân khác đòi hỏi với liều rất cao 160 mg/ngày. Dược lý di truyền học (pharmacogenetics) đã chứng minh phản ứng với thuốc trong điều trị sẽ gây ra các phản ứng và hiệu quả điều trị khác nhau dẫn đến sự khác biệt giữa các cá nhân trong quá trình điều trị. Trong nghiên cứu dược lý di truyền học, tập trung vào hai nội dung liên quan là dược động học (pharmacokinetic) và dược lực học (pharmacodynamic). Nghiên cứu về nội dung dược động học, gen OPRM1 (opioid receptor $\mu 1$) mã hóa thụ thể receptor $\mu 1$, là vị trí hoạt động chính của methadone được tập trung nghiên cứu trong đó có đa hình đơn rs1799971. Đa hình rs1799971 do sự thay thế acid amin asparagine thành aspartic (Asn40Asp) tại vị trí glycosyl hóa đầu tận ngoại bào của gen OPRM1 làm thay đổi cấu trúc và chức năng của thụ thể μ , làm thay đổi nhạy cảm thụ thể với opioid. Những cá thể mang alen G giảm hiệu lực với methadone do đó đòi hỏi liều opioid cao hơn để tạo ra hiệu quả điều trị¹⁻². Bên cạnh đó, đa hình gen ABCB1 được tập trung nghiên cứu liên quan đến dược lực học. Nhiều nghiên cứu tập trung vào c.3435C>T (dbSNP rs1045642) (exon 26), đây là một biến thể phổ biến trong vùng mã hóa của gen ABCB1³. Biến thể T của SNP này có liên

quan đến chức năng bị suy yếu và/hoặc giảm biểu hiện của p-glycoprotein in vitro và in vivo do đó cần liều điều trị cao hơn biến thể hoang dại. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về lĩnh vực dược lý di truyền học liên quan đến điều trị methadone

Do đó, đề tài này được thực hiện với mục tiêu: “Xác định đa hình nucleotid đơn rs1799971 gen OPRM1 và rs1045642 gen ABCB1 ở bệnh nhân điều trị thay thế bằng methadone và mối liên quan với liều điều trị”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu: 302 bệnh nhân được chẩn đoán lệ thuộc vào các chất dạng thuốc phiện điều trị methadone thay thế thỏa mãn các điều kiện sau:

- + Tuổi ≥ 18 tuổi
- + Đã đạt được liều điều trị methadone duy trì ít nhất 1 tháng cho tới thời điểm nghiên cứu với tiêu chuẩn đạt liều duy trì:
 - Người bệnh được sử dụng liều có hiệu quả tối ưu duy trì trong ít nhất 4 tuần liên tục.
 - Người bệnh không tái sử dụng CDTF trong ít nhất 4 tuần liên tục

Thiết bị và hóa chất sử dụng: Hóa chất và vật tư tiêu hao trong tách DNA, hóa chất khuếch đại gen, hóa chất chạy điện di.

Thời gian nghiên cứu: 11/2020 đến tháng 8/2021

Địa điểm nghiên cứu: Các cơ sở điều trị methadone tỉnh Ninh Bình, Đại học Y Hà Nội

2.2 Phương pháp nghiên cứu:

Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang

Quy trình nghiên cứu:

- Tiến hành thu thập bệnh nhân

- Tách DNA từ máu toàn phần
 - Quy trình phân tích đa hình gen OPRM1
 + Trình tự mỗi rs1799971 trong nghiên cứu tự thiết kế với trình tự như sau
 Mỗi xuôi: 5'-
 CGCTTGGAACCCAAAAGTC- 3'
 Mỗi ngược: 5'-
 AGCCTTGGGAGTTAGGTGTCT- 3'
 + Trình tự mỗi rs1045642 trong nghiên cứu tự thiết kế với trình tự như sau:
 Mỗi xuôi: 5'-
 CAAAGTGTGCTGGTCCTGAAGT- 3'

Mỗi ngược: 5'-
 GTAAGGGTGTGATTTGGTTGCT- 3'
 + Tiến hành phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen OPRM1 và ABCB1 với 35 chu kỳ nhiệt
 + Điện di trên gel agarose phát hiện 2% phát hiện sản phẩm có mặt.
 + Tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự

2.3 Đạo đức nghiên cứu: Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức trường Đại học Y Hà Nội

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Phân bố bệnh nhân theo nhân khẩu học (n = 302)

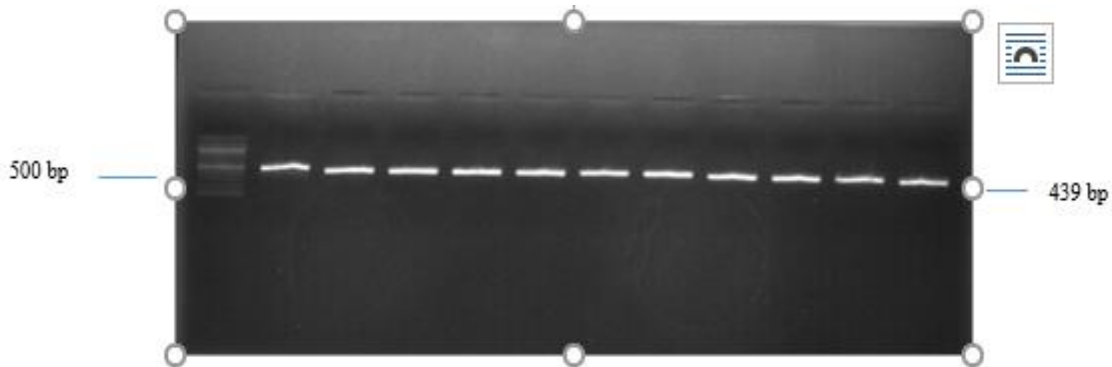
Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Giới tính		
Nam	301	99.6 %
Nữ	1	0.4 %
Tuổi		
< 30	21	7.0 %
30 - 39	122	40.4 %
40 - 49	121	40.1 %
≥ 50	38	12.6 %

Nhận xét: Tổng số có 302 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu hầu hết bệnh nhân là nam giới (99.6 %), chỉ có 1 bệnh nhân là nữ giới chiếm tỷ lệ 0.4 %. Phần lớn bệnh nhân của nghiên cứu nằm trong độ tuổi từ 30 – 39 với 40.4 %.

Bảng 3.2. Liều điều trị methadone của đối tượng nghiên cứu

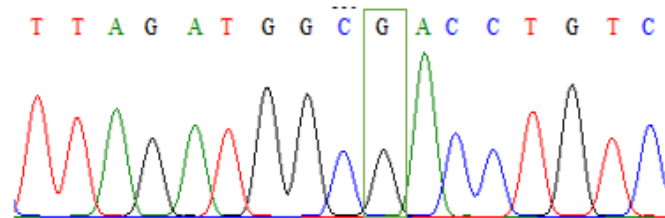
Liều methadone	Tổng số bệnh nhân	Tỷ lệ
Liều điều trị duy trì (mg/ngày)		
< 60 mg	138	45.7 %
60- 90 mg	119	39.4 %
>90 mg	45	14.9 %
Nhỏ nhất: 5 mg Trung bình 64.29 mg Lớn 275 mg		

Nhận xét: Liều duy trì điều trị methadone dao động rất lớn, nhỏ nhất 5 mg/ngày, lớn nhất là 275 mg/ngày. Liều điều trị trung bình là 64.29 mg/ngày.

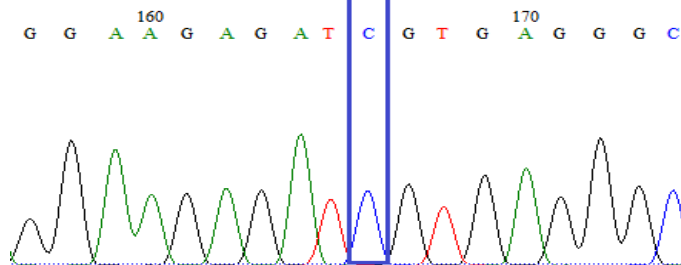


Hình 3.1. Hình ảnh khuếch đại gen OPRM1 chứa đa hình đơn rs1799971

Nhận xét: Sản phẩm khuếch đại chứa đa hình đơn rs1799971 có chiều dài 439 bp trên gel agarose 2% với hiệu điện thế 90V trong 40 phút. Băng điện di rõ nét, không có vạch phụ, đạt tiêu chuẩn cho bước tiếp theo giải trình tự đoạn gen khuếch đại. Kết quả thu được tương tự với sản phẩm khuếch đại chứa đa hình đơn rs1045642 gen ABCB1 với chiều dài 376 bp



Hình 3.2. Kết quả GTT kiểu gen GG đa hình đơn rs 1799971 trên BN mã 100043



Hình 3.2. Kết quả GTT kiểu gen CC đa hình đơn rs1045642 trên BN mã 100043

Nhận xét: Kết quả giải trình tự các kiểu gen với các đường baseline đạt tiêu chuẩn, hình ảnh rõ nét, các peak tương ứng các nucleotide cao, nhọn, cân đối.

Bảng 3.3. Đặc điểm alen và gen OPRM1

Tỷ lệ	Alen		Kiểu gen		
	A	G	AA	AG	GG
	354 58.6%	250 41.3%	103 34.0%	148 48.8%	51 17.2%
Tổng số	604		302		

Nhận xét: Tỷ lệ phân bố alen A và G trong nhóm nghiên cứu tương đương nhau. Tỷ lệ phân bố kiểu gen GG chiếm tỷ lệ nhỏ nhất là 15.6%, kiểu gen AG chiếm tỷ lệ cao nhất là 48.2%.

Bảng 3.4. Đặc điểm alen và gen ABCB1

Tỷ lệ	Alen		Kiểu gen		
	C	T	CC	CT	TT
	379 62.7%	225 37.3%	120 39.6%	139 45.9%	43 14.2%
Tổng số	604		302		

Nhận xét: Tỷ lệ phân bố alen C và T trong nhóm nghiên cứu với tỷ lệ 62.7 và 37.3%.

Bảng 3.5. Liều điều trị duy trì các kiểu gen đa hình đơn rs1799971

Kiểu gen	Liều điều trị duy trì	p
AA	58.74 ± 26.83	0.077
AG	64.29 ± 30.05	
GG	70.73 ± 31.53	
AA	58.74 ± 26.83	0.044*
AG + GG	65.94 ± 33.51	

Nhận xét: Liều điều trị methadone trung bình của cá thể mang alen G cao hơn so với các cá thể mang alen A, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0.044 < 0.05$)

Bảng 3.5. Liều điều trị duy trì các kiểu gen đa hình đơn rs1045642

Kiểu gen	Liều điều trị duy trì	p
CC	61.6 ± 29.57	0.472
CT	64.09 ± 33.55	
TT	66.77 ± 30.45	

Nhận xét: Liều điều trị methadone duy trì trung bình của cá thể CC, CT và TT không có sự khác biệt ($p > 0.05$)

Bảng 3.6: Liều điều trị duy trì của các đa hình đơn gen OPRM1 và ABCB1

Nhóm	OPRM1	ABCB1	Liều điều trị duy trì	p
Nhóm 1	AA	TT	67.64 ± 36.96	0.218
Nhóm 2	AA	CC/CT	59.55 ± 25.71	
	GG/AG	TT		
Nhóm 3	GG/AG	CC/CT	65.87 ± 34.51	

Nhận xét: Liều điều trị methadone trung bình của 3 nhóm kiểu gen phối hợp OPRM1 và ABCB1 không có sự khác biệt ($p = 0.218 > 0.05$).

IV. BÀN LUẬN

Đặc trưng nhóm nghiên cứu

Hầu hết các bệnh nhân tham gia nghiên cứu là nam giới (99.6%). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi từ 30 -39 chiếm 40.4% và

từ 40 – 49 chiếm 40.1%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với báo cáo mới nhất của FHI năm 2014, khi ghi nhận độ tuổi trung bình của những bệnh nhân điều trị Methadone là 31.4 tuổi, với nhóm tuổi từ 30

tuổi trở lên có tỷ lệ cao nhất⁴

Bàn luận về đa hình đơn rs1799971 gen OPRM1 với liều điều trị

Tần suất phân bố của các biến thể mang alen G ở các quần thể có sự khác nhau trong đó cao nhất ở quần thể Châu Á. Trong nghiên cứu của chúng tôi các biến thể mang alen G với tần suất phân bố là 41.3%. Nghiên cứu này tương đồng với các nghiên cứu về đa hình đơn trên quần thể người Nhật của Ide năm 2004 là 45.3%⁵. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các cá thể mang alen G với liều điều trị duy trì cao hơn so với các thể mang alen A. Nghiên cứu của chúng tôi có tương đồng với nghiên cứu của Wang 2012¹. Giả thuyết cho rằng alen G làm giảm mức độ biểu hiện mRNA của thụ thể MOP dẫn đến làm giảm hiệu quả lâm sàng của opioid. Tuy nhiên có rất nhiều nghiên cứu cho thấy không có mối tương quan giữa các biến thể rs1799971 với liều điều trị methadone như nghiên cứu của Crettol⁶. Sự khác nhau giữa các nghiên cứu có thể giải thích do tác động của đa hình này liên quan đến sự hiện diện của các đa hình trong gen khác. Một lý do nữa liên quan đến sự không đồng nhất của các nghiên cứu là do đặc điểm các mẫu được nghiên cứu khác nhau, liều điều trị duy trì trong các quần thể khác nhau. Do vậy không thể khái quát hóa các phát hiện liên quan đến tác động đa hình của OPRM1 đối với liều methadone.

Bàn luận về đa hình đơn rs1045642 gen ABCB1 với liều điều trị

Biến thể ABCB1 với sự biến đổi alen C thành T tại vị trí nucleotid 3435 của exon 26. Mặc dù sự biến đổi không làm thay thế acid amin tuy nhiên nhiều giả thuyết cho rằng

biến thể TT liên quan đến mức giảm biểu hiện trên mRNA. Trong nghiên cứu của chúng tôi, không tìm thấy sự khác biệt giữa các kiểu gen ABCB1 với liều điều trị methadone duy trì. Nghiên cứu của Lervan khi đánh giá haplotype gen ABCB1 (1236C > T, 2677G > T, 3435C > T) cần liều điều trị methadone cao hơn⁷. Nghiên cứu này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc đánh giá các haplotype ABCB1 hơn là đánh giá từng đa hình nucleotide đơn lẻ. Do đó nghiên cứu của chúng tôi cần phân tích phối hợp haplotype của gen ABCB1 để có thể đánh giá đầy đủ mối liên quan với liều điều trị.

V. KẾT LUẬN

Cá thể mang alen G của đa hình đơn rs1799971 gen OPRM1 đòi hỏi liều điều trị trung bình methadone cao hơn so với các thể mang alen A ($p = 0.044 < 0.05$).

KIẾN NGHỊ

Cần tiến hành phân tích phối hợp các đa hình đơn gen ABCB1 để đánh giá đầy đủ mối liên quan với liều điều trị

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Wang SC, Tsou HH, Chen CH, et al. Genetic polymorphisms in the opioid receptor mu1 gene are associated with changes in libido and insomnia in methadone maintenance patients. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology*. Oct 2012;22(10):695-703.
2. Bauer IE, Soares JC, Nielsen DA. The role of opioidergic genes in the treatment outcome of drug addiction pharmacotherapy: A

- systematic review. The American journal on addictions. Jan 2015;24(1):15-23.
3. S. Hoffmeyer, O. Burk, O. Von Richter và cộng sự (2000). Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. Proceedings of the National Academy of Sciences, 97 (7), 3473-3478.
 4. FHI. Đánh giá hiệu quả của chương trình thí điểm điều trị nghiện các chất thuốc phiện bằng methadone tại Hải Phòng và TP. Hồ Chí Minh. 2014
 5. Ide S, Kobayashi H, Tanaka K, et al. Gene polymorphisms of the mu opioid receptor in methamphetamine abusers. Annals of the New York Academy of Sciences. Oct 2004;1025:316-324.
 6. Crettol S, Besson J, Croquette-Krokar M, et al. Association of dopamine and opioid receptor genetic polymorphisms with response to methadone maintenance treatment. Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry. Oct 1 2008;32(7):1722-1727
 7. Levran O, O'Hara K, Peles E, et al. ABCB1 (MDR1) genetic variants are associated with methadone doses required for effective treatment of heroin dependence. Hum Mol Genet. 2008;17(14):2219-2227

MỨC ĐỘ ĐỒNG, TỶ LỆ ĐỒNG/KẼM HUYẾT THANH VÀ SỰ TƯƠNG QUAN GIỮA CÁC THÔNG SỐ NÀY VỚI CA153 VÀ CEA Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ VÚ

Nguyễn Thị Thùy, Bùi Tuấn Anh, Nguyễn Đức Hiền,
Đỗ Thị Vân Anh, Nguyễn Thị Thu Huyền(*)

TÓM TẮT

Đồng (Cu) là một ion kim loại thiết yếu, đóng một vai trò quan trọng trong quá trình sinh hóa của mọi sinh vật sống. Trong bệnh lý ung thư, đồng được cho là yếu tố kích thích quá trình hình thành mạch, bằng cách kích hoạt các yếu tố tăng trưởng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi định lượng nồng độ đồng huyết thanh của 51 bệnh nhân ung thư vú (UTV) ở tất cả các giai đoạn và so sánh với nhóm chứng. **Kết quả:**

Nồng độ đồng trung bình của nhóm UTV là 18.9 ± 5.4 ($\mu\text{mol/L}$) và nhóm chứng là 15.3 ± 3.64 ($\mu\text{mol/L}$) với $p < 0,05$. Trung bình tỷ lệ Cu/Zn ở nhóm bệnh cao hơn ở nhóm chứng với các giá trị lần lượt là 3.11 ± 2.39 và 1.94 ± 0.49 . Có mối tương quan thuận chặt giữa tỷ lệ Cu/Zn với CEA, và tỷ lệ Cu/Zn với CA153 trong huyết thanh với $R = 0.65$, $p < 0,05$ và $R = 0.66$, $p < 0,05$.

Kết luận: 1) Mức độ đồng huyết thanh trung bình và tỷ lệ Cu/Zn ở bệnh nhân ung thư vú cao hơn một cách có ý nghĩa so với ở những người nhóm chứng; 2) Có sự tương quan thuận mạnh giữa tỷ lệ Cu/Zn huyết thanh với CEA và tỷ lệ Cu/Zn với nồng độ CA153.

Từ khóa: Cu, Cu/Zn, ung thư vú.

(*)Bệnh viện Bạch Mai

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thùy

Email: thuyhd39@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

SUMMARY**SERUM COPPER, COPPER/ZINC RATIO AND CORRELATIONS OF THOSE WITH CA19-9 AND CEA IN PATIENTS WITH BREAST CANCER**

Introduction: Copper (Cu) is an indispensable metal ion that plays a crucial role in the biochemistry of every living organism. Copper is believed to be the switch that turns on the angiogenesis process in tumor cells, by activating the growth factor. **Methods:** In this study, we measure the level of serum Copper in 51 female breast cancer patients of all stages then compare our result with those of a healthy control group. **Results:** we found that the mean level of serum Cu was 18.9 ± 5.4 ($\mu\text{mol/L}$) in the patient's group and 15.3 ± 3.64 ($\mu\text{mol/L}$) in the control group with $p < 0.05$. The average Cu/Zn ratio in the disease group was higher than that in the control group with values of 3.11 ± 2.39 and 1.94 ± 0.49 , respectively. There is were a strong inverse positive correlation between serum Cu/Zn with CEA, and Cu/Zn with CA153 concentrations with $R = 0.65$, $p < 0.05$ và $R = 0.66$, $p < 0.05$, respectively. **Conclusions:** 1) The mean serum copper levels and serum Cu/Zn ratio in patients with breast cancer were significantly higher those in control subjects; 2) There were strong positive correlations between serum Cu/Zn with CEA, and Cu/Zn with CA153 concentrations.

Key words: Cu, Cu/Zn, Breast cancer

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú là bệnh lý ác tính phổ biến, là nguyên nhân gây tử vong do ung thư cao nhất ở phụ nữ trên toàn cầu trong đó có Việt Nam. Theo Globocan năm 2020, trên toàn thế giới có 2.261.419 trường hợp UTV mắc mới, chiếm 11,7% trong tổng số tất cả các loại ung thư ở cả 2 giới và có 684 996 trường

hợp tử vong chiếm 6,9% các trường hợp tử vong do ung thư chỉ sau ung thư gan nguyên phát, ung thư phổi, ung thư dạ dày và ung thư đại tràng [1]. Tại Việt Nam, ung thư vú là bệnh lý ác tính phổ biến đứng thứ 3 chỉ sau ung thư gan và ung thư phổi với số ca mắc mới 21.555, chiếm 11,8% các trường hợp ung thư [2].

Mặc dù tỷ lệ mắc UTV có xu hướng tăng trong những năm gần đây nhưng tỷ lệ tử vong do bệnh vẫn từng bước được cải thiện nhờ các thành tựu đạt được trong phòng bệnh, phát hiện bệnh sớm, chẩn đoán và điều trị. Hiện nay có nhiều phương pháp để chẩn đoán UTV như: sinh thiết tế bào bằng kim nhỏ, chụp X quang tuyến vú. Cùng với sự phát triển của công nghệ sinh học phân tử, các chất chỉ điểm khối u trong hóa sinh (còn được gọi là dấu ấn ung thư) được sử dụng nhiều trong sàng lọc, chẩn đoán, đánh giá khả năng đáp ứng điều trị và theo dõi tái phát ung thư.

Đồng là yếu tố vi lượng đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa lipid, cân bằng oxy hóa khử, chuyển hóa sắt và nhiều quá trình quan trọng khác trong cơ thể. Đã có nhiều nghiên cứu chứng minh trong các tế bào ung thư có sự giảm hoạt động của phức hợp enzyme CuZnSOD so với các tế bào bình thường, và chính sự gia tăng đồng huyết thanh là một phản ứng sinh lý kích hoạt CuZnSOD hoặc các enzyme có sử dụng đồng khác để ức chế tăng trưởng tế bào ung thư [3].

Xét nghiệm định lượng đồng trong huyết thanh là một xét nghiệm có chi phí thấp và kỹ thuật đơn giản có thể thực hiện ở nhiều cơ sở y tế. Tuy nhiên, tính hữu ích của xét nghiệm đồng trong việc phòng ngừa, phát hiện, theo dõi điều trị và tiên lượng ung thư lại chưa được sáng tỏ. Xuất phát từ thực tế

đó chúng tôi thực hiện đề tài: “Nghiên cứu nồng độ đồng trong huyết thanh ở BN ung thư vú tại bệnh viện Bạch Mai năm 2021-2022” với 2 mục tiêu:

1. *Xác định nồng độ đồng, kẽm và tỷ lệ Cu/Zn trong huyết thanh ở bệnh nhân ung thư vú.*

2. *Tìm hiểu mối tương quan giữa nồng độ đồng với kẽm và các dấu ấn ung thư*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Tất cả bệnh nhân ung thư vú được khám và điều trị tại bệnh viện Bạch Mai.

Thời gian: từ tháng 1 đến tháng 11 năm 2021

Địa điểm: khoa Hóa sinh bệnh viện Bạch Mai.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế : nghiên cứu mô tả cắt ngang

- Mẫu nghiên cứu:

+ Chọn mẫu

+ Nhóm bệnh:

Tiêu chuẩn lựa chọn: 51 bệnh nhân nữ được chẩn đoán xác định ung thư vú nguyên

phát bằng mô bệnh học ở tất cả các giai đoạn.

Tiêu chuẩn loại trừ: 1) Tất cả các trường hợp nhiễm trùng cấp tính và mạn tính; 2) Các bệnh lý Wilson, Menkes, 3) Ngộ độc đồng

+ Nhóm đối chứng: Nhóm đối chứng gồm 51 phụ nữ khỏe mạnh khám sức khỏe định kỳ.

- Chỉ tiêu nghiên cứu:

+ Thông tin chung: Tuổi, chẩn đoán lâm sàng.

+ Chỉ tiêu hóa sinh: các thông số nghiên cứu gồm đồng huyết thanh ($\mu\text{mol/L}$), kẽm huyết thanh ($\mu\text{mol/L}$), CEA huyết thanh (ng/mL) và CA153 huyết thanh (U/mL).

- Thu thập số liệu: Mẫu máu được lấy ống sinh hóa chống đông bằng heparin được ly tâm ở tốc độ 3500 vòng / phút trong 10 phút, và các mẫu huyết tương được bảo quản ở -80°C cho đến ngày phân tích. Xét nghiệm đồng, kẽm được đo bằng phương pháp đo quang 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

Đặc điểm tuổi giữa nhóm bệnh và nhóm chứng được thể hiện ở Bảng 3.1.

Bảng 0.1. *Đặc điểm tuổi giữa nhóm bệnh và nhóm chứng*

Tuổi	Nhóm		P
	Bệnh (n=51)	Chứng (n=51)	
Trung bình $\pm$ SD	45,5 $\pm$ 3,80	46,2 $\pm$ 6,72	0.412

Bảng 1 cho thấy tuổi trung bình ở nhóm bệnh là 45,5 và tuổi trung bình nhóm chứng là 46,2. Không có sự khác biệt có ý nghĩa về tuổi giữa nhóm bệnh và nhóm chứng với $p>0,05$.

3.2. Nồng độ đồng, kẽm huyết thanh của đối tượng nghiên cứu

0.2.1. *Đặc điểm các thông số trong nhóm bệnh*

Đặc điểm các thông số hóa sinh trong nhóm bệnh nhân ung thư vú được thể hiện ở Bảng 3.2.

Bảng 3.2: Đặc điểm các thông số hóa sinh trong nhóm bệnh nhân ung thư vú

	Nhóm bệnh (n=51)	Khoảng tham chiếu
Kẽm ($\mu\text{mol/L}$)	$7,38 \pm 3,15$	7-23 $\mu\text{mol/L}$
Đồng (ng/mL)	$18,9 \pm 5,4$	12-24 $\mu\text{mol/L}$
CA153	$26,39 \pm 46,9$	<25 U/mL
CEA	$9,43 \pm 47,5$	<4,3 ng/mL

Nồng độ đồng và kẽm huyết thanh ở nhóm bệnh có giá trị lần lượt là $18,9 \pm 5,4 \mu\text{mol/L}$ và $7,38 \pm 3,15 \mu\text{mol/L}$. Nồng độ CA153 và CEA đều tăng là: $26,39 \pm 46,9 \text{ U/mL}$ và $9,43 \pm 47,5 \text{ ng/mL}$.

0.2.2. Nồng độ đồng trung bình của đối tượng nghiên cứu. Nồng độ đồng huyết thanh trung bình của nhóm bệnh và nhóm chứng được thể hiện ở Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Nồng độ đồng huyết thanh trung bình của nhóm bệnh và nhóm chứng

Thông số XN	Nhóm		P
	Bệnh	Chứng	
Nồng độ Cu	$18,9 \pm 5,4$	$15,3 \pm 3,64$	<0,05

Nồng độ đồng huyết thanh của nhóm bệnh có giá trị trung bình là $18,9 \mu\text{mol/L}$ cao hơn nồng độ đồng ở nhóm chứng là $15,3 \mu\text{mol/L}$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.3. Giá trị trung bình của đồng/kẽm của nhóm nghiên cứu. Giá trị trung bình của đồng/kẽm huyết thanh của nhóm nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 3.4.

Bảng 3.4: So sánh tỷ lệ đồng/kẽm huyết thanh giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

Thông số XN	Nhóm		P
	Bệnh	Chứng	
Cu/Zn	$3,11 \pm 2,39$	$1,94 \pm 0,49$	<0,05

Tỷ lệ nồng độ đồng/kẽm huyết thanh của nhóm bệnh có giá trị trung bình là 3,11, cao hơn nhóm chứng là 1,94, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2.3. Tương quan Cu/Zn huyết thanh với các dấu ấn ung thư. Sự tương quan giữa tỷ lệ Cu/Zn huyết thanh và một số dấu ấn khối u được thể hiện ở Bảng 3.5.

Bảng 3.5. Sự tương quan giữa tỷ lệ Cu/Zn huyết thanh và một số dấu ấn khối u

Các thông số	Nhóm bệnh	
	R	P
Cu/Zn và CEA	0,651	<0,0001
Cu/Zn và CA153	0,665	<0,0001
CEA và CA 153	0,87	<0,0001

Bảng 3.5 cho thấy ở bệnh nhân ung thư vú có sự tương quan thuận rất chặt chẽ giữa tỷ lệ nồng độ Cu/Zn huyết thanh với 2 chỉ số dấu ấn ung thư vú là CEA và CA153 với hệ số R lần lượt là 0,651 và 0,665 với $P < 0,0001$, trong khi CEA và CA153 cũng có tương quan thuận rất chặt với $R = 0,87$ và $P < 0,0001$.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Trong ung thư vú, tuổi là yếu tố quan trọng liên quan đến tỷ lệ mắc, khả năng điều trị và tiên lượng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình mắc ung thư vú là 45.5 tuổi, với thấp nhất là 31, cao nhất là 59 tuổi. Theo Joseph A và cộng sự (2008) NC trên 4,950 BN ung thư vú đã cho thấy tuổi trung bình là mắc ung thư vú là 50 tuổi [4]. Nguyễn Chấn Hùng [5] NC trên 2.158 BN ung thư vú ở Miền Nam Việt Nam đã xác nhận nhóm tuổi phổ biến mắc ung thư vú là từ 40-49 tuổi.

4.2. Nồng độ đồng ở bệnh nhân ung thư vú

Ung thư là một tập hợp đa yếu tố liên quan đến sự phát triển không kiểm soát, sự xâm lấn, lan rộng của tế bào ung thư và hình thành khối u thứ phát tại các vị trí lân cận và xa; các quá trình này thường được kết nối với một phản ứng miễn dịch. Đối với một khối u phát triển lớn hơn vài mm thì quá trình tân tạo mạch là điều cần thiết. Cu là một thành phần tham gia vào phản ứng tạo mạch bằng cách liên kết trực tiếp với các yếu tố tạo mạch cũng như bằng cách thúc đẩy sự biểu hiện của các yếu tố đó [7]. Ngoài ra Cu cũng có thể kích hoạt các enzym chuyển hóa và giúp tăng cường khả năng di căn của tế bào ung thư [8].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ đồng huyết thanh, tỷ lệ Cu/Zn của nhóm bệnh có giá trị trung bình lần lượt là $18,9 \pm 5,4$ $\mu\text{mol/L}$ và $3,11 \pm 2,39$ cao hơn nồng độ đồng ở nhóm chứng là $15,3 \pm 3,64$ $\mu\text{mol/L}$, và $1,94 \pm 0,49$, mặc dù không có sự

khác biệt giữa nồng độ kẽm của 2 nhóm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Gupta SK và cộng sự nghiên cứu trên 30 bệnh nhân ung thư vú cũng cho thấy nồng độ Cu và tỉ lệ Cu/Zn ($167,3$ $\mu\text{g/dL}$, $1,91$) cao hơn ở nhóm người khỏe mạnh ($98,8$ $\mu\text{g/dL}$, $0,86$ $P < 0,001$) [8].

Tỷ lệ nồng độ đồng/kẽm huyết thanh có tương quan tương đối chặt chẽ với 2 chỉ số dấu ấn ung thư vú là CEA, CA153 với hệ số R lần lượt là $0,651$ và $0,665$ với $p < 0,0001$. Giá trị hệ số tương quan này rất có ý nghĩa, nó được chứng minh về mặt thống kê có một mối tương quan giữa Cu, Zn và các chất chỉ điểm khối u.

V. KẾT LUẬN

1) Mức độ đồng huyết thanh trung bình và tỷ lệ Cu/Zn ở bệnh nhân ung thư vú cao hơn một cách có ý nghĩa so với ở những người nhóm chứng.

2) Có sự tương quan thuận mạnh giữa tỷ lệ Cu/Zn huyết thanh với CEA và tỷ lệ Cu/Zn với nồng độ CA153.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **GLOBOCAN** Cancer Fact Sheets: Breast cancer. 26/10/2021.
2. **GLOBOCAN** Vietnam Fact Sheets: Breast cancer. 26/10/2021.
3. **Kern, Sr, Smith HA, Fontaine D, and Bryan SE., (1981)**, Partitioning of zinc and copper in fetal liver subfractions: appearance of metallothionein-like proteins during development. Toxicol Appl Pharmacol 59: 346-54.
4. **Joseph A., Sparano M.D., Molin Wang, et al. (2008)**. Weekly Paclitaxel in the Adjuvant Treatment of Breast Cancer. N Engl J Med,

358. 1663-1670
5. **Nguyễn Chấn Hùng, Trần Văn Thiệp.** (1999). Chẩn đoán và điều trị ung thư vú tại Trung Tâm Ung bướu TP. Hồ Chí Minh. Tạp chí Y học TP Hồ Chí Minh. 4(3), 297-306.
 6. **Pan, Q.; Kleer, C.G.; van Golen, K.L.; Irani, J.; Bottema, K.M.; Bias, C.; de Carvalho, M.; Mesri, E.A.; Robins, D.M.; Dick, R.D.; et al.** Copper deficiency induced by tetrathiomolybdate suppresses tumor growth and angiogenesis. *Cancer Res.* 2002, 62, 4854-4859.
 7. **Denoyer, D.; Masaldan, S.; La Fontaine, S.; Cater, M.A.** Targeting copper in cancer therapy: "Copper that cancer". *Met. Integr. Biometal Sci.* 2015, 7, 1459–1476
 8. **Gupta SK, Shukla VK, Vaidya MP, Roy SK, Gupta S.** Serum trace elements and Cu/Zn ratio in breast cancer patients. *J Surg Oncol* 1991 Mar; 46(3): 178-181.

NGHIÊN CỨU MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ BETA 2-MICROGLOBULIN VÀ NỒNG ĐỘ URÊ, CREATININ, ACID URIC TRONG HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN ĐA U TỦY XƯƠNG

**Huỳnh Minh Âu⁽²⁾, Đào Quang Tuấn⁽²⁾, Thái Doãn Cường⁽²⁾,
Huỳnh Công Kinh⁽²⁾, Nguyễn Phước Đạo⁽²⁾,
Phạm Văn Trân⁽¹⁾, Lê Thanh Hà⁽¹⁾**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá sự thay đổi và mối tương quan giữa nồng độ beta-2-microglobulin (β 2M) với một số chỉ số hóa sinh máu ở bệnh nhân đa u tủy xương (ĐUTX). **Đối tượng và phương pháp:** 30 bệnh nhân ĐUTX và 30 người khỏe mạnh được xét nghiệm β 2M và một số chỉ số hóa sinh máu trên máy xét nghiệm sinh hóa tự động Olympus AU680 (Hãng Beckman Coulter, Mỹ). **Kết quả:** Nồng độ β 2M máu ở nhóm ĐUTX ($6,19 \pm 5,32$ mg/L) tăng so với nhóm đối chứng ($1,46 \pm 0,22$ mg/L) một cách rất rõ rệt ($p <$

0,001). Nồng độ β 2M tương quan thuận mức độ rất chặt với nồng độ creatinin, nồng độ urê và nồng độ acid uric ($n=30$, $p<0,001$). **Kết luận:** Nồng độ β 2M máu nhóm ĐUTX cao hơn nhóm đối chứng ($p < 0,001$) và có mối tương quan thuận mức độ rất chặt với nồng độ creatinin, urê và acid uric trong máu ($p < 0,001$).

Từ khóa: Đa u tủy xương, beta 2-microglobulin, urê, creatinin, acid uric

SUMMARY

RESEARH ON THE CORRELATION BETWEEN BETA 2 – MICROGLOBULIN CONCENTRATION OF UREA, CREATININE, URIC ACID IN PLASMA IN PATIENTS OF MULTIPLE MYELOMA

Aim of research: To evaluate of the change and correlation between beta-2-microglobulin (β 2M) levels with a number of biochemical tests in multiple myeloma patients. **Objects and**

⁽¹⁾Bộ môn Khoa Sinh hóa-Bệnh viện Quân y 103-Học viện Quân y,

⁽²⁾Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Lê Thanh Hà
Email: lethanhhash@yahoo.com

Ngày nhận bài: 22.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 28.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

Methods: 30 patients with multiple myeloma and 30 healthy people were tested for β 2M and some biochemical tests on the Olympus AU680 automatic biochemical analyzer (Beckman Coulter, USA). **Results:** The concentration of β 2M blood in the multiple myeloma patients group (6.19 ± 5.32 mg/L) increased compared with the control group (1.46 ± 0.22 mg/L) ($p < 0.001$). The concentration of β 2M strongly correlated with creatinine concentration ($r = 0.84$), with urea concentration ($r = 0.8$) and with uric acid concentration ($r = 0.57$), $p < 0.05$. **Conclusion:** The concentration of β 2M blood in the multiple myeloma patients group was higher than that of the control group ($p < 0.001$) and had a very strong positive correlation with the concentration of creatinine, urea and uric acid in the blood ($p < 0.001$).

Key words: Multiple myeloma, beta 2-microglobulin, urea, creatinine, uric acid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh đa u tủy xương (ĐUTX) là bệnh lý ác tính do tế bào lympho B bất thường tạo ra một lượng lớn tương bào. Các tương bào này có thể tiết ra globulin miễn dịch đầy đủ, cũng có thể tăng tiết một loại chuỗi nhẹ gọi là bệnh chuỗi nhẹ, hoặc vừa tiết thừa một loại Ig và một chuỗi nhẹ. Bệnh ĐUTX thường biểu hiện với các triệu chứng lâm sàng: đau xương, thiếu máu, xuất huyết, nhiễm khuẩn, chèn ép tủy và các biến chứng ở thận. Theo GLOBOCAN 2020 [1] bệnh ĐUTX đứng thứ 26 trong các bệnh ung thư ở Việt Nam với số ca mắc mới là 550 ca, số ca tử vong là 471 ca trong năm 2020.

Beta-2-microglobulin (β 2M) là một thành phần của phân tử phức hợp hòa hợp miễn dịch chính (MCH), có mặt trên tất cả các tế bào có nhân. Ở người khỏe mạnh, nồng độ β 2M trong huyết tương là 0,8 – 2,4 mg/L.

Nồng độ β 2M huyết tương có thể tăng lên ở một số bệnh ác tính, đặc biệt bệnh ác tính liên quan đến dòng tế bào lympho B như u lympho ác tính, ĐUTX... Nhiều nghiên cứu đã ghi nhận giá trị của β 2M trong chẩn đoán, điều trị và tiên lượng bệnh ĐUTX [2,3]. Tuy nhiên, số lượng các nghiên cứu về β 2M ở Việt Nam còn hạn chế, đặc biệt là các nghiên cứu về mức độ liên quan của β 2M với một số chỉ số hóa sinh của máu trong bệnh ĐUTX. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm đánh giá sự thay đổi và mối tương quan giữa nồng độ β 2M với một số chỉ số hóa sinh máu ở bệnh nhân ĐUTX.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu gồm 60 người chia thành 2 nhóm: Nhóm ĐUTX 30 bệnh nhân (12 nam và 18 nữ) và nhóm đối chứng 30 người khỏe mạnh.

Tiêu chuẩn chọn người bệnh: Bệnh nhân được chẩn đoán xác định bệnh ĐUTX theo tiêu chuẩn của Bart- Barlogie (1995) và được điều trị tại khoa AM7 - Bệnh viện Quân y 103.

Tiêu chuẩn chọn nhóm đối chứng: người trưởng thành khỏe mạnh, các điều kiện khác tương đương với nhóm bệnh nhân.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu theo phương pháp mô tả cắt ngang kết hợp với nghiên cứu hồi cứu dựa vào tra cứu hồ sơ bệnh án từ tháng 05/2020 đến tháng 05/2021.

Phương pháp định lượng β 2M máu: Lấy 2 ml máu tĩnh mạch lúc đói (được chống đông heparin), ly tâm, tách lấy huyết tương để làm xét nghiệm. Định lượng nồng độ β 2M huyết tương theo phương pháp hóa miễn dịch đo độ đục trên máy xét nghiệm sinh hóa tự động

Olympus AU680 (Hãng Beckman Coulter, Mỹ).

Xác định các chỉ số urê, creatinin, axid uric, AST, ALT máu theo phương pháp đo quang trên máy xét nghiệm sinh hóa tự động

Olympus AU680 (Hãng Beckman Coulter, Mỹ).

Xét nghiệm tiến hành tại Bộ môn Khoa Sinh hóa, Bệnh viện Quân y 103.

Xử lý số liệu bằng phần mềm Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả nồng độ $\beta 2M$ máu ở các nhóm nghiên cứu

Bảng 1. Nồng độ $\beta 2M$ ở các nhóm nghiên cứu và theo tuổi, giới ở nhóm bệnh

$\beta 2M$ (mg/L)	Nhóm chứng (n=30)	Nhóm bệnh (n=30)	Nhóm bệnh (n=30)				
			Tuổi			Giới	
			< 40 (n = 1)	40-60 (n = 11)	>60 (n = 18)	Nam (n = 12)	Nữ (n = 18)
$\bar{X} \pm SD$	1,46 $\pm$ 0,22	6,19 $\pm$ 5,32	1,55	6,29 $\pm$ 6,14	6,39 $\pm$ 4,97	6,62 $\pm$ 6,09	5,91 $\pm$ 4,90
Min-Max	1,09 – 2,03	1,55 – 22,49					
p	0,0000363		0,96			0,73	

Bảng 1 cho thấy, nồng độ $\beta 2M$ máu ở nhóm ĐUTX (6,19 $\pm$ 5,32 mg/L) cao hơn nhóm đối chứng (1,46 $\pm$ 0,22 mg/L), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê rất rõ rệt ($p < 0,001$). Nồng độ $\beta 2M$ máu ở nhóm ĐUTX không có sự khác biệt giữa các phân nhóm tuổi và giới ($p > 0,05$).

Bảng 2. Độ nhạy, độ đặc hiệu với ngưỡng bình thường theo nghiên cứu (<1,9 mg/L) và theo lý thuyết (<2,4 mg/L)

	$\beta 2M$	Nhóm bệnh		Nhóm chứng		Độ nhạy	Độ đặc hiệu
		Số lượng	Tỷ lệ %	Số lượng	Tỷ lệ %		
Giá trị tham chiếu là 1,9 mg/L	Tăng (>1,9 mg/L)	A ₁ = 28	93,33%	B ₁ = 1	3,33%	$A_1 / (A_1 + C_1) =$ 93,33%	$D_1 / (B_1 + D_1) =$ 96,67%
	Bình thường ($\leq$ 1,9 mg/L)	C ₁ = 2	6,67%	D ₁ = 29	96,67%		
Giá trị tham chiếu là 2,4 mg/L	Tăng (>2,4 mg/L)	A ₂ = 25	83%	B ₂ = 0	0%	$A_2 / (A_2 + C_2) =$ 83%	$D_2 / (B_2 + D_2) =$ 100%
	Bình thường ($\leq$ 2,4 mg/L)	C ₂ = 5	17%	D ₂ = 30	100%		
	Tổng	30	100%	30	100%		

Ghi chú: Giá trị tham chiếu 1,9 mg/L là $\bar{X} + 2SD$ của $\beta 2M$ máu ở nhóm đối chứng

Giá trị tham chiếu là 2,4 mg/L là giá trị tham khảo lý thuyết

3.2. Kết quả một số chỉ số hóa sinh máu ở các nhóm nghiên cứu

Bảng 3. Kết quả một số chỉ số hóa sinh máu ở các nhóm nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm bệnh	Nhóm chứng	p	Nhóm bệnh		
				Tăng	Số lượng	Tỷ lệ %
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	$117,56 \pm 84,05$	$95,11 \pm 9,19$	0,08	$> 110 \mu\text{mol/L}$	8	26,67%
Urê (mmol/L)	$8,37 \pm 4,88$	$5,78 \pm 1,04$	0.01	$> 7,2 \text{ mmol/L}$	11	36,67%
Acid uric ($\mu\text{mol/L}$)	$415,06 \pm 224,25$	$406,21 \pm 64,28$	0,84	$> 420 \mu\text{mol/L}$	11	36,67%
AST (U/L)	$29,63 \pm 18,87$	$27,61 \pm 7,52$	0,59	$\geq 40 \text{ U/L}$	5	16,67%
ALT (U/L)	$31,16 \pm 33,76$	$36,23 \pm 20,72$	0,49	$\geq 40 \text{ U/L}$	5	16,67%

Nồng độ urê ở nhóm ĐUTX cao hơn so với nhóm đối chứng và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Nồng độ creatinin, acid uric, AST ở nhóm ĐUTX cao hơn so với nhóm đối chứng, tuy nhiên những sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Urê và acid uric máu ở nhóm ĐUTX có tỷ lệ tăng so với giá trị bình thường là cao nhất, AST và ALT ở nhóm ĐUTX có tỷ lệ tăng thấp nhất trong các chỉ số nghiên cứu.

3.3. Mối tương quan giữa nồng độ $\beta 2\text{M}$ với một số chỉ số hóa sinh ở bệnh nhân ĐUTX

Nồng độ $\beta 2\text{M}$ tương quan thuận mức độ rất chặt với nồng độ creatinin ($r=0,84$), nồng độ urê ($r=0,8$) và nồng độ acid uric ($r=0,57$) ($n=30$, $p < 0,001$). Phương trình hồi quy tuyến tính giữa nồng độ $\beta 2\text{M}$ với nồng độ creatinin, urê, acid uric lần lượt là: $y = 0,053x - 0,038$; $y = 0,8771x - 1,1517$; $y = 0,0135x + 0,5807$.

Bảng 4. Kết quả so sánh nồng độ $\beta 2\text{M}$ máu giữa các nhóm bệnh nhân tăng và không tăng urê máu, các nhóm tăng và không tăng creatinin máu

	Nhóm tăng và không tăng urê máu		Nhóm tăng và không tăng creatinin máu	
	Tăng urê ($> 7,2 \text{ mmol/L}$)	Không tăng urê ($\leq 7,2 \text{ mmol/L}$)	Tăng creatinin ($> 110 \mu\text{mol/L}$)	Không tăng creatinin ($\leq 110 \mu\text{mol/L}$)
Số lượng	13	17	8	22
Tỷ lệ %	43%	57%	27 %	73%
$\beta 2\text{M}$ (mg/L) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	$9,50 \pm 6,61$	$3,67 \pm 1,69$	$12,79 \pm 6,47$	$3,80 \pm 1,60$
p	0,008		0,006	
$\bar{X} \pm \text{SD}$ (Urê và Creatinin)	$12,68 \pm 4,42$	$5,08 \pm 1,37$	$229,58 \pm 93,91$	$76,82 \pm 17,21$

Ở nhóm ĐUTX nồng độ $\beta 2M$ máu ở nhóm bệnh nhân có tăng urê ($9,50 \pm 6,61$ mg/L) cao hơn nhóm bệnh nhân không tăng urê ($3,67 \pm 1,69$ mg/L), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê rõ rệt ($p < 0,01$). Ở nhóm ĐUTX nồng độ $\beta 2M$ máu ở nhóm bệnh nhân có tăng creatinin ($12,79 \pm 6,47$ mg/L) cao hơn nhóm bệnh nhân không tăng creatinin ($3,80 \pm 1,60$ mg/L), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê rõ rệt ($p < 0,01$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Kết quả nồng độ $\beta 2M$ và một số chỉ số hóa sinh máu ở các nhóm nghiên cứu

Nồng độ $\beta 2M$ nhóm ĐUTX ($6,19 \pm 5,32$ mg/L) cao hơn nhóm chứng ($p < 0,001$); 93,33% bệnh nhân có tăng nồng độ $\beta 2M$ ($>1,9$ mg/L), không có sự khác biệt về nồng độ $\beta 2M$ giữa nam nữ và giữa các độ tuổi khác nhau, kết quả của nghiên cứu phù hợp với công bố của Ortega F và cs (1992) [2], nghiên cứu giá trị tiên lượng của $\beta 2M$ trên 107 bệnh nhân mới được chẩn đoán ĐUTX cho thấy giá trị trung bình của $\beta 2M$ thu được là $7,8 \pm 8,0$ mg/L và 90% bệnh nhân có $\beta 2M$ cao hơn giới hạn bình thường.

Nhóm bệnh nhân ĐUTX có nồng độ trung bình của urê máu ($8,37 \pm 4,88$ mmol/L) cao hơn nhóm đối chứng ($5,78 \pm 1,04$ mmol/L), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), 36,67% bệnh nhân có tăng nồng độ urê máu. Tuy nồng độ creatinin máu của nhóm bệnh nhân ĐUTX ($117,56 \pm 84,05$ μ mol/L) cao hơn nhóm chứng ($95,11 \pm 9,19$ μ mol/L) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên có 26,67% bệnh nhân có nồng độ creatinin máu tăng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với Chow C và cs (2013) [4], khi nghiên cứu tổn thương thận trên bệnh nhân ĐUTX thấy có 29,7% bệnh nhân có tăng creatinin máu. Theo Saydam G

và cs (2011) [5], nghiên cứu bệnh thận ở bệnh nhân ĐUTX cho thấy 43% bệnh nhân trong tổng số 998 bệnh nhân ĐUTX có suy giảm chức năng thận với nồng độ creatinin huyết thanh trên 133 mmol/L. Theo Suzanne MCB Thanh Thanh (2011) [6], khi nghiên cứu 78 trường hợp ĐUTX từ 1/1/2010 đến 30/6/2011 tại Khoa Huyết học Bệnh viện Chợ Rẫy có 44% các trường hợp bệnh nhân nhập viện đã bị tổn thương thận.

Từ kết quả nghiên cứu, chúng tôi nhận thấy nồng độ acid uric máu ở nhóm ĐUTX là $415,06 \pm 224,25$ μ mol/L và có 36,67% bệnh nhân có tăng acid uric. Theo Maryam Kohsari và cs (2020) [7], khi nghiên cứu trên 33 bệnh nhân ĐUTX giai đoạn 1, nồng độ acid uric trung bình là $6,2 \pm 1,27$ mg/dl ($368,9 \pm 102,34$ μ mol/L).

Bảng 3 cho thấy nhóm bệnh nhân có tăng hoạt độ AST và ALT đều là 16,67%. Như vậy tỷ lệ bệnh nhân có tăng hoạt độ AST và ALT không cao. Theo Bibek Poudel và cs (2012) [8], khi nghiên cứu trên 37 bệnh nhân được chẩn đoán ĐUTX có 59,45% trường hợp tăng hoạt độ AST và 64,86% trường hợp tăng hoạt độ ALT với giá trị trung bình của AST và ALT lần lượt là $65,5 \pm 28,18$ U/L và $68,37 \pm 29,74$ U/L.

4.2. Tương quan giữa nồng độ $\beta 2M$ máu với một số chỉ số máu ở nhóm nghiên cứu

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ $\beta 2M$ có tương thuận mức độ rất chặt với nồng độ creatinin, urê và acid uric máu với hệ số tương quan r lần lượt là 0,84; 0,8 và 0,57 ($n=30$, $p < 0,001$).

Tác giả Davide Rossi (2010) [9], khi nghiên cứu trên 148 bệnh nhân ĐUTX không triệu chứng cho thấy nồng độ $\beta 2M$ máu có sự tương quan chặt chẽ với nồng độ creatinin huyết thanh (Spearman $r = 0.529$; $P < 0,001$).

Tác giả Dorina P (2010) [10], nghiên cứu trên 44 bệnh nhân ĐUTX cho thấy nồng độ β 2M máu có sự tương quan chặt chẽ với nồng độ creatinin huyết thanh (creatinin > 1,5 mg/L) với hệ số tương quan r là 0,63.

Bảng 4 trong kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ β 2M máu ở nhóm có tổn thương thận cao hơn nhóm bệnh nhân không có tổn thương thận, Như vậy, ở nhóm bệnh nhân ĐUTX sự tăng nồng độ β 2M máu là do sự tăng sinh tế bào ác tính và các biến chứng thận kèm theo.

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 30 bệnh nhân ĐUTX và 30 người khỏe mạnh, chúng tôi thấy nồng độ β 2M máu nhóm ĐUTX cao hơn nhóm đối chứng một cách rất rõ rệt ($p < 0,001$); nồng độ urê máu nhóm ĐUTX cao hơn nhóm đối chứng ($p < 0,05$). Nồng độ β 2M tương quan thuận mức độ rất chặt với nồng độ creatinin, nồng độ urê và nồng độ acid uric ($n=30$, $p<0,001$).

TÀI LIỆU KHAM KHẢO

1. World Health Organization. (2021), World GLOBOCAN 2020.
2. Ortega, F., Gonzalez, M., Moro, MJ, Gascon, A., Duarte, I., Martin, M., ... & Sanz, M. (1992), "Prognostic effect of beta 2-microglobulin in multiple myeloma", *Medicina clinica*, 99(17), 645-648.
3. Avilés, A., Zepeda, G., Guzmán, R., Talavera, A., García, E. L., & Díaz-Maqueo, J. C. (1992), "Prognostic importance of beta-2-microglobulin in multiple myeloma", *Revista de investigacion*

clinica; organo del Hospital de Enfermedades de la Nutricion, 44(2), 215-220.

4. Chow, C. C., Mo, K. L., Chan, C. K., Lo, H. K., Wong, K. S., & Chan, J. C. (2003), "Renal impairment in patients with multiple myeloma", *Hong Kong Medical Journal*, 9(2), 78-82.
5. Saydam, G., Sahin, F., & Kiper, H. D. (2011), "Renal Disease in Multiple Myeloma", *MULTIPLE MYELOMA-AN OVERVIEW*, 219.
6. Suzanne MCB Thanh Thanh (2011), "Nghiên cứu đặc điểm cận lâm sàng của bệnh nhân Đa u tủy xương tại khoa Huyết học bệnh viện Chợ Rẫy", *Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh*, 15(4), tr 259-266.
7. Kohsari M, Ansari, M. H. K, & Rasmi, Y. (2020), "Serum Level of Xanthine Oxidase, Uric Acid, and NADPH Oxidase 1 in Stage I of Multiple Myeloma", *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention: APJCP*, 21(8), 2237.
8. Poudel, B., Mittal, A., Shrestha, R., Farooqui, M. S., Yadav, N. K., & Shukla, P. S. (2012), "Liver involvement in multiple myeloma: a hospital based retrospective study", *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 13(5), 2153-2155.
9. Rossi, D., Fangazio, M., De Paoli, L., Puma, A., Riccomagno, P., Pinto, V., ... & Gaidano, G. (2010), "Beta-2-microglobulin is an independent predictor of progression in asymptomatic multiple myeloma", *Cancer*, 116(9), 2188-2200.
10. Dorina P., Oltean G., Smaranda D., et al. (2010), "Beta2-microglobulin as Prognostic Marker in Multiple Myelom", *Petra Dorina et al*, 229-232.

CHỈ SỐ TỶ SỐ AST TRÊN TIỂU CẦU (ASPARTAT AMINOTRANSFERASE TO PLATELET RATIO INDEX) Ở BỆNH NHÂN XƠ GAN

Nguyễn Thị Hoa¹, Tiêu Thị Vân Hạnh²

TÓM TẮT¹⁰

Mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa chỉ số tỷ số AST trên tiểu cầu (APRI) với mức độ xơ gan và một số chỉ số hóa sinh ở bệnh nhân xơ gan. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang trên 113 bệnh nhân xơ gan nhập viện tại bệnh viện Đa khoa tỉnh Bắc Kạn từ tháng 6/2020-4/2021. **Kết quả:** Trong tổng số 113 bệnh nhân chủ yếu là nam giới (92,9%), độ tuổi 40-49 là chủ yếu (41,6%). Nguyên nhân gây xơ gan chủ yếu là do rượu chiếm 75,2%. Một số biểu hiện lâm sàng như cổ trướng (53,1%), vàng da (86,7%), lách to (43,4%), hội chứng não gan (4,4%). Mức độ xơ gan chủ yếu ở Child Pugh B (46,9%). Chỉ số APRI ở nhóm bệnh nhân xơ gan là $4,17 \pm 3,41$, ở nhóm người bình thường là $0,22 \pm 0,16$. Chỉ số tỷ số APRI ở nhóm bệnh nhân xơ gan theo Child Pugh A, B, C tương ứng là $3,24 \pm 2,78$; $4,17 \pm 2,97$ và $4,84 \pm 3,09$; chỉ số APRI ở nhóm bệnh nhân xơ gan Child Pugh C cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân xơ gan Child Pugh A ($p < 0,05$). **Kết luận:** Có sự tăng chỉ số APRI ở bệnh nhân xơ gan. Có mối tương quan có ý nghĩa giữa chỉ số APRI với mức độ xơ gan, nồng độ albumin, bilirubin_{TP} cũng như chỉ số INR.

Từ khóa: Chỉ số APRI, xơ gan, Child Pugh.

SUMMARY

ASPARTATE AMINOTRANSFERASE TO PLATELET RATIO INDEX IN CIRRHOSIS PATIENTS

Objective: 1) Analysis of the relationship between Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio Index and the degree of cirrhosis and some biochemistry test in cirrhosis patients Subject and method: A cross-sectional study of 113 cirrhosis in Bac Kan general hospital between June 2020 to April 2021. **Result:** A total of 113 patients were studied. The majority were males (92.9%) in the age group of 40 to 49 years (41.6%). The most common aetiological factor in this study was alcohol (75.2%). Of the clinical signs studied 53.1% had ascites, 86.7% had icterus, 43.4% had splenomegaly and 4.4% had hepatic encephalopathy. The majority of the patients were in Child Pugh class B (46.9%). The mean of APRI in cases and controls were 4.17 ± 3.41 and 0.22 ± 0.16 respectively. In Child Pugh class A, B, C the APRI were 3.24 ± 2.78 ; 4.17 ± 2.97 and 4.84 ± 3.09 respectively; The APRI in the Child Pugh class C cirrhotic was significantly higher than the Child Pugh class A ($p < 0.05$). **Conclusion:** The APRI tended to significantly increase in cirrhosis. A poorly significant correlation was found between the APRI and the severity of Cirrhosis, albumin, total bilirubin levels and INR.

Key word: APRI, cirrhosis, Child Pugh.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ gan hiện nay vẫn còn là một gánh nặng đối với sức khỏe toàn cầu, với số ca tử

¹Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên. Mail:

²Trung tâm bảo vệ sức khỏe tỉnh Bắc Kạn
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Hoa
Email: hoanguyenthithi74hstn@gmail.com

Ngày nhận bài: 27.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 30.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

vong trên một triệu ca mỗi năm. Việc điều trị xơ gan rất tốn kém và khó thực hiện được ở phần lớn những nước nghèo [6]. Ở các bệnh nhân xơ gan mất bù, ngoài ghép gan, các phương pháp điều trị khác hiệu quả kéo dài cuộc sống của bệnh nhân rất hạn chế. Trái lại, các biện pháp phòng ngừa xơ gan như sàng lọc nhiễm virus trong truyền máu, tiêm phòng vaccine viêm gan B, hạn chế uống rượu và phát hiện sớm xơ hóa gan để hạn chế tiến triển của bệnh là rất quan trọng.

Xơ hóa gan sẽ diễn tiến từ từ đến xơ gan. Mức độ xơ hóa gan rất có ý nghĩa trong dự đoán biến chứng và tử vong liên quan đến bệnh gan. Đánh giá mức độ xơ hóa gan rất cần thiết trong chỉ định điều trị, theo dõi và tiên lượng viêm gan mạn, góp phần quan trọng nhằm giảm tỷ lệ tiến triển đến xơ gan và ung thư gan [3].

Cho đến nay, sinh thiết gan vẫn được xem là tiêu chuẩn vàng để đánh giá xơ hóa gan và phân loại xơ hóa gan theo Metavir đang được sử dụng phổ biến nhất. Tuy nhiên, sinh thiết gan là phương pháp xâm nhập, có thể có biến chứng và có một số hạn chế. Do đó, các phương pháp đánh giá xơ hóa gan không xâm nhập trên thế giới ngày càng phát triển, đã và đang được áp dụng rộng rãi nhằm hạn chế nhu cầu sinh thiết gan. Các phương pháp này bao gồm các chỉ điểm sinh học và các phương pháp chẩn đoán hình ảnh mà chủ yếu là đo độ đàn hồi gan. Trong các chỉ điểm sinh học, chỉ số tỷ số AST trên tiểu cầu (The Aspartate aminotransferase to Platelet Ratio Index: APRI) có công thức tính đơn giản nhất và có độ chính xác tốt trong đánh giá xơ hóa gan và xơ gan [6].

Trên thế giới đã có những nghiên cứu về chỉ số APRI ở bệnh nhân xơ gan như nghiên cứu của tác giả Díaz và cs (2013) trên 62 bệnh nhân bệnh gan mạn tính gồm 26 bệnh nhân xơ hóa gan mức độ vừa, 28 bệnh nhân xơ hóa gan mức độ nặng và 8 bệnh nhân xơ gan, kết quả cho thấy tỷ số APRI có tương quan nghịch với nồng độ albumin và tương quan thuận với nồng độ bilirubin_{TP}, bilirubin_{LH} cũng như chỉ số INR [3]. Chỉ số APRI tăng dần theo mức độ nặng của xơ hóa gan cũng như bệnh nhân xơ gan. Để tìm hiểu mối liên quan giữa tỷ số chỉ số APRI với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân xơ gan, đề tài này được thực hiện với mục tiêu: *Phân tích mối liên quan giữa chỉ số APRI với mức độ xơ gan và một số chỉ số hóa sinh ở bệnh nhân xơ gan.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nhóm chứng: Gồm 50 người khỏe mạnh, bình thường đến khám sức khỏe định kỳ tại bệnh viện trường Đại học Y khoa Thái Nguyên. Đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

Nhóm xơ gan: Gồm 113 bệnh nhân xơ gan nhập viện tại bệnh viện Đa khoa tỉnh Bắc Kạn từ tháng 6/2020-4/2021.

* Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu

Nhóm bệnh nhân xơ gan:

- Hội chứng suy tế bào gan
- Hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa.
- Đồng ý tham gia vào nghiên cứu

* Tiêu chuẩn loại trừ:

Xơ gan ung thư hóa.

Mắc các bệnh lý kèm theo làm thay đổi albumin máu: suy dinh dưỡng, hội chứng thận hư, suy thận.

Suy tim, tâm phế mãn. Tiêu chảy kéo dài, đang có biểu hiện nhiễm trùng.

Bệnh nhân mắc các bệnh về máu ảnh hưởng đến số lượng tiểu cầu.

Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

*** Các tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu**

+ Hội chứng suy tế bào gan
Mệt mỏi, chán ăn.
Rối loạn tiêu hóa: chậm tiêu, đầy bụng, đau tức bụng.

Vàng da, củng mạc mắt vàng.

Sao mạch hoặc/và lòng bàn tay son.

Xuất huyết dưới da, niêm mạc tự nhiên hoặc sau va chạm/tiêm truyền hoặc xuất huyết nội tạng.

Phù hai chi dưới hoặc toàn thân, phù trắng, phù mềm, ấn lõm.

Gan có thể to hoặc teo nhỏ.

Xét nghiệm máu: Albumin giảm, globulin trong máu tăng, tỷ lệ A/G đảo ngược, bilirubin tăng, AST tăng, ALT tăng, thời gian prothrombin kéo dài.

+ Hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa

Cổ trướng tự do, dịch thẩm.

Tuần hoàn bàng hệ cửa-chủ hoặc chủ - chủ.

Siêu âm: Gan thô, đường bờ không đều, lách to. Đường kính tĩnh mạch cửa >12mm.

Nội soi: giãn tĩnh mạch thực quản, dạ dày

+ Chẩn đoán giai đoạn xơ gan theo thang điểm của Child-Pugh.

Bảng 2.1. Cách tính điểm của Child-pugh

Tiêu chuẩn để đánh giá	1 điểm	2 điểm	3 điểm
- Bilirubin huyết tương ($\mu\text{mol/L}$)	<35	35 – 50	> 50
- Albumin huyết tương (g/L)	>35	28-35	<28
- Prothrombin (%)	>60	40-60	<40
- Ý thức	Tỉnh	Lơ mơ	Hôn mê
- Cổ chướng	Không	Nhẹ	Vừa

Child-Pugh A: 5-6 điểm, tiên lượng tốt.

Child-Pugh B: 7-9 điểm, tiên lượng dè dặt.

Child-Pugh C: ≥ 10 điểm, tiên lượng xấu.

2.2. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 6/2020-4/2021

2.3. Địa điểm nghiên cứu

Khoa Nội, Khoa Sinh hóa, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Bắc Kạn.

Bộ môn Sinh hóa, trường Đại học Y Dược Thái Nguyên.

2.4. Phương pháp nghiên cứu

Mô tả cắt ngang

2.5. Thiết bị nghiên cứu

Máy xét nghiệm sinh hóa tự động OLYMPUS AU 480, 640

Hóa chất do hãng BECKMAN COULTER cung cấp

2.6. Chỉ tiêu nghiên cứu

- Định lượng nồng độ protein, albumin, tỷ số A/G.

- Hoạt độ enzym AST, ALT, GGT.

- Nồng độ bilirubin_{TP}.

- Thời gian prothrombin.

- Tỷ số APRI được xây dựng bởi nghiên cứu của Wai CT và cs (2003) thuộc nhóm Anna Lok tại trường đại học Ann Arbor của Hoa Kỳ như sau:

$$APRI = (AST/ULN)/số\ lượng\ tiểu\ cầu \times 100$$

(ULN là giới hạn trên của giá trị bình thường của AST: upper limit of normal AST, lấy theo hằng số sinh học người bình thường

là 40U/L/37⁰C).

- Chỉ tiêu lâm sàng: Tuổi, giới, ý thức. Khám bụng, khám da, niêm mạc.

2.7. Kỹ thuật thu thập số liệu

Thu thập số liệu theo mẫu bệnh án.

2.8. Phương pháp xử lý số liệu

Theo phương pháp thống kê y học

2.9. Đạo đức trong nghiên cứu: Được tuân thủ đạo đức trong nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm lâm sàng, phân loại xơ gan theo thang điểm Child-Pugh

Chỉ số	$\bar{X} \pm SD$	n (%)
Tuổi (năm)		
- 40-49	50,8±9,0	47 (41,6)
- ≥ 50		67 (58,4)
Giới		
- Nam		105 (92,9)
- Nữ		8 (7,1)
Nguyên nhân gây xơ gan		
- Do rượu		85 (75,2)
- Do viêm gan B, C		31 (27,4)
- Do rượu và viêm gan		11 (9,7)
Biểu hiện lâm sàng:		
- Cổ trướng		60 (53,1)
- Vàng da		80 (86,7)
- Lách to		49 (43,4)
- Hội chứng não gan		5 (4,4)
Phân loại theo Child-Pugh		
Child-Pugh A: n (%)		28 (24,8)
Child-Pugh B: n (%)		32 (46,9)
Child-Pugh C: n (%)		53 (28,3)

Nhận xét: Bệnh nhân nam chiếm chủ yếu 92,9%, độ tuổi chủ yếu từ 40-49 tuổi chiếm 41,6%. Nguyên nhân gây xơ gan chủ yếu là do rượu chiếm 75,2%, tỷ lệ bệnh nhân có biểu hiện cổ trướng chiếm 53,1%, vàng da chiếm 86,7%, lách to chiếm 43,4%. Mức độ xơ gan chủ yếu ở Child Pugh B chiếm 46,9%.

Bảng 3.2. Chỉ số APRI và một số chỉ số hóa sinh ở bệnh nhân xơ gan

Chỉ số \ Nhóm NC	Xơ gan (n=113)	Nhóm chứng (n=50)	p
APRI	4,17±3,41	0,22±0,16	<0,001
AST (U/L)	171,1±66,4	20,5±7,9	<0,001
ALT (U/L)	84,7±60,0	24,5±6,8	<0,001
GGT (U/L)	298,4±320,7	22,3±12,2	<0,001
Tiểu cầu (G/L)	106,5±34,5	211,7±51,9	<0,001
Bilirubin _{TP} (μmol/L)	66,0±88,5	-	
Protein _{TP} (g/L)	69,0±9,0	-	
Albumin (g/L)	29,6±6,7	-	
A/G	0,82±0,34	-	
Prothrombin	(%)	59,1±21,4	-
	s	20,6±5,6	-

Nhận xét: Tỷ số APRI và hoạt độ một số enzym đánh giá tổn thương hủy hoại tế bào gan và số lượng tiểu cầu ở nhóm bệnh nhân xơ gan cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng là người bình thường, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,001$. Nồng độ một số chỉ số hóa sinh khác cho thấy có tình trạng

suy giảm chức năng gan như giảm nồng độ albumin, tăng nồng độ bilirubin_{TP} cũng như nồng độ bilirubin_{LH}, tăng hoạt độ enzym AST, ALT, GGT, thời gian đông máu kéo dài. Một số chỉ số khác như protein_{TP}, creatinin và một số điện giải trong giới hạn bình thường.

Bảng 3.3. Chỉ số APRI và một số chỉ số hóa sinh khác ở bệnh nhân xơ gan theo thang điểm Child-Pugh

Chỉ số	Child-Pugh A (n=28) (1)	Child-Pugh B (n=53) (2)	Child-Pugh C (n=32) (3)	p
APRI	3,24±2,78	4,17±2,97	4,84±3,09	(1,2)>0,05 (1,3)<0,05 (2,3)>0,05
Tiểu cầu (G/L)	123,7±22,6	108,2±37,7	91,6±30,9	(1,2)<0,05 (1,3)<0,05 (2,3)<0,05
AST (U/L)	175,9±228,9	165,5±162,9	172,8±99,5	>0,05
ALT (U/L)	86,2±78,9	91,0±97,7	73,0±45,2	>0,05
GGT (U/L)	342,9±394,5	289,2±315,8	274,8±257,6	>0,05
Bilirubin _{TP} (μmol/L)	22,4±9,9	48,1±65,1	133,1±119,1	(1,2)<0,05 (1,3)<0,05 (2,3)<0,05

Chỉ số	Child-Pugh A (n=28) (1)	Child-Pugh B (n=53) (2)	Child-Pugh C (n=32) (3)	p
Protein _{TP} (g/L)	69,3±7,5	68,8±9,7	68,9±9,1	>0,05
Albumin (g/L)	35,9±4,2	29,6±5,8	23,9±4,5	(1,2)<0,01 (1,3)<0,01 (2,3)<0,01
Prothrombin (%)	76,5±22,4	62,0±14,9	39,2±11,7	(1,2)<0,01 (1,3)<0,01 (2,3)<0,01

Nhận xét: Chỉ số APRI tăng dần, số lượng tiểu cầu giảm dần theo thang điểm Child Pugh. Ở nhóm bệnh nhân xơ gan Child-Pugh C tỷ số APRI cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân xơ gan Child-Pugh A ($p<0,05$). Theo thang điểm Child Pugh, nồng độ bilirubin_{TP} huyết tương tăng dần, nồng độ

albumin huyết tương giảm dần, thời gian đông máu kéo dài dần, với sự khác biệt giữa các thang điểm có ý nghĩa thống kê. Hoạt độ enzyme ALT, AST, GGT và nồng độ protein_{TP} không có sự khác biệt giữa các nhóm theo thang điểm Child Pugh.

Bảng 3.4. Mối tương quan chỉ số APRI với một số chỉ số hóa sinh ở bệnh nhân xơ gan

Chỉ số	n	r	p	Tương quan
Albumin	113	-0,25	<0,05	Nghịch (mức độ yếu)
Bilirubin _{TP}	113	0,29	<0,05	Thuận (mức độ yếu)
INR	113	0,24	<0,05	Nghịch (mức độ yếu)
Điểm Child-Pugh	113	0,21	<0,05	Thuận (mức độ yếu)

Nhận xét: Nồng độ bilirubin_{TP}, chỉ số INR và điểm Child Pugh có mối tương quan thuận mức độ yếu với chỉ số APRI, có mối tương quan nghịch, mức độ yếu giữa nồng độ albumin huyết với chỉ số APRI.

IV. BÀN LUẬN

Về một số đặc điểm chung ở bệnh nhân xơ gan, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nam giới chiếm ưu thế với 92,9% so với 7,1%. Kết quả nghiên cứu của tác giả Võ Thị Minh Đức tỷ lệ này là 86,3% so với 13,7% [1]; kết quả nghiên cứu của tác giả Trần Thị Khánh Tường ở 119 bệnh nhân viêm gan mạn thì tỷ lệ nam/nữ là 1/9 [2]. Nghiên cứu của tác giả Ramachandran (2014) trên 74 bệnh nhân xơ gan cũng cho thấy tỷ lệ nam chiếm đa số (77%) [7]. Nguyên nhân gây xơ

gan trong nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu do rượu chiếm 75,2%, do viêm gan B, C là 27,4%. Tỷ lệ xơ gan do rượu, do viêm gan B,C và do nguyên nhân khác trong nghiên cứu của Ramachandran tương ứng là 14%, 45%; 42% [7].

Về chỉ số APRI, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ở nhóm bệnh nhân xơ gan là $4,17\pm3,41$; cao hơn có ý nghĩa so với nhóm người bình thường là $0,22\pm0,16$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p<0,001$.

Nghiên cứu của tác giả Princi Jain (2015)

trên 51 bệnh nhân xơ gan và 50 người bình thường, kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ số APRI tương ứng là $2,178 \pm 1,224$ ở nhóm bệnh nhân xơ gan và $0,364 \pm 0,137$ ở người bình thường, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,001$ [6]. Chỉ số APRI trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của tác giả Princi Jain có thể do tỷ lệ bệnh nhân xơ gan trong nghiên cứu của chúng tôi chủ yếu ở mức độ Child-Pugh B và Child-Pugh C (chiếm 74,2%), mức độ tổn thương hủy hoại tế bào gan (hoạt độ AST huyết tương) trong nghiên cứu của chúng tôi cũng cao hơn so với nghiên cứu của tác giả Princi Jain ($171,1 \pm 66,4$ U/L so với $73,38 \pm 36,93$ U/L) nên có sự khác biệt này [6].

Tác giả Loaeza-del-Castillo (2008) đã nghiên cứu về chỉ số APRI ở 164 bệnh nhân xơ hóa gan do viêm gan virus C mạn tính, kết quả nghiên cứu cho thấy chỉ số APRI tăng dần theo mức độ xơ hóa gan tương ứng chỉ số này là 0,39 giai đoạn 0; 0,51 giai đoạn 1; 0,55 giai đoạn 2; 0,75 giai đoạn 3 và 1,64 giai đoạn 4, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,001$ [5].

Tác giả Forestier (2010) đã nghiên cứu về chỉ số APRI ở 296 bệnh nhân bệnh gan mạn tính gồm 142 bệnh nhân xơ gan và 154 bệnh nhân không xơ gan, kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ một số chỉ số ở nhóm bệnh nhân xơ gan như số lượng tiểu cầu thấp hơn, thời gian đông máu kéo dài hơn, nồng độ albumin huyết tương thấp hơn so với nhóm bệnh nhân không xơ gan. Chỉ số APRI trung bình ở nhóm bệnh nhân xơ gan là 1,33 (trong khoảng từ 0,12-10,02), ở nhóm không xơ gan là 0,43 (trong khoảng từ 0 -1,68), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,0001$.

Về mối tương quan chỉ số APRI với một số chỉ số hóa sinh ở bệnh nhân xơ gan, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chỉ số APRI có tương quan nghịch mức độ ít với nồng độ albumin, tương quan thuận mức độ ít với nồng độ bilirubin_{TP}, chỉ số INR cũng như thang điểm Child Pugh. Kết quả nghiên cứu của tác giả Forestier cho thấy chỉ số APRI có tương quan yếu với thang điểm Child-Pugh ($r=0,313$; $p < 0,05$) [4].

Tác giả Trần Thị Khánh Tường đã nghiên cứu về chỉ số APRRI và xung lực âm xạ (ARFI) để xác định vai trò đánh giá xơ hóa gan bằng ARFI, APRI và sự phối hợp 2 phương pháp này trong bệnh gan mạn trên 119 bệnh nhân bệnh gan mạn tính. Tất cả bệnh nhân được sinh thiết gan để đánh giá xơ hóa gan, đo độ đàn hồi bằng ARFI và tính APRI. Giá trị ngưỡng được xác định bởi đường cong ROC. Độ nhạy, độ đặc hiệu được tính toán và so sánh theo giá trị ngưỡng tương ứng. Kết quả nghiên cứu cho thấy ARFI và APRI tương quan thuận với giai đoạn của xơ hóa gan ARFI, phối hợp với APRI có độ đặc hiệu và giá trị dự đoán dương cao hơn ARFI hay APRI đơn độc trong đánh giá xơ hóa đáng kể và nặng [2].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, chỉ số APRI tăng dần theo mức độ xơ gan, cao nhất ở nhóm bệnh nhân xơ gan Child-Pugh C, cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân xơ gan Child-Pugh A ($4,84 \pm 3,09$ so với $3,24 \pm 2,78$, $p < 0,05$). Hạn chế của nghiên cứu này là chẩn đoán xơ gan bằng hình ảnh siêu âm chứ không có kết quả sinh thiết gan và nhóm chứng là người khỏe mạnh bình thường. Tuy nhiên, trong điều kiện cơ sở y tế chưa thực hiện được kỹ thuật

sinh thiết gan thì việc tính toán chỉ số APRI được thực hiện có ý nghĩa để tiên lượng mức độ xơ gan.

V. KẾT LUẬN

Có sự tăng chỉ số APRI ở bệnh nhân xơ gan. Chỉ số này tăng dần theo mức độ xơ gan.

Có mối tương quan mức độ yếu có ý nghĩa giữa chỉ số APRI với mức độ xơ gan, nồng độ albumin, bilirubin_{TP} cũng như chỉ số INR.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Võ Thị Minh Đức (2017)**, “Nghiên cứu giá trị của chỉ số MELD trong tiên lượng bệnh nhân xơ gan mất bù CHILD PUGH C”, Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Dược Huế, 79 trang.
2. **Trần Thị Khánh Tường, Hoàng Trọng Thắng (2015)**, “Đánh giá xơ hóa gan bằng kỹ thuật ghi hình xung lực xạ âm và chỉ số tỷ lệ aspartate aminotransferase trên tiểu cầu trong bệnh gan mạn”, Tạp chí Y Dược học - Trường Đại học Y Dược Huế, Số 25, trang 58-70.
3. **Diaz J, et al (2013)**, “Aspartate Aminotransferase to Platelet Ratio Index Correlates With Hepatic Cirrhosis but Not With Fibrosis in Pediatric Patients With Intestinal Failure”, Journal Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition, 57 (3), pp. 367-371.
4. **Forestier J, Dumortier J, Guillaud O, et al (2010)** “Noninvasive diagnosis and prognosis of liver cirrhosis: a comparison of biological scores, elastometry and metabolic liver function tests”, European Journal of Gastroenterology & Hepatology
5. **Loaeza-del-Castillo A, et al (2008)** “AST to platelet ratio index (APRI) for the noninvasive evaluation of liver fibrosis”, Annals of Hepatology, 7(4), pp. 350-357.
6. **Princi Jain, et al (2015)**, “Evaluation of Aspartate Aminotransferase-toPlatelet Ratio Index as a Non-Invasive Marker for Liver Cirrhosis”, Journal of Clinical and Diagnostic Research, 9 (11): OC22-OC24.
7. **Ramachandran J, Sajith KG, Priya S, et al. (2014)**, "Serum cholinesterase is an excellent biomarker of liver cirrhosis", Trop Gastroenterol, 35 (1), pp. 15-20.
8. **Vipin Verma¹, Shiv Kumar Sarin, Praveen Sharma⁴and Ashish Kumar (2014)**, “Correlation of aspartate aminotransferase/platelet ratio index with hepatic venous pressure gradient in cirrhosis”, United European Gastroenterology Journal, 2(3), pp. 226-231.

SO SÁNH GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN CỦA CÁC THANG ĐIỂM KẾT HỢP AFP, AFP-L3 VÀ DCP

Trần Thị Thu Thảo^{***}, Nguyễn Hữu Huy*,
Lê Minh Khôi^{**}, Nguyễn Thị Băng Sương^{**},
Nguyễn Hoàng Bắc^{**}

TÓM TẮT

Mở đầu: Ung thư biểu mô tế bào gan (Hepatocellular carcinomas HCC - UTBMTBG) là bệnh lý gan nguyên phát ác tính phổ biến nhất và là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong do ung thư trên toàn thế giới. Chỉ số GALAD là một mô hình thống kê ước tính khả năng mắc HCC ở những bệnh nhân mắc bệnh gan mãn tính.

Mục tiêu: Đánh giá giá trị lâm sàng của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3 và DCP trong chẩn đoán HCC.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 170 bệnh nhân bị HCC, 170 bệnh nhân bị viêm gan mạn tính (BGM), chúng tôi đã so sánh giá trị các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3 và DCP bằng phương pháp phân tích đường cong ROC và tính diện tích dưới đường cong.

Kết quả: Độ nhạy và độ đặc hiệu của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3 và DCP tỏ ra vượt trội so với các chỉ dấu đơn lẻ trong chẩn đoán HCC. Thang điểm GALADUS có hiệu quả cao nhất trong chẩn đoán UTBMTBG và BGM.

Kết luận: Vai trò của các thang điểm AFP, AFP-L3 và DCP trong chẩn đoán HCC và sự

vượt trội so với các chỉ dấu ung thư đơn lẻ đã được chứng minh. Sự kết hợp giữa thang điểm GALAD và siêu âm (GALADUS) đã nâng cao hiệu quả của thang điểm GALAD.

Từ khóa: AFP, AFP-L3%, DCP, HCC, GALADUS

SUMMARY

COMPARISON COMBINATION MODELS OF AFP, AFP-L3, AND DCP FOR HEPATOCELLULAR CARCINOMA DIAGNOSIS

Introduction: Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common primary hepatic malignancy and one of the leading causes of cancer-related death worldwide. The GALAD score is a statistical model for estimating the likelihood of HCC in patients with chronic liver disease.

Objective: The goal of this study was to evaluate the clinical value of combination models of AFP, AFP-L3%, and DCP for hepatocellular carcinoma detection.

Patients and Methods: In 170 patients with HCC, 170 patients with chronic liver disease (CLD), we compared the performance of combination models of AFP, AFP-L3%, and DCP to identify patients with HCC using receiver operating characteristic curves and corresponding area under the curve (AUC) analyses.

Results: Combination models were superior to AFP, AFP-L3% and DCP for HCC diagnosis.

* Đại học Y Dược TP. HCM.

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

*** Đại học Y Dược Cần Thơ

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Băng Sương
Email: suongnguyenmd@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

The GALADUS score achieved the best performance for discrimination of HCC from CLD

Conclusions: The usefulness of combination models of AFP, AFP-L3%, and DCP in HCC diagnosis and its superiority to single tumor markers were shown. The combination of GALAD and ultrasound (GALADUS score) further improved the performance of the GALAD score.

Keywords: AFP, AFP-L3%, DCP, HCC, GALADUS

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư biểu mô tế bào gan (hepatocellular carcinoma: HCC - UTBMTBG) là bệnh ác tính, cùng với tỷ lệ tử vong cao và số người mắc mới hàng năm ngày càng tăng, đặc biệt ở các quốc gia đang phát triển. Theo GLOBOCAN 2020, Việt Nam có thêm 26.418 người mắc ung thư gan và 25.272 người tử vong vì ung thư gan [8]. Tiên lượng của UTBMTBG phụ thuộc vào chức năng gan, tình trạng di căn, số lượng và kích thước khối u gan, phương pháp điều trị. Những tiến bộ đáng kể thu được trong chẩn đoán và điều trị UTBMTBG hiện nay tập trung chủ yếu ở bệnh nhân có khối u ở giai đoạn sớm vì thế 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 Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan của Bộ Y tế năm 2020 đã sử dụng bộ ba xét nghiệm gồm AFP, AFP-L3 và DCP để tầm soát UTBMTBG.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu khẳng định vai trò của sự kết hợp của bộ 3 các dấu ấn huyết thanh AFP, AFP-L3 và DCP [2], [9]. 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. Nhiều tác giả trên thế giới đã chứng minh rằng việc sử dụng mô hình GALAD rõ ràng tốt hơn so với sử dụng các dấu ấn sinh học riêng biệt với mục đích phát hiện khối u ở giai đoạn 0-A (giai đoạn sớm theo Barcelona). Bên cạnh GALAD còn có các thang điểm khác được xây dựng trên bộ ba AFP, AFP-L3 và DCP như GALADUS, GALAC-C, GAAP nhằm nâng cao độ nhạy và độ đặc hiệu [1], [7], [10]. Cho đến thời điểm hiện tại chúng tôi nhận thấy rằng ở Việt Nam có rất ít công trình nghiên cứu về vai trò của bộ 3 dấu ấn khối u, đặc biệt việc sử dụng mô hình phối hợp 3 dấu ấn khối u trong việc chẩn đoán UTBMTBG nguyên phát.

Xuất phát từ thực tế đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “So sánh giá trị chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3 và DCP”

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 AFP, AFP-L3% và DCP

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.

Tính toán thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3 và DCP

$GALAD = -10.08 + 1.67 \times (\text{giới tính nam} = 1 \text{ và giới tính nữ} = 0) + 0.09 \times \text{Tuổi} + 0.04 \times [AFP-L3\%] + 2.34 \times \log_{10} [AFP] + 1.33 \times \log_{10} [DCP]$.

$GALAD-C = -11.501 + 0.733 \times (\text{giới tính nam} = 1 \text{ và giới tính nữ} = 0) + 0.099 \times \text{Tuổi} + 0.073 \times [AFP-L3\%] + 0.840 \times \log_{10} [AFP] + 2.364 \times \log_{10} [DCP]$.

$GAAP = -11.203 + 0.699 \times (\text{giới tính nam} = 1 \text{ và giới tính nữ} = 0) + 0.094 \times \text{Tuổi}$

$+ 1.076 \times \log_{10} [AFP] + 2.376 \times \log_{10} [DCP]$ [7].

$GALADUS = -12.79 + 0.09 \times \text{Tuổi} + 1.74 \times (\text{giới tính nam} = 1 \text{ và giới tính nữ} = 0) + 2.44 \times \log_{10}(AFP) + 0.04 \times AFP-L3 + 1.39 \times \log_{10}(DCP) + 3.56 \times (\text{siêu âm dương tính} = 1 \text{ và siêu âm âm tính} = 0)$. [10]

AFP + DCP: $y = -5.09676 + 1.19356 \times \text{Log AFP} + 1.81397 \times \text{Log DCP}$ [3]

Xử lý và phân tích số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS version 20.0 cho các phân tích thống kê. Biến định tính được biểu diễn ở dạng tỉ lệ phần trăm. Biến liên tục được biểu diễn ở dạng trung vị và khoảng tứ phân vị. So sánh tỉ lệ bằng phép kiểm chi bình phương. So sánh trung vị của biến liên tục của 2 nhóm bằng phép kiểm MannWhitney. Vẽ đường cong ROC để tìm diện tích dưới đường cong, xác định độ nhạy và độ đặc hiệu.

Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu

Nghiên cứu đã được chấp thuận của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Đại học Y Dược TP.HCM (số 295/ĐHYD-HĐĐĐ ngày 16/08/2018)

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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, $p < 0,0001$. Ở nhóm BGM, phân bố theo nhóm tuổi <50 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (64.1%), trong khi đó ở nhóm UTBMTBG nhóm 50-70 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (68.8%).

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 ($p < 0.001$).

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	12,4
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: 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%).

3. Kết quả về nồng độ AFP, AFP-L3, DCP và các thang điểm kết hợp ở các nhóm nghiên cứu

Bảng 4. Nồng độ AFP, AFP-L3, DCP và các thang điểm kết hợp 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

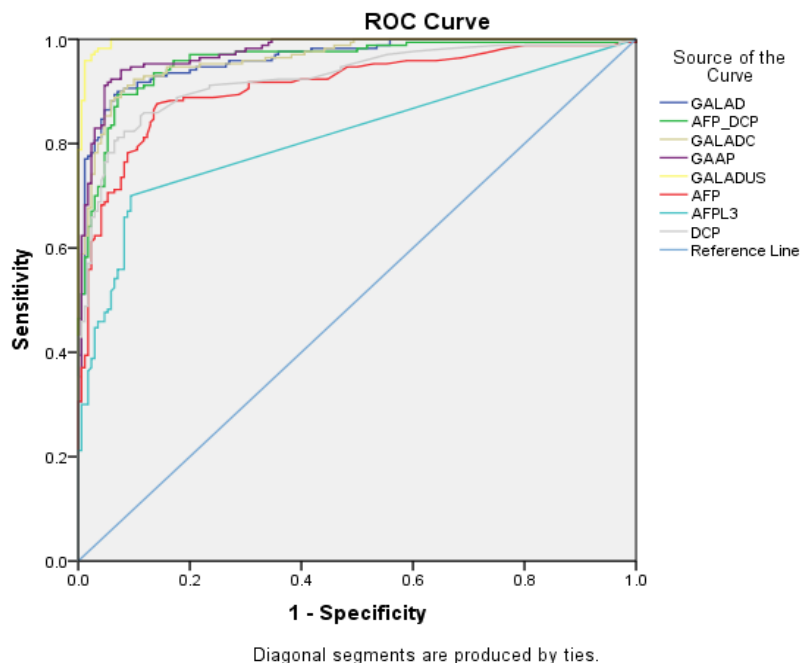
	Nhóm UTBMTBG (n = 170)	Nhóm BGM (n = 170)	Giá trị p
DCP* (mAU/mL)	206,94 (42– 3790)	16 (12,75 – 20)	< 0,0001
AFP + DCP	-0,99 (-2,067 – 1,13)	-3,54 (-3,83 – (-3,32))	< 0,0001
GALAD	4,10 (2,02 – 8,30)	-2,55 (-3,99 – (-1,31))	< 0,0001
GALAD-C	3,28 (0,79 – 8,10)	-3,40 (-4,67 – (-2,17))	< 0,0001
GAAP	2,50 (0,42 – 5,92)	-3,86 (-5,09 – (-2,75))	< 0,0001
GALADUS	5,26 (3,14 – 9,57)	-5,13 (-6,57 – (-3,91))	< 0,0001

Kiểm định MannWhitney

*trung vị (khoảng tứ phân vị)

Nhận xét: Kết quả phân tích cho thấy nồng độ trung vị AFP, AFP-L3, DCP và các thang điểm kết hợp ở nhóm UTBMTBG cao hơn hẳn nhóm BGM ($p < 0,0001$).

4. Giá trị chẩn đoán UTBMTBG của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3, DCP



Hình 1. Đường cong ROC của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3, DCP để phân biệt giữa UTBMTBG và BGM

Nhận xét: Diện tích dưới đường cong ROC của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3, DCP đều lớn hơn 0,95 cho thấy các thang điểm này rất có giá trị trong việc phát hiện UTBMTBG trên bệnh nhân viêm gan mạn.

Bảng 5. Giá trị chẩn đoán phân biệt giữa UTBMTBG và BGM của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3, DCP

Thang điểm	AUC (95% CI)	Ngưỡng cắt	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
AFP + DCP	0,957 (0,937 – 0,978)	-2,70	89,4%	92,9%
GALAD	0,962 (0,944 – 0,981)	0,7	90%	92,9%
GALAD-C	0,962 (0,944 – 0,980)	-0,99	91,2%	91,2%
GAAP	0,974 (0,959 – 0,988)	-1,63	94,1%	92,3%
GALADUS	0,997 (0,994 – 1)	-0,97	97,6%	97%

Nhận xét: Khi so sánh giá trị chẩn đoán của các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3, DCP thì GALADUS có giá trị trong việc phát hiện UTBMTBG cao hơn hẳn.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân UTBMTBG phổ biến nhất trong độ tuổi 50-70 tuổi (64.1%), tuổi trung bình 59.8 ± 11.3 phù hợp với nghiên cứu Thái Doãn Kỳ và cộng sự (2015) là 55.2%, tuổi trung bình 56.4 ± 11.7 [5]; Hann HW. et al (2014) 59.1 ± 10.3 [4]. Nhóm BGM có tuổi trung bình là 44 ± 12 cũng phù hợp với nghiên cứu các tác giả trên. Chúng tôi nhận thấy tuổi trung bình và tỷ lệ phân bố nhóm tuổi 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. 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%) [4].

Về đặc điểm khối u thì 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 $< 5\text{cm}$ (62,22%) [6]. 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 $> 5\text{cm}$ (87,6%) [5]. Chúng tôi nhận thấy việc phát hiện khối u gan ở giai đoạn sớm khi kích thước khối u $< 5\text{cm}$ 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.

Về kết quả các thang điểm kết hợp AFP, AFP-L3, DCP ở nhóm UTBMTBG và nhóm BGM có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Best và cộng sự (2020) 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].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy thang điểm GALADUS (ngưỡng cắt –

0,97, độ nhạy 97,6%, độ đặc hiệu 97%) có độ nhạy và đặc hiệu cao nhất phù hợp với nghiên cứu của tác giả Yang JD và cộng sự (2019) cho thấy thang điểm GALADUS (ngưỡng cắt -0.18, độ nhạy 95%, độ đặc hiệu 91%) có độ chính xác cao hơn thang điểm GALAD (ngưỡng cắt -1.18, độ nhạy 92%, độ đặc hiệu 79%) trong chẩn đoán sớm HCC [10].

V. KẾT LUẬN

Vai trò của các thang điểm AFP, AFP-L3 và DCP trong chẩn đoán HCC và sự vượt trội so với các chỉ dấu ung thư đơn lẻ đã được chứng minh. Sự kết hợp giữa thang điểm GALAD và siêu âm (GALADUS) đã nâng cao hiệu quả của thang điểm GALAD.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Best, Jan, et al. (2020)**, "GALAD score detects early hepatocellular carcinoma in an international cohort of patients with nonalcoholic steatohepatitis", *Clinical gastroenterology and hepatology*. 18(3), pp. 728-735. e4.
2. **Caviglia, Gian Paolo, 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), pp. E130-E135.
3. **Caviglia, Gian Paolo, et al. (2020)**, "Alpha-Fetoprotein, Protein Induced by Vitamin K Absence or Antagonist II and Glypican-3 for the Detection and Prediction of Hepatocellular Carcinoma in Patients with Cirrhosis of Viral Etiology", *Cancers*. 12(11), p. 3218.
4. **Hann, Hie-Won, et al. (2014)**, "Usefulness of highly sensitive AFP-L3 and DCP in surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with a normal Alpha-Fetoprotein".
5. **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.
6. **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.
7. **Liu, Miaoxia, et al. (2020)**, "Validation of the GALAD Model and Establishment of GAAP Model for Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma in Chinese Patients", *Journal of Hepatocellular Carcinoma*. 7, p. 219.
8. **Sung, Hyuna, et al. (2021)**, "Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries", *CA: a cancer journal for clinicians*. 71(3), pp. 209-249.
9. **Wang, Xueying, et al. (2020)**, "Evaluation of the combined application of AFP, AFP-L3%, and DCP for hepatocellular carcinoma diagnosis: A Meta-analysis", *BioMed research international*. 2020.
10. **Yang, Ju Dong, 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), pp. 531-538.

XÁC ĐỊNH NỒNG ĐỘ HBcrAg HUYẾT TƯƠNG THEO CÁC GIAI ĐOẠN CỦA VIÊM GAN B MẠN TÍNH

Trịnh Thị Quế¹, Phan Thanh Nguyên¹, Triệu Thùy Anh¹,
Vũ Anh Tuấn¹, Hoàng Văn Thanh¹, Bùi Văn Thường¹,
Phạm Thiện Ngọc²

TÓM TẮT

Xét nghiệm HBcrAg (Hepatitis B core-related Antigen) phản ánh nồng độ cccDNA trong tế bào gan tương đương tổng các kháng nguyên HBeAg, HBcAg và kháng nguyên P22cr. **Mục tiêu:** Khảo sát nồng độ HBcrAg huyết tương theo các giai đoạn của bệnh viêm gan B mạn tính và tìm hiểu mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg huyết tương với các chỉ số đánh giá viêm gan khác theo các giai đoạn viêm gan B mạn tính.

Đối tượng & Phương pháp: Nghiên cứu ở 173 bệnh nhân viêm gan B mạn tính đến khám bệnh tại bệnh viện đa khoa MEDLATEC. HBcrAg huyết tương được định lượng theo nguyên lý miễn dịch enzym hóa phát quang trên hệ thống máy Lumipulse G1200. Đây là nghiên cứu mô tả cắt ngang. **Kết quả:** Nồng độ HBcrAg huyết tương cao nhất ở nhóm dung nạp ($6,64 \pm 1,13$) logU/mL, tiếp theo đến nhóm thanh thải miễn dịch ($5,84 \pm 1,56$) logU/mL. Thấp nhất ở giai đoạn virus không hoạt động ($3,69 \pm 1,74$) logU/mL với $p < 0,001$. **Kết luận:** Nồng độ HBcrAg huyết tương có sự khác biệt giữa các giai đoạn tiến triển mạn tính của viêm gan virus B và có sự tương quan với các marker khác trong

theo dõi tiến triển viêm gan virus B, sự phá hủy tế bào gan.

Từ khóa: HBcrAg, dung nạp miễn dịch, không hoạt động, tái hoạt, thanh thải.

SUMMARY

EVALUATION OF HEPATITIS B CORE-RELATED ANTIGEN LEVEL IN PATIENTS WITH CHRONIC HEPATITIS B INFECTION

The HBcrAg (Hepatitis B core-related Antigen) test reflects cccDNA concentrations in hepatocytes equivalent to the sum of HBeAg, HBcAg and P22cr antigens. **Objectives:** To investigate plasma HBcrAg levels according to the stages of chronic hepatitis B disease and to find out the relationship between plasma HBcrAg levels and other indicators of hepatitis according to chronic hepatitis B stages. **Subjects & Methods:** Study in 173 chronic hepatitis B patients coming to MEDLATEC general hospital. Plasma HBcrAg was measured by chemiluminescent enzyme immunoassay on the Lumipulse G1200 system. This is a cross-sectional descriptive study. **Results:** The plasma HBcrAg concentration was highest in the tolerance group (6.64 ± 1.13) logU/mL, followed by the immune clearance group (5.84 ± 1.56) logU/mL. The lowest was in the dormant virus stage (3.69 ± 1.74) logU/mL with $p < 0.001$. **Conclusion:** The plasma HBcrAg concentration is different between the chronic stages of hepatitis B virus and has correlation with other

¹Bệnh viện đa khoa MEDLATEC

²Trường đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trịnh Thị Quế
Email: que.trinhthi@medlatec.com

Ngày nhận bài: 24.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

markers in monitoring hepatitis B virus progression, hepatocellular destruction.

Keywords: HBcrAg, immune-tolerant, inactive, immune clearance

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan virus B là một bệnh phổ biến toàn cầu, bệnh do virus viêm gan type B (HBV) gây ra có thể biểu hiện cấp tính hoặc mạn tính. Tổ chức y tế thế giới (WHO) ước tính có 296 triệu người đang sống chung với bệnh viêm gan B mạn tính vào năm 2019, với 1,5 triệu ca nhiễm mới mỗi năm. Số bệnh nhân tử vong do nhiễm viêm gan B ước tính khoảng 820000 ca, chủ yếu là do xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan ¹. Đối với viêm gan B mạn tính, tải lượng HBV trong mô gan thay đổi mạnh theo thời gian và tỷ lệ với mức độ nhiễm virus ². Xét nghiệm HBV-DNA và xét nghiệm kháng nguyên lớp phủ viêm gan B (HBeAg) trong máu có thể ước tính tải lượng vi rút HBV trong mô gan. Tuy nhiên, những kết quả định lượng HBV-DNA không đáng tin cậy khi bệnh nhân đang điều trị bằng thuốc kháng vi rút (Lamivudine,...). Các kết quả HBeAg không đáng tin cậy khi phức kháng thể HBeAg và kháng thể anti HBe được tạo ra trong máu ³ và trong một số tình trạng đột biến gen Core hoặc Promotor. Xét nghiệm HBcrAg bao gồm kháng nguyên vỏ HBeAg, kháng nguyên lõi vi rút viêm gan B (HBcAg) và protein tiền nhân HBV gọi là p22cr. Nồng độ của HBcrAg trong máu tỷ lệ thuận với tải lượng vi rút HBV trong mô gan. Vì thế, định lượng HBcrAg có thể sử dụng để kiểm soát bệnh nhân hoặc người mang vi rút viêm gan B. HBcrAg cung cấp thông tin quan trọng về chẩn đoán nhiễm HBV, theo dõi tiên lượng và hiệu quả điều trị của thuốc

kháng HBV. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về nồng độ HBcrAg trên các giai đoạn của viêm gan B mạn tính. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “*Xác định nồng độ HBcrAg huyết tương theo các giai đoạn của viêm gan B mạn tính*” với mục tiêu:

1. *Đánh giá nồng độ HBcrAg theo các giai đoạn của bệnh viêm gan B mạn tính.*

2. *Tìm hiểu mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg huyết tương với các chỉ số đánh giá viêm gan khác theo các giai đoạn viêm gan B mạn tính.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân đến khám và được chẩn đoán viêm gan B mạn tính tại bệnh viện Đa khoa MEDLATEC.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân được chẩn đoán viêm gan B mạn tính: dựa trên hướng dẫn chẩn đoán và điều trị viêm gan B mạn tính của bộ y tế năm 2019 bao gồm 4 giai đoạn: dung nạp miễn dịch, giai đoạn thanh thải miễn dịch, giai đoạn không hoạt động và giai đoạn tái hoạt động. ⁴

Tiêu chuẩn loại trừ: Viêm gan cấp phát hiện lần đầu, xơ gan, ung thư gan, bệnh hệ thống mạn tính (lupus ban đỏ, xơ cứng bì,...), tăng enzym gan do các bệnh mạn tính (bệnh hệ thống,...), tăng enzym gan do thuốc (Paracetamol,...)

2.2. Thời gian nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu tiến hành từ tháng 5/2020 đến tháng 10/2021 tại Bệnh viện Đa khoa MEDLATEC

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp mô tả cắt ngang.

2.3.2. Các chỉ tiêu nghiên cứu:

Định lượng HBcrAg huyết tương theo nguyên lý miễn dịch enzym hóa phát quang trên hệ thống máy Lumipulse G1200. Nồng độ HBcrAg dưới 2 logU/mL được tính bằng 2 logU/mL để phân tích thống kê. Các mẫu có nồng độ HBcrAg trên 7 logU/mL được pha loãng và phân tích lại để tính nồng độ HBcrAg định lượng.

Xét nghiệm HBV DNA: được thực hiện

trên hệ thống sinh học phân tử tự động Cobas 6800 của Roche.

Các xét nghiệm khác (HBsAg, HBeAg, AST, ALT) được thực hiện trên hệ thống Cobas tự động 8100 của Roche.

2.3.3. Phương pháp xử lý số liệu

Số liệu được thống kê và xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 20.0

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đánh giá nồng độ HBcrAg theo các giai đoạn viêm gan B mạn tính

Bảng 3.1. Một số đặc điểm theo giai đoạn viêm gan B mạn tính

Đặc điểm	Giai đoạn				
	Dung nạp	Thanh thải	Không hoạt động	Tái hoạt	p
Tuổi(năm), trung bình (khoảng)	28,86 (10-42)	37,58 (8-58)	43,48 (10-80)	46,50 (36-65)	<0,001
Giới(%), nam/nữ	56%/44%	77%/21%	63%/37%	75%/25%	0,370
HBVDNA(log IU/mL), trung bình (khoảng)	4,59 (1,74-9,00)	5,33 (1,70-8,74)	1,34 (0,0-7,05)	5,95 (2,58-7,48)	<0,001
ALT/ULN, trung bình (khoảng)	0,61 (0,35-0,88)	2,44 (0,51-9,48)	0,68 (0,39-1,69)	2,73 (1,37-6,44)	<0,001
AST/ULN, trung bình (khoảng)	0,15 (0,05-0,29)	0,84 (0,14-4,3)	0,15 (0,03-0,36)	0,85 (0,44-1,8)	<0,001
HBcrAg (mean±SD,logU/mL)	6,64 ± 1,13	5,84 ± 1,56	3,69 ± 1,74	5,34 ± 1,49	< 0,001

Kết quả bảng trên cho thấy: Tuổi trung bình của giai đoạn dung nạp miễn dịch là 28,86 (tập trung trước tuổi 40), diễn tiến của các giai đoạn viêm gan B mạn tính theo thứ tự đến giai đoạn thanh thải miễn dịch với tuổi trung bình là 37,58 sang giai đoạn không hoạt động với tuổi trung bình là 43,48 và ở giai đoạn tái hoạt động là 46,50 tuổi. Không có sự khác biệt về giới theo các giai đoạn bệnh của viêm gan B mạn tính với p=0,37. Nồng độ HBV DNA có sự khác biệt giữa các

giai đoạn của viêm gan B mạn, cao nhất ở giai đoạn tái hoạt động và thấp nhất ở giai đoạn không hoạt động. Tương tự như nồng độ HBV DNA, nồng độ AST và ALT huyết tương cũng khác biệt giữa các giai đoạn của viêm gan B mạn với nồng độ cao nhất ở giai đoạn tái hoạt động và thấp nhất ở giai đoạn không hoạt động. Kết quả trên cũng cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về nồng độ HBcrAg giữa các giai đoạn của viêm gan B mạn tính với p < 0.001.

Bảng 3.2. So sánh sự khác biệt nồng độ HBcrAg theo từng giai đoạn

Giai đoạn	Dung nạp miễn dịch	Không hoạt động	Tái hoạt	Thanh thải
Dung nạp miễn dịch	(p)	0,000	0,012	0,037
Không hoạt động	0,000	(p)	0,010	0,000
Tái hoạt	0,012	0,010	(p)	0,433
Thanh thải	0,037	0,000	0,433	(p)

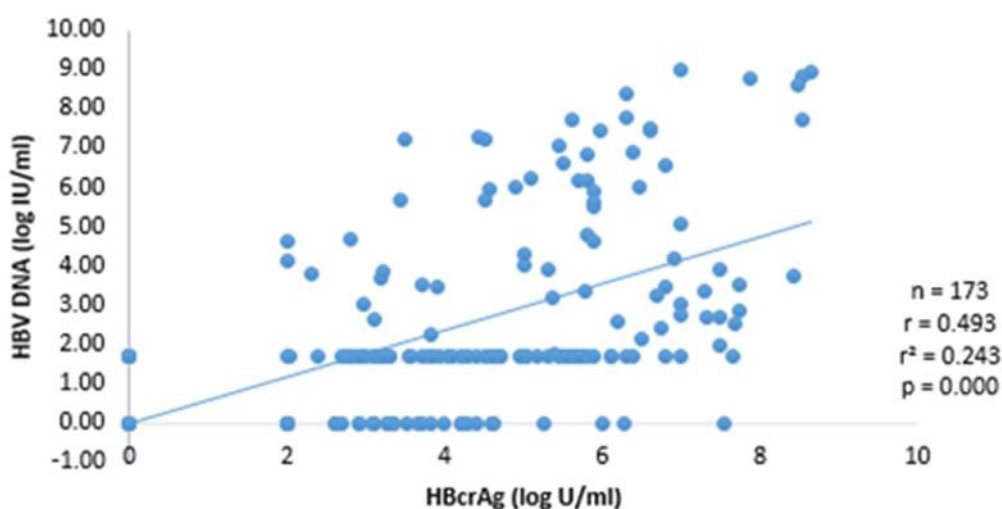
Bảng 2 cho thấy có sự khác biệt rõ rệt về nồng độ HBcrAg huyết tương giữa các giai đoạn dung nạp miễn dịch với các giai đoạn không hoạt động, tái hoạt và giai đoạn thanh thải miễn dịch với $p < 0,05$. Chỉ có giai đoạn tái hoạt và giai đoạn thanh thải miễn dịch là không có sự khác biệt về nồng độ HBcrAg với $p = 0,433$.

3.2. Mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg với các chỉ số đánh giá viêm gan khác

Bảng 3.3. So sánh nồng độ HBcrAg theo HbeAg

HBeAg	Giai đoạn viêm gan B mạn		
	Chung (n = 173)	Thanh thải (n=26)	Không hoạt động (n=112)
	Mean $\pm$ SD (logU/mL)		
Âm tính	3,43 $\pm$ 1,54	4,45 $\pm$ 1,29	3,19 $\pm$ 1,44
Dương tính	6,23 $\pm$ 1,34	6,57 $\pm$ 1,15	5,55 $\pm$ 1,47
p	< 0,001	<0,001	<0,001

Bảng trên cho thấy nồng độ HBcrAg có sự khác biệt theo kết quả HbeAg dương tính hay âm tính ở cả giai đoạn thanh thải miễn dịch và giai đoạn không hoạt động.

**Biểu đồ 3.1. Mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg với nồng độ HBVDNA huyết tương**

Biểu đồ trên cho thấy có mối tương quan giữa nồng độ HBV DNA với nồng độ HBcrAg ở mức tương quan vừa với $r = 0,49$ với $p < 0,001$.

IV. BÀN LUẬN

Diễn tiến tự nhiên của những người nhiễm virus viêm gan B mạn tính (HBV) được chia làm 3 giai đoạn: giai đoạn dung nạp miễn dịch, giai đoạn có phản ứng miễn dịch hay gọi là thanh thải miễn dịch, giai đoạn người mang mầm bệnh không hoạt động. Một số người có thể diễn tiến sang giai đoạn thứ 4 đó là tái hoạt động của virus khi miễn dịch của cơ thể suy yếu, virus lại bùng phát và phát triển thành giai đoạn hoạt động cấp tính. Đối với những cá thể đã tiếp xúc với HBV ở lúc bé, giai đoạn dung nạp miễn dịch có thể kéo dài nhiều thập niên, trong khi ở những người bị nhiễm khi lớn, giai đoạn này thường là không có (>90%). Trong giai đoạn dung nạp miễn dịch, người bị nhiễm virus có enzym gan bình thường hay tăng nhẹ và sự viêm hoại tử tế bào gan thường không hay ít thấy ở sinh thiết gan. Những người như vậy có HBVDNA cao ($> 10^5$ copies/ml) và HBeAg được phát hiện nhưng họ không triệu chứng lâm sàng. Sau nhiều năm, những người này sẽ tiến tới một giai đoạn hoạt động hơn của bệnh, được chuyển sang giai đoạn hoạt động miễn dịch. Ở giai đoạn hoạt động miễn dịch, bệnh nhân có ALT tăng và có sự viêm hoại tử tế bào gan thấy ở sinh thiết gan. Bệnh nặng và kéo dài trong giai đoạn hoạt động miễn dịch (ALT tăng và tăng viêm và hoại tử tế bào gan) quyết định nguy cơ những biến chứng gan. Việc đảo ngược huyết thanh từ HBeAg thành anti – HBe, tự nhiên hay do điều trị thì đều liên quan cụ thể với việc giảm HBVDNA đến mức thấp ($< 10^5$ copies/ml), bình thường hoá enzym gan, sự giảm viêm hoại tử trên mô gan. Sau cùng của những sự kiện này là biểu hiện của thời

kỳ chuyển tiếp tới giai đoạn không hoạt động. Một số trường hợp khi cơ thể suy yếu có thể chuyển qua giai đoạn tái hoạt động của virus⁵. HBV dưới dạng các hạt Dane xâm nhập vào tế bào gan bằng cách gắn vào vỏ virion nhờ một số yếu tố đặc hiệu trên bề mặt tế bào gan. Màng HBV hòa màng với màng tế bào gan để xâm nhập vào tế bào gan. Vào tế bào gan, HBV trút bỏ lớp vỏ và vào nhân dưới dạng DNA vòng hờ (relaxed circular DNA: rcDNA). rcDNA được chuyển đổi thành DNA dạng vòng, khép kín, đồng hóa trị (cccDNA) nhờ enzym DNA polymerase của virus. CccDNA sao chép ra các mRNA (3,5 kb pgRNA, 2,4 kb RNA, 2,1 kb RNA, 0,7 kb RNA), các mRNA này ra bào tương của tế bào. RNA tiền gen (pgRNA) tham gia vào quá trình tổng hợp các protein lõi (HBeAg, HbcAg, ...). Vì vậy HBcAg gồm ba sản phẩm protein của pgRNA và RNA trước lõi (preC RNA), là HBcAg, HBeAg và protein p22cr.⁶

Các dấu hiệu về huyết thanh học như: HBsAg, HBeAg, AST, ALT và tải lượng virus HBV DNA là những công cụ quan trọng để chẩn đoán các giai đoạn của viêm gan B mạn tính, xác định thời gian điều trị, theo dõi điều trị và phân tầng nguy cơ dẫn đến các biến chứng như xơ gan và ung thư gan. Nghiên cứu này đã chỉ ra một dấu ấn có giá trị trong phân biệt giai đoạn (bảng 3.2), và mối tương quan của nó với các chỉ số khác theo diễn tiến từng giai đoạn của viêm gan B mạn tính là nồng độ HBcAg. Nồng độ HBcAg tăng cao nhất ở giai đoạn dung nạp miễn dịch với nồng độ $6,64 \pm 1,13$ log U/mL, trong khi đó ở các giai đoạn thanh thải miễn dịch, giai đoạn không hoạt động và

giai đoạn tái hoạt động trung bình là 5,84; 3,69 và 5,34 log U/mL tương ứng (bảng 3.1). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Maasoumy B, 2015⁷, điều này cho thấy nồng độ HBcrAg có giá trị trong việc đánh giá giai đoạn của viêm gan B mạn tính. Việc chuyển đổi huyết thanh của HBeAg có giá trị trong việc đánh giá mức độ hoạt động của virus cũng như quyết định quá trình điều trị. Kết quả bảng 3.3 chỉ ra có sự khác biệt rõ rệt về nồng độ HBcrAg ở nhóm bệnh nhân có HBeAg âm tính và dương tính ở cả giai đoạn thanh thải miễn dịch và giai đoạn không hoạt động. Nồng độ HBcrAg cao hơn ở nhóm có HBeAg dương tính so với nhóm có HBeAg âm tính cho thấy nồng độ HBcrAg có khả năng dự đoán chuyển đảo huyết thanh cho kháng nguyên HBeAg. Sự sao chép DNA của HBV là một cơ chế phức tạp đòi hỏi những con đường độc lập khác nhau và sự sao chép DNA của HBV và sản xuất các protein của virus không nhất thiết phải liên kết với nhau. Trong khi HBsAg có thể được tổng hợp bằng cách sử dụng cả cccDNA cũng như các đoạn HBV DNA nhỏ hơn được tích hợp vào DNA vật chủ, việc sản xuất HBeAg và HBcAg đòi hỏi sự hiện diện của cccDNA bao gồm toàn bộ bộ gen HBV⁸. Việc định lượng cccDNA trong tế bào gan là khó khả thi trong việc chẩn đoán và theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính. Wang L và cộng sự đã chứng minh có sự tương quan giữa nồng độ HBcrAg huyết tương và cccDNA trong tế bào gan.⁹

Kết quả nghiên cứu cũng chỉ ra có sự tương quan giữa nồng độ HBV DNA với nồng độ HBcrAg huyết tương với $r=0,49$, $p<0,001$ (sơ đồ 3.1). Như vậy, những dữ liệu

nghiên cứu này chỉ ra rằng HBcrAg có thể không chỉ phản ánh sự sao chép của virus mà còn phản ánh hoạt động sản xuất protein của virus như một dấu hiệu cho số lượng tế bào gan bị nhiễm bệnh.

Tóm lại, mức độ HBcrAg thay đổi đáng kể trong các giai đoạn khác nhau của bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính. HBcrAg có thể đóng vai trò là dấu hiệu có giá trị cho sự nhân lên của virus ở những người có HBeAg dương tính. Ở những bệnh nhân HBeAg âm tính, HBcrAg có thể giúp phân biệt giữa những người mang mầm bệnh không hoạt động và những người có bệnh đang hoạt động. Các nghiên cứu trong tương lai là cần thiết để xác định thêm giá trị của HBcrAg như một dấu hiệu cho các khía cạnh khác nhau của hoạt động bệnh trong nhiễm HBV mạn tính, đặc biệt là để điều tra xem động học của HBcrAg có thể dự đoán kiểm soát miễn dịch hay không hay có đánh giá được việc đáp ứng điều trị đối với các loại thuốc khác nhau hay không?

Nghiên cứu này thực hiện ở mức độ cơ bản, trên cỡ mẫu chưa đủ lớn, cũng chưa đánh giá được quá trình theo dõi điều trị, tiến triển nặng của viêm gan virus B. Chúng tôi sẽ tiếp tục nghiên cứu để thấy rõ hơn vai trò của HBcrAg trong ứng dụng lâm sàng.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ HBcrAg có sự khác biệt giữa các giai đoạn tiến triển mạn tính của viêm gan virus B: cao hơn ở nhóm dung nạp và thanh thải miễn dịch. Thấp nhất ở giai đoạn virus không hoạt động.

Nồng độ HBcrAg có sự tương quan với các marker khác trong theo dõi tiến triển viêm

gan virus B cũng như sự nhân lên của virus và sự phá hủy tế bào gan.

KHUYẾN NGHỊ

Cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và mở rộng hơn nữa phạm vi nghiên cứu cho bệnh nhân viêm gan virus B để thấy rõ hơn vai trò của HBcrAg trong lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1) **WHO. Hepatitis B. World Health Organization.** <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/hepatitis-b>. Published July 27, 2021. Accessed November 20, 2021.
- 2) **Mizogami M, et al.** Genotype of hepatitis B and prevention of mother-to-child transmission. *Herusu Shuppan: Gastroenterology seminar* 91; 2003:1-15.
- 3) **Sung JJY, Wong ML, Bowden S, et al.** Intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA can be a predictor of sustained response to therapy. *Gastroenterology*. 2005;128:1890-1897. DOI: 10.1053/j.gastro.2005.03.009
- 4) **Bộ Y tế.** Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan vi rút B (Ban hành kèm theo Quyết định số: 3310/QĐ-BYT ngày 29 tháng 7 năm 2019 của Bộ trưởng Bộ Y tế).2019.
- 5) **Carlos A. Moreno-Camacho, Jairo R. Montoya-Torres,** Anicia Jaegler, Natacha Gondran. Sustainability metrics for real case applications of the supply chain network design problem: A systematic literature review. *Journal of Cleaner Production*. 2019; 231:600-618. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.05.278>
- 6) **Testoni B, Lebossé, Scholtes C, et al.** Serum hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) correlates with covalently closed circular DNA transcriptional activity in chronic hepatitis B patients. *J Hepatol*. 2019; 70(4): 615-625.
- 7) **Maasoumy B, Wiegand SB, Jaroszewicz J, et al.** Hepatitis B core-related antigen (HBcrAg) levels in the natural history of hepatitis B virus infection in a large European cohort predominantly infected with genotypes A and D. *Clin Microbiol Infect*. 2015; 21: e601-e610.
- 8) **D. Glebe, C.M. Bremer.** The molecular virology of hepatitis B virus. *Semin Liver Dis*.2013; 33:e103-112.
- 9) **Wang L, Cao X, Wang Z, et al.** Correlation of HBcrAg with Intrahepatic Hepatitis B Virus Total DNA and Covalently Closed Circular DNA in HBeAg-Positive Chronic Hepatitis B Patients. *J Clin Microbiol*. 2019; 57(1): e01303-01318.

GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 1 CỦA MỘT SỐ KHÁNG THỂ TỰ MIỄN

Vũ Thị Tú Uyên¹, Nguyễn Thị Huệ¹, Trần Thị Chi Mai²,
Trịnh Thị Phương Dung², Trần Thị Thu Trang¹,
Phạm Thị Thu Trang³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định giá trị chẩn đoán đái tháo đường typ 1 của các kháng thể tự miễn ICA, IA2A, GADA và ZnT8A. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nhóm bệnh gồm 60 bệnh nhi mới được chẩn đoán đái tháo đường typ 1. Nhóm chứng gồm 60 trẻ cùng lứa tuổi với nhóm bệnh, không mắc đái tháo đường, có kết quả nồng độ glucose máu khi đói < 5,6 mmol/L. Định lượng các kháng thể tự miễn ICA, IA2A, ZnT8A, GADA bằng phương pháp ELISA. Xác định giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của các kháng thể tự miễn đơn lẻ hoặc phối hợp sử dụng ngưỡng của nhà sản và phân tích đường cong ROC được dùng để tìm điểm cắt tối ưu trong chẩn đoán đái tháo đường typ 1 của các tự kháng thể nêu trên. Kết quả: Tỷ lệ dương tính của các kháng thể IA2A, ZnT8A, GADA, ICA lần lượt là: 61,7%; 46,7%; 38,3% và 36,7%. Tỷ lệ dương tính với ít nhất 1 trong 4 kháng thể là 86,7%. Phân tích đường cong ROC cho thấy khi sử dụng đơn lẻ giá trị chẩn đoán của tự kháng thể GADA và ICA ở mức không tốt ($AUC < 0,7$ với $p < 0,05$), IA2A và ZnT8 ở mức trung bình ($AUC > 0,7$). Tuy nhiên khi kết hợp 4 kháng thể dương tính diện tích dưới đường cong ROC ghi nhận được là

0,817. Tại ngưỡng tối ưu của các tự kháng thể trong chẩn đoán ĐTĐ typ 1, độ nhạy đều là 100% và độ đặc hiệu cao hơn khi sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất, trừ GADA có độ đặc hiệu thấp hơn. **Kết luận:** Sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất, giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của các kháng thể tự miễn đơn lẻ thấp, độ nhạy tăng lên khi phối hợp 2, 3 hay 4 kháng thể. Phân tích đường cong ROC, ngưỡng tối ưu của các tự kháng thể trong chẩn đoán ĐTĐ typ 1 có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn khi sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất, trừ GADA có độ đặc hiệu giảm đi.

Từ khóa: đái tháo đường typ 1, ICA, IA2A, GADA, ZnT8A

SUMMARY

DIAGNOSTIC VALUE OF TYPE 1 DIABETES MELLITUS OF ISLET AUTOANTIBODIES

Objective: To evaluate the diagnostic value of type 1 diabetes of autoantibodies ICA, IA2A, GADA and ZnT8A. **Subjects and Methods:** 60 pediatric patients newly diagnosed with type 1 diabetes were included. Control group consisted of 60 children of the same age as the disease group, without diabetes, with a fasting blood glucose concentration < 5.6 mmol/L. Serum islet autoantibodies ICA, IA2A, ZnT8A, GADA were quantitated by ELISA method. Diagnostic value of type 1 diabetes of autoantibodies alone or in combination using the manufacturer's threshold was determined. ROC curve analysis was used to find the optimal cut-off value in the diagnosis of

¹Bệnh viện Nhi Trung ương,

²Đại học Y Hà Nội,

³Đại học Y Dược Hải Phòng

Chịu trách nhiệm chính: Vũ Thị Tú Uyên

Email: vu.tu.uyen.2008@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

type 1 diabetes of these autoantibodies. **Results:** The positive rate of IA2A, ZnT8A, GADA, ICA were 61.7%, 46.7%; 38.3% and 36.7% respectively. The positive rate with at least 1 out of 4 autoantibodies is 86.7%. ROC curve analysis showed that when used alone, the diagnostic value of GADA and ICA autoantibodies was not good ($AUC < 0.7$, $p < 0.05$), IA2A and ZnT8 were moderate ($AUC > 0.7$). However, when combining 4 positive antibodies, the area under the curve was 0.817. At the optimal cut-off values, their sensitivity in the diagnosis of type 1 diabetes was 100% and their specificity was higher than using the manufacturer's threshold, except for GADA. **Conclusion:** Using the manufacturer's threshold, the diagnostic value of type 1 diabetes of single autoantibodies is low, the sensitivity increases when combining 2, 3 or 4 antibodies. Analysis of the ROC curve, the optimal threshold of autoantibodies in the diagnosis of type 1 diabetes has higher sensitivity and specificity when using the manufacturer's threshold, except for GADA with reduced specificity.

Key words: type 1 diabetes mellitus, ICA, IA2A, GADA, ZnT8A

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) typ 1 là một trong những rối loạn tự miễn gây ra bởi sự phá hủy qua trung gian miễn dịch các tế bào β sản xuất insulin trong đảo tụy, dẫn đến thiếu hụt tuyệt đối insulin và hậu quả gây tăng glucose máu [1]. Các nghiên cứu cho thấy 95% những người mắc bệnh đái tháo đường typ 1 xuất hiện kháng thể tự miễn đặc hiệu [2], bao gồm các kháng thể kháng acid glutamic decarboxylase (GADA), kháng thể kháng protein liên quan đến u tiết insulin (IA2A), kháng thể kháng tế bào đảo tụy (ICA), kháng thể kháng protein vận chuyển kẽm (ZnT8A)

trong máu [3]. Các tự kháng thể này là những dấu hiệu có giá trị để dự đoán bệnh ĐTĐ typ 1 và có thể được phát hiện nhiều tháng hoặc nhiều năm trước khi bệnh khởi phát. Các tự kháng thể này rất hữu ích trong phân biệt bệnh ĐTĐ typ 1 khởi phát muộn với ĐTĐ typ 2 ra ở tuổi thanh niên [3]. Ngoài ra, chúng đã được sử dụng để xác định quá trình tự miễn dịch trong ĐTĐ thai kỳ và để phân biệt bệnh ĐTĐ typ 1 với các loại bệnh ĐTĐ không do nguyên nhân tự miễn khác như bệnh đái đường khởi phát ở tuổi trưởng thành ở người trẻ hoặc bệnh đái đường liên quan đến đột biến ADN ty thể [3]. Hiểu biết tần số của những tự kháng thể trong quần thể là một bước quan trọng để hiểu rõ hơn và chẩn đoán bệnh đái đường typ 1. Theo hiểu biết của chúng tôi, có rất ít các nghiên cứu về tự kháng thể trong ĐTĐ typ 1 ở Việt Nam. Một câu hỏi đặt ra là giá trị của các tự kháng thể trong chẩn đoán ĐTĐ typ 1 là như thế nào, sử dụng giá trị ngưỡng của nhà sản xuất cung cấp hay ngưỡng xác định từ nghiên cứu trên quần thể cụ thể có hiệu quả cao hơn. Do vậy, nghiên cứu này được tiến hành nhằm xác định giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của một số xét nghiệm định lượng kháng thể tự miễn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: nhóm bệnh gồm 60 trẻ từ 6 tháng đến 18 tuổi được chẩn đoán mới mắc đái tháo đường typ 1 theo tiêu chuẩn ADA năm 2019 [4] tại Khoa Nội tiết – Chuyển hóa – Di truyền, Bệnh viện Nhi Trung ương. Tiêu chí lựa chọn: Tuổi từ 6 tháng đến 18 tuổi biểu hiện cấp tính, có nhiễm toan ceton, không có gai đen và không béo phì. Tiêu chuẩn loại trừ: trẻ chưa xác định được loại bệnh ĐTĐ, không đủ thông

tin nghiên cứu, bệnh nhân đã được chẩn đoán và đang điều trị. Thông tin thu thập bao gồm tuổi, giới tính, cân nặng, chiều cao, đặc điểm khởi phát, các xét nghiệm hóa sinh. Nhóm đối chứng gồm 60 trẻ cùng lứa tuổi với nhóm bệnh không mắc đái tháo đường, có kết quả nồng độ Glucose máu khi đói $< 5,6$ mmol/L.

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Nội tiết-Chuyển hóa- Di truyền và Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nhi Trung Ương.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01 đến tháng 10 năm 2020.

2.2 Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

- Thu thập các thông tin về nhân trắc học (tuổi, giới, chiều cao, cân nặng), thông tin lâm sàng trong hồ sơ bệnh án của bệnh nhân tham gia nghiên cứu. Lấy 2ml máu tĩnh mạch của bệnh nhân và nhóm chứng theo quy trình chuẩn. Tiến hành định lượng

HbA1C, glucose, C-peptid, Insulin trên mẫu bệnh nhân và nhóm chứng.

- Định lượng các tự kháng thể ICA, IA2A, ZnT8A bằng phương pháp ELISA (kit của hãng MEDIPAN) và GADA (hãng DGR, Đức). Xác định giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của các kháng thể tự miễn đơn lẻ hoặc phối hợp bằng tính độ nhạy (Se), độ đặc hiệu (Sp), giá trị dự đoán âm tính (NPV), giá trị dự đoán dương tính (PPV) sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất (ICA là 1,0 binding index; IA2A là 10,0; GADA là 1,05 và ZnT8A là 15,0 IU/ml). Phân tích đường cong ROC được dùng để tìm điểm cắt (cut-off value) tối ưu trong chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của các tự kháng thể nêu trên.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

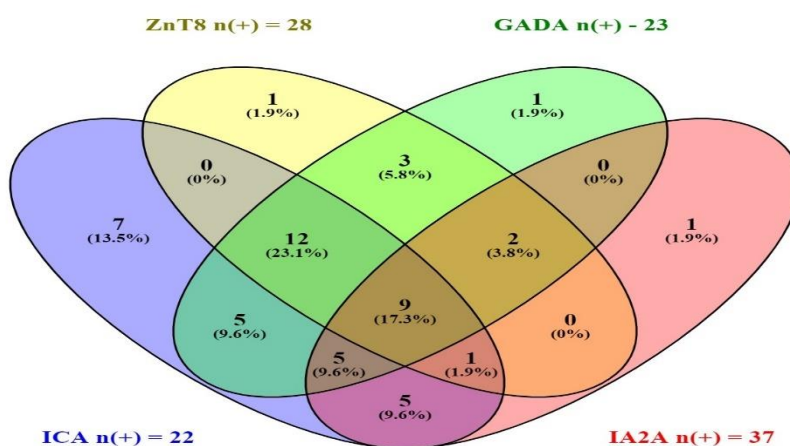
Mọi thông tin của đối tượng nghiên cứu đều được giữ bí mật. Nghiên cứu thực hiện vì mục đích khoa học, không vì bất kỳ mục đích nào khác

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân ĐTĐ Typ 1

Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng	Kết quả	Khoảng tham chiếu
Nữ, n (%)	28/60 (46,7%)	
Tuổi chẩn đoán (năm)	7,65 $\pm$ 3,786	
BMI (kg/m ²)	15,75 $\pm$ 2,811	
Nhiễm toan ceton	17/60 (28,3%)	
Triệu chứng cổ điển (khát nhiều, đái nhiều, sút cân)	59/60 (98,3%)	
Triệu chứng khác	1/60 (1,7%)	
Glucose máu khi đói (mmol/L)	25,38 $\pm$ 12,770	3,9-5,5
HbA1C mới nhập viện (%)	11,56 $\pm$ 3,003	4-6,2
Insulin (mIU/L) (Min- Max) (Trung vị)	0,2-12,38 (3,62)	3 – 25
C – peptid (ng/ml) (Min- Max) (Trung vị)	0,01-4,47 (0,72)	0,81 – 3,85

Nhận xét: Tất cả các bệnh nhi có thể trạng gầy; phần lớn bệnh nhân có các triệu chứng lâm sàng kinh điển như khát nhiều, đái nhiều, sút cân, nồng độ glucose máu khi đói và HbA1C cao, nồng độ Insulin và C-peptid thấp.



Hình 1. Biểu đồ Venn về sự kết hợp các kháng thể tự miễn ở những bệnh nhân ĐTĐ typ 1 có kháng thể tự miễn dương tính

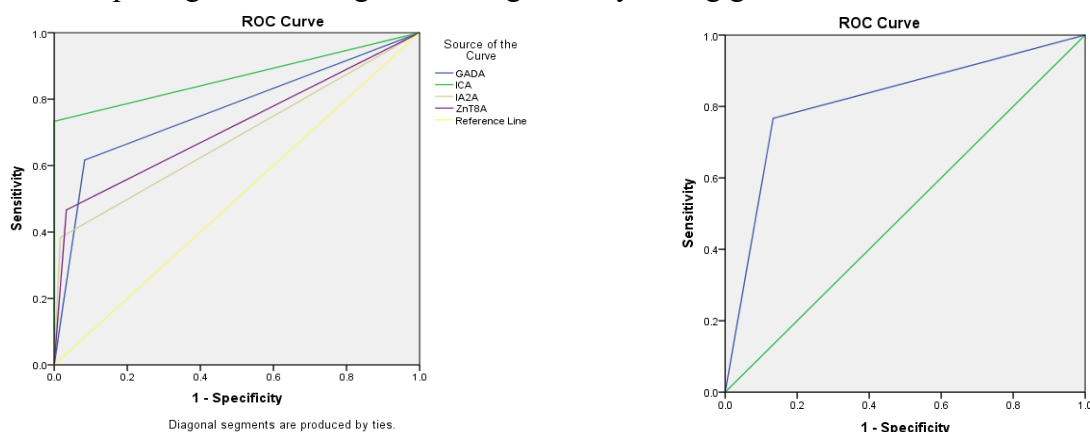
Nhận xét: có 22/60 bệnh nhân dương tính với ICA, 23/60 bệnh nhân dương tính với GADA, 28/60 bệnh nhân dương tính với ZnT8A, 37/60 bệnh nhân dương tính với IA2A và có 9 bệnh nhân dương tính với cả 4 loại kháng thể tự miễn. Tỷ lệ dương tính của các kháng thể IA2A, ZnT8A, GADA, ICA lần lượt là: 61,7%; 46,7%; 38,3% và 36,7%. Tỷ lệ dương tính với ít nhất 1 trong 4 kháng thể là 86,7%.

Bảng 2. Giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của các kháng thể tự miễn sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất

Kháng thể		Tỷ lệ hiện mắc	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự đoán âm tính	Giá trị dự đoán dương tính
GADA	%	23,3	38,3	91,7	59,8	82,1
	95%CI	15,8-30,9	26,0-50,5	84,7-98,7	49,8-69,8	68,0-96,3
IA2A	%	31,7	61,7	98,3	72,0	97,4
	95%CI	23,3-40,0	49,4-74,0	95,1-101,6	62,2-81,7	92,3-102,5
ICA	%	18,3	36,7	100	61,2	100
	95%CI	11,4-25,3	24,5-48,9	100	51,6-70,9	100
ZnT8A	%	25,0	46,67	96,67	64,4	93,3

Kháng thể		Tỷ lệ hiện mắc	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự đoán âm tính	Giá trị dự đoán dương tính
	95%CI	17,3-32,7	34,0- 59,3	92,1- 101,2	54,6-74,3	84,4-102,3
GADA & IA2A	%	36,4	68,0	90,0	77,1	85,0
	95%CI	27,4-45,4	55,1- 80,9	82,4-97,6	67,3-87,0	73,9-96,1
GADA & ICA	%	28,3	48,3	91,7	64,0	85,3
	95%CI	20,3-36,4	35,7- 61,0	84,7-98,7	53,8-74,1	73,4-97,2
GADA & ZnT8A	%	38,3	65,0	88,3	71,6	84,8
	95%CI	29,6-47,0	52,9- 77,1	80,2-96,5	61,3-81,9	74,4-95,3
IA2A & ICA	%	36,7	71,7	98,3	77,6	97,7
	95%CI	28,0-45,3	60,3- 83,1	95,1- 101,6	68,3-87,0	93,3-102,1
IA2A & ZnT8A	%	35,0	65,0	95,0	73,1	92,9
	95%CI	26,5-43,5	52,9- 77,1	89,5- 100,5	63,2-82,9	85,1-100,6
ICA & ZnT8A	%	32,5	61,7	96,7	71,6	94,9
	95%CI	24,1-40,9	49,4- 74,0	92,1- 101,2	61,8-81,4	87,9-101,8
GADA & IA2A & ICA	%	42,5	75,0	90,0	78,3	88,2
	95%CI	33,7-51,3	64,0- 86,0	82,4-97,6	68,5-88,0	79,4-97,1
GADA & IA2A&ZnT8A	%	44,2	75,0	86,7	77,6	84,9
	95%CI	35,3-53,1	64,0- 86,0	78,1-95,3	67,6-87,6	75,3-94,5
GADA & ICA & ZnT8A	%	40,0	68,3	88,3	73,6	85,4
	95%CI	31,2-48,8	56,6- 80,1	80,2-96,5	63,4-83,8	75,4-95,4
IA2A & ICA & ZnT8A	%	39,2	73,3	95,0	78,1	93,6
	95%CI	30,4-47,9	62,1- 84,5	89,5- 100,5	68,6-87,6	86,6-100,6
GADA& IA2A & ICA & ZnT8A	%	45,0	76,7	86,7	78,8	85,2
	95%CI	36,1-53,9	66,0- 87,4	78,1-95,3	68,9-88,7	75,7-94,7

Nhận xét: Sử dụng giá trị ngưỡng của nhà sản xuất, độ nhạy chẩn đoán của IA2A là cao nhất, ICA là thấp nhất. Độ đặc hiệu của các kháng thể đều trên 80%, cao nhất là ICA (100%), thấp nhất là GADA (91,7%). Giá trị dự đoán âm tính của IA2A cao nhất, của GADA thấp nhất. Giá trị dự đoán dương tính của ICA cao nhất (100%), của GADA thấp nhất (82,1%). Khi kết hợp đồng thời 4 kháng thể thì tăng độ nhạy nhưng giảm độ đặc hiệu.



Hình 2. Đường cong ROC của GADA, IA2A, ICA, ZnT8A và kết hợp 4 kháng thể trong chẩn đoán đái tháo đường typ 1

Nhận xét: Cả 4 kháng thể tự miễn đều có diện tích dưới đường cong (AUC) ở mức trung bình. AUC của GADA, IA2A, ICA và ZnT8A huyết tương lần lượt là: 0,65, 0,80, 0,683 và 0,717. Khi kết hợp 4 kháng thể làm cải thiện giá trị chẩn đoán đái tháo đường typ 1 (AUC là 0,817).

Bảng 4. So sánh độ nhạy và độ đặc hiệu của các tự kháng thể trong chẩn đoán đái tháo đường typ 1 sử dụng điểm cắt tối ưu từ phân tích ROC với ngưỡng nhà sản xuất

Kháng thể	Ngưỡng của nhà sản xuất			Ngưỡng tối ưu từ phân tích ROC		
	Điểm cắt	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Điểm cắt	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
ZnT8A (IU/ml)	15	46,7	96,7	10,233	100	98,9
IA2A (IU/ml)	10	61,7	98,3	8,447	100	100
GADA (IU/ml)	1,05	38,3	91,7	0,97	100	85,9
ICA (Binding index)	1,0	36,7	100	0,8005	100	100

Nhận xét: Khi sử dụng ngưỡng tối ưu từ phân tích ROC, độ nhạy cải thiện nhiều và độ đặc hiệu phần lớn cao hơn khi sử dụng ngưỡng nhà sản xuất (trừ GADA có độ đặc hiệu giảm đi).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 60 bệnh nhi đái tháo đường typ 1, trong đó số tỷ lệ trẻ nam gặp 53,3% nhiều hơn trẻ nữ 46,7%, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Các trẻ trong nghiên cứu đều có triệu chứng cấp tính: đái nhiều, uống nhiều, gầy sút cân, 28,3% nhiễm toan chuyển hóa, và các xét nghiệm cận lâm sàng đường huyết khi đói, HbA1c cao, còn C-peptid, Insulin giảm (Bảng 1). Điều này phù hợp với biểu hiện điển hình của ĐTĐ typ 1 ở trẻ em là đái nhiều, uống nhiều, và khoảng 1/3 các trường hợp có nhiễm toan ceton [5].

Trong nghiên cứu này, khi sử dụng riêng từng tự kháng thể thì độ nhạy chẩn đoán không cao tại ngưỡng nhà sản xuất đưa ra (bảng 2). Khi phối hợp 2 kháng thể, độ nhạy chẩn đoán cao nhất khi kết hợp IA2A và ICA (71,7%), thấp nhất khi kết hợp GADA và ICA (48,3%) Tuy nhiên khi kết hợp IA2A và GADA, ICA làm tăng độ nhạy chẩn đoán lên cao nhất (75%) (bảng 2). Kết quả của chúng tôi có sự khác biệt so với các nghiên cứu khác. Một số nghiên cứu đã ghi nhận rằng sử dụng ZnT8A kết hợp với GADA và IA2A đã được chứng minh là làm tăng độ nhạy chẩn đoán lên đến 93–98% ở quần thể người da trắng [7,8]. Sử dụng kết hợp ZnT8A và GADA độ nhạy chẩn đoán lên đến 100%. Tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi khi kết hợp 3 kháng thể này, độ nhạy chỉ đạt 75%, độ đặc hiệu là 86,7%, thấp hơn so với việc kết hợp IA2A và GADA, ICA; mặc dù hầu như tất cả bệnh nhân dương tính với ICA trong nghiên cứu này đều có GADA hoặc ZnT8A dương tính. Nghiên cứu của Chayanis (2018) ghi nhận rằng sử dụng kết hợp ZnT8A và GADA đã xác định được 100% bệnh nhân dương tính với kháng thể [6]. Các thử nghiệm kết hợp giữa ZnT8A và

GADA trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ có thể xác định được 80% bệnh nhân ĐTĐ typ 1 dương tính với tự kháng thể.

Phân tích đường cong ROC cho thấy khi sử dụng đơn lẻ giá trị chẩn đoán của tự kháng thể GADA và ICA ở mức không tốt ($AUC < 0,7$ với $p < 0,05$), IA2A và ZnT8 ở mức trung bình ($AUC > 0,7$) (hình 2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với kết quả nghiên cứu của Chayanis (2018) [6]. Tuy nhiên khi kết hợp 2 hay 3 hay 4 kháng thể dương tính, diện tích dưới đường cong ROC tăng lên đáng kể. Đặc biệt khi kết hợp 4 kháng thể dương tính diện tích dưới đường cong ROC ghi nhận được là 0,817 (hình 2). Như vậy có thể thấy sử dụng kết hợp nhiều kháng thể dương tính giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 tăng lên mức tốt. Phân tích đường cong ROC, ngưỡng tối ưu của các tự kháng thể trong chẩn đoán ĐTĐ typ 1 có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn khi sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất, trừ GADA có độ đặc hiệu giảm đi (bảng 4). Do đó việc sử dụng phối hợp các tự kháng thể và áp dụng ngưỡng tối ưu cho quần thể, giá trị chẩn ĐTĐ typ 1 của các tự kháng thể tốt hơn.

V. KẾT LUẬN

Sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất, giá trị chẩn đoán ĐTĐ typ 1 của các kháng thể tự miễn đơn lẻ thấp, độ nhạy tăng lên khi phối hợp 2, 3 hay 4 kháng thể. Phân tích đường cong ROC, ngưỡng tối ưu của các tự kháng thể trong chẩn đoán ĐTĐ typ 1 có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn khi sử dụng ngưỡng của nhà sản xuất, trừ GADA có độ đặc hiệu giảm đi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Terri H.L, Lorraine E.L.K, Sarah J.R et al (2013). Increasing incidence of type 1

- diabetes in youth: twenty years of the Philadelphia Pediatric Diabetes Registry. *Diabetes Care*, 36 (6), 1597-1603.
2. **Jaakko T (2013).** The emerging global epidemic of type 1 diabetes. *Curr Diab Rep*, 13 (6), 795-804.
 3. **Zhang L, George S.E (2011).** Prediction and prevention of Type 1 diabetes mellitus. *J Diabetes*, 3: 48–57.
 4. **A. D. A. (2019 Jan;).** Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes-2019. *Diabetes Care*, 42(Supplement 1): S13-S28.
 5. **Dabelea D, Rewers A, Stafford J.M, et al. (2014).** Trends in the Prevalence of Ketoacidosis at Diabetes Diagnosis: The Search for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics*, 133(4), 938-945.
 6. **Chayanis T, Suphab A, Hataichanok B.K (2018).** The Prevalence of Islet Autoantibodies in Thai Juvenile-onset Type 1 Diabetes. *Pediatr Int*;60(11):1002-1007
 7. **Kendra V, Richard F, Dennis L, Norris J.M, Klingensmith G, Bloch C, Rewers M, Dabelea D (2007).** Increasing incidence of type 1 diabetes in 0- to 17-year-old Colorado youth. *Diabetes Care*, 30(3):503-9.
 8. **Liese A.D, Hamman R.F, et al (2006).** SEARCH for Diabetes in Youth Study Group. The burden of diabetes mellitus among US youth: prevalence estimates from the SEARCH for Diabetes in Youth Study. *Pediatrics.*, 118(4):1510–1518.

MỐI LIÊN QUAN GIỮA RỐI LOẠN LIPID MÁU VỚI TỔN THƯƠNG ĐỘNG MẠCH ĐÙI CHUNG Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 2

Hoàng Công Hưng¹, Lê Đình Tuấn², Nguyễn Thị Phi Nga²,
Trần Thị Thanh Hóa³, Phạm Văn Trân², Nguyễn Tiến Sơn²,
Dương Huy Hoàng⁴, Ngô Văn Mạnh⁴

TÓM TẮT

Mục tiêu: tìm hiểu mối liên quan giữa tình trạng rối loạn lipid máu với tổn thương động mạch đùi chung ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 66 bệnh nhân đái tháo đường typ 2, điều trị nội trú tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương.

Kết quả: Bề dày nội trung mạc (IMT) trung bình là $1,59 \pm 0,71$ (mmm), tỷ lệ BN có dày IMT và có mảng vữa xơ ở động mạch đùi chung là 37,9% và 36,4%, tỷ lệ BN bị hẹp ở động mạch đùi chung là 4,5%, tất cả các bệnh nhân này đều hẹp dưới 50%. Bệnh nhân đái tháo đường typ 2 có rối loạn cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C và rối loạn lipid máu chung thì IMT trung bình và tỷ lệ mảng vữa xơ ở động mạch đùi chung cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm

¹Bệnh viện Đa khoa huyện Nông Cống, Thanh Hóa

²Học viện Quân Y

³Bệnh viện Nội tiết Trung Ương

⁴Đại học Y Dược Thái Bình

Chịu trách nhiệm chính: Hoàng Công Hưng

Email: bathungtdcn@gmail.com

Ngày nhận bài: 24.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

bệnh nhân không có các rối loạn này, ($p < 0,05$). IMT ở động mạch đùi chung có mối tương quan thuận mức độ khá chặt với nồng độ triglycerid ($r = 0,52$; $p < 0,001$) và LDL-C ($r = 0,66$; $p < 0,001$); tương quan mức độ chặt với nồng độ cholesterol ($r = 0,70$; $p < 0,001$).

Kết luận: ở bệnh nhân đái tháo đường type 2, rối loạn lipid máu có liên quan đến IMT và vữa xơ động mạch đùi chung.

Từ khóa: rối loạn lipid máu, đái tháo đường type 2, động mạch đùi chung, vữa xơ động mạch, bề dày nội trung mạc.

SUMMARY

RELATIONSHIP BETWEEN DYSLIPIDEMIA AND COMMON FEMORAL ARTERIAL ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Objective: To investigate the relationship between dyslipidemia and common femoral artery abnormalities in patients with type 2 diabetes.

Subjects and methods: a cross-sectional and descriptive study on 66 inpatients with type 2 diabetes at the National Hospital of Endocrinology.

Result: The mean intima-media thickness (IMT) was 1.59 mm. The percentage of patients with thickened IMT and atherosclerotic plaque in the common femoral artery was 37.9% and 36.4%, respectively. The percentage of patients with common femoral arterial stenosis was 4.5%, with all of these patients having stenosis less than 50%. In patients with disorders of cholesterol, triglycerides, HDL-C, LDL-C, and dyslipidemia in general, the mean IMT and the percentage of atherosclerotic plaque in the common femoral artery were significantly higher than those of patients without these disorders ($p < 0.05$). Common femoral arterial IMT

moderately positively correlated with triglyceride ($r = 0.52$; $p < 0.001$), and LDL-C ($r = 0.66$; $p < 0.001$), and strongly positively correlated with cholesterol ($r = 0.70$; $p < 0.001$).

Conclusion: In patients with type 2 diabetes, dyslipidemia is associated with IMT and common femoral arterial atherosclerosis.

Keywords: dyslipidemia, type 2 diabetes, common femoral artery, atherosclerosis, intima-media thickness.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở người bệnh đái tháo đường type 2, đặc biệt là kiểm soát glucose máu kém, tình trạng rối loạn lipid máu khá phổ biến, được đặc trưng bởi tăng lipoprotein giàu triglycerid sau ăn, tăng cholesterol, LDL-C mà có thể làm tăng stress oxy hóa và làm tổn thương chức năng nội mạc cả trực tiếp và gián tiếp, những thay đổi này góp phần vào quá trình tạo mảng vữa xơ và gây tắc mạch [1], [2]. Các bệnh nhân đái tháo đường có nguy cơ phát triển xơ vữa động mạch cao hơn từ 2 đến 6 lần so với người bình thường, một phần của nguy cơ cao này là do các rối loạn lipid máu [3]. Vì vậy, hiện nay trong thực hành điều trị bệnh đái tháo đường type 2, việc kiểm soát lipid máu ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 ngày càng được quan tâm nhằm nâng cao chất lượng cuộc sống cũng như ngăn chặn các biến chứng mạn tính, đặc biệt là biến chứng tim mạch, với bệnh nhân không có biến cố tim mạch mức khuyến cáo LDL-C nhỏ hơn 2,6 mmol/L, với bệnh nhân có biến cố về mạch máu mức khuyến cáo LDL-C nhỏ hơn 1,8 mmol/L [3]. Động mạch đùi chung là đoạn dễ dàng cho việc khảo sát cả về kích thước và cấu trúc, thuận lợi cho việc đo độ dày nội trung mạc thành động

mạch, đồng thời động mạch đùi chung cũng là đoạn có tỷ lệ tổn thương cao trong bệnh lý động mạch ngoại vi ở bệnh nhân ĐTD typ 2 [3], [5]. Trong vài thập kỷ gần đây trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về vấn đề này nhưng ở nước ta chưa có nhiều công trình nghiên cứu công bố về siêu âm động mạch đùi chung trong đái tháo đường. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài này với mục tiêu: khảo sát mối liên quan giữa tình trạng rối loạn lipid máu với tổn thương động mạch đùi chung ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 66 BN ĐTD typ 2 điều trị nội trú tại bệnh viện Nội tiết Trung ương, từ tháng 12/2014 đến tháng 07/2015.

**Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu*

- BN ĐTD typ 2 điều trị nội trú tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương.

- BN đồng ý tham gia nghiên cứu.

- BN thu thập đủ các chỉ tiêu nghiên cứu.

**Tiêu chuẩn loại khỏi nghiên cứu.*

- BN có tiền sử hoặc hiện tại có các bệnh tim mạch kèm theo như: Bệnh tim bẩm sinh, bệnh van tim, cơ tim gây rối loạn huyết động, bệnh suy van tĩnh mạch.

- Đang dùng các thuốc: giảm lipid máu, chống đông trong vòng 1 tháng trở lại đây.

- Các bệnh cấp tính, bệnh ác tính.

- Các bệnh về máu kèm theo gây tắc mạch hoặc thiếu máu nặng.

- BN bị ĐTD typ 1, ĐTD thai kỳ và ĐTD typ khác.

- BN cắt cụt chi hoặc tháo khớp từ cổ chân trở lên.

- BN không hợp tác, không thu thập đủ chỉ tiêu nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: tiến cứu, mô tả cắt ngang.

- Chọn mẫu nghiên cứu: bằng phương pháp chọn mẫu thuận tiện,

Thăm khám lâm sàng, làm xét nghiệm cận lâm sàng, thăm dò chức năng và đăng ký ghi hồ sơ nghiên cứu theo mẫu thống nhất.

Cận lâm sàng: xét nghiệm các chỉ số sinh hóa máu: triglycerid, cholesterol, HDL-C, LDL-C, glucose lúc đói, HbA1c.

Các thành phần lipid máu bao gồm: cholesterol toàn phần, triglycerid toàn phần, HDL-C, LDL-C định lượng theo phương pháp enzym so màu, trên máy AU 680 của Mỹ.

Siêu âm đánh giá động mạch đùi chung (ĐMĐC): sử dụng máy siêu âm Doppler màu Philip HD 11 XE tại khoa Chẩn đoán hình ảnh và thăm dò chức năng Bệnh viện Nội tiết Trung ương. Đo IMT theo phương pháp của Pignoli. Đo IMT ĐMĐC tại thành xa của ĐM cách chỗ phân chia thành ĐM đùi nông và ĐM đùi sâu 2cm nơi không có MVX, thời điểm đo tương ứng đầu phức bộ QRS. IMT là khoảng cách giữa rìa trên của lớp nội mạc ĐM cho đến rìa trên của đường ranh giới lớp ngoại mạc, đơn vị là mm [10]: bình thường nếu $IMT < 1mm$, dày IMT khi $1 \leq IMT < 2mm$, mảng vữa xơ khi $IMT \geq 2mm$.

- Tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu:

+ Tiêu chuẩn chẩn đoán ĐTD theo khuyến cáo ADA năm 2014 [1].

+ Chẩn đoán ĐTD typ 2 theo WHO 1999 vận dụng phù hợp với Việt Nam [1].

+ Chẩn đoán rối loạn các thành phần lipid máu theo Bộ Y tế Việt Nam 2014.

3. Xử lý số liệu: xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 16.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Chỉ tiêu		Số lượng (n = 66)	Tỷ lệ (%)
Tuổi (năm)	< 60, n (%)	40	60,6
	≥ 60, n (%)	26	39,4
	Trung bình	57,4 ± 9,9	
Giới	Nam n (%)	30	45,5
	Nữ n (%)	36	54,5
BMI trung bình (kg/m ²)		22,5 ± 3,0	
Thời gian phát hiện (năm)		6,6 ± 5,8	
Glucose trung bình (mmol/L)		12,1 ± 4,8	
HbA1c (%)		9,5 ± 2,1	

Tuổi trung bình 57,4 ± 9,9 năm, chủ yếu tuổi < 60 (60,6%), tỷ lệ nữ là 54,5%, thời gian phát hiện ĐTĐ trung bình là 6,6 ± 5,8 năm.

Bảng 2. Đặc điểm rối loạn các thành phần lipid máu

Chỉ tiêu		Số lượng (n = 66)	Tỷ lệ (%)
Cholesterol (mmol/l)	≤ 5,2	31	47,0
	> 5,2	35	53,0
	Trung bình	5,34 ± 1,57	
Triglycerid (mmol/l)	≤ 2,3	42	63,6
	> 2,3	24	36,4
	Trung bình	2,33 ± 1,27	
HDL-C (mmol/l)	≥ 0,9	54	81,8
	< 0,9	12	18,2
	Trung bình	1,16 ± 0,29	
LDL-C (mmol/l)	< 3,4	40	60,6
	≥ 3,4	26	39,4
	Trung bình	3,27 ± 1,22	
Rối loạn lipid chung	Có	49	74,2
	Không	17	25,8

Tỷ lệ BN tăng cholesterol gặp nhiều nhất (53%), tăng LDL-C là 39,4%, giảm HDL-C gặp ít nhất (18,2%). Tỷ lệ rối loạn lipid máu chung là 74,2%.

Bảng 3. Tình trạng tổn thương động mạch đùi chung ở bệnh nhân đái tháo đường type 2

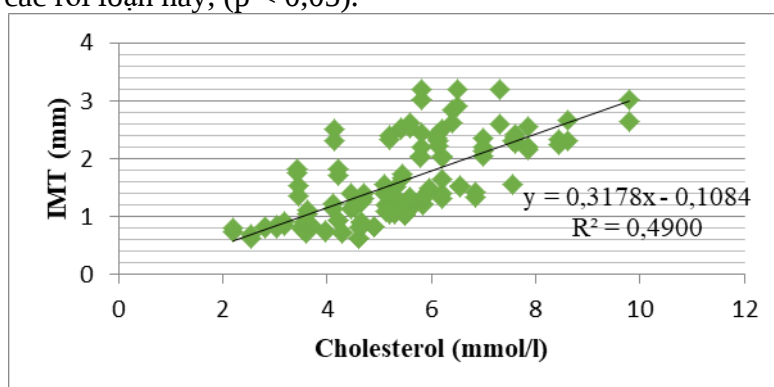
Chỉ tiêu		Số lượng (n=66)	Tỷ lệ (%)
IMT trung bình (mm)		1,59 ± 0,71	
MVX		24	36,4
Dày		25	37,9
Hẹp lòng mạch		3	4,5
Mức độ hẹp	< 50%	3	4,5
	≥ 50%	0	0,0

Tỷ lệ BN ĐTĐ type 2 có mảng vữa xơ ở ĐMĐC là 36,4%, dày nội trung mạc là 37,9%. Tỷ lệ BN bị hẹp ở ĐMĐC của nhóm BN ĐTĐ type 2 là 4,5%, tất cả các BN này đều hẹp dưới 50%.

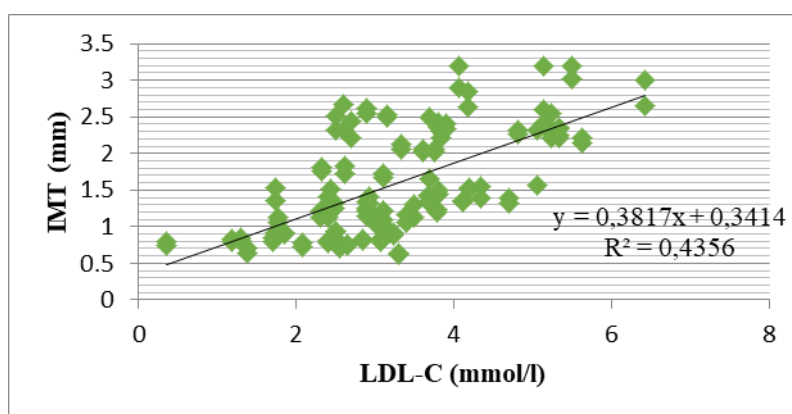
Bảng 4. Liên quan giữa IMT và mảng vữa xơ ở động mạch đùi chung với cholesterol với các thành phần lipid máu và rối loạn lipid máu

Chỉ tiêu		IMT ĐMĐC	p	MVX	p
Cholesterol (mmol/l)	≤ 5,2 (n=31)	1,11 ± 0,46	< 0,001	2(6,5)	< 0,001
	> 5,2 (n=35)	2,01 ± 0,62		22(62,9)	
Triglycerid (mmol/l)	≤ 2,3 (n=42)	1,26 ± 0,56	< 0,001	5(11,9)	< 0,001
	> 2,3 (n=24)	2,17 ± 0,55		19(79,2)	
HDL-C (mmol/l)	< 0,9 (n=12)	1,69 ± 0,68	< 0,001	1 (8,3)	< 0,05
	≥ 0,9 (n=54)	1,10 ± 0,67		23 (42,6)	
LDL-C (mmol/l)	< 3,4 (n=40)	1,26 ± 0,57	< 0,001	6 (15)	< 0,001
	≥ 3,4 (n=26)	2,10 ± 0,59		18 (69,2)	
Rối loạn lipid chung	Có (n=49)	1,74 ± 0,72	< 0,001	23 (46,9)	< 0,001
	Không (n=17)	1,15 ± 0,44		1 (5,9)	

BN ĐTĐ type 2 có rối loạn cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C và rối loạn lipid máu chung, IMT trung bình và tỷ lệ mảng vữa xơ ở ĐMĐC cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không có các rối loạn này, ($p < 0,05$).

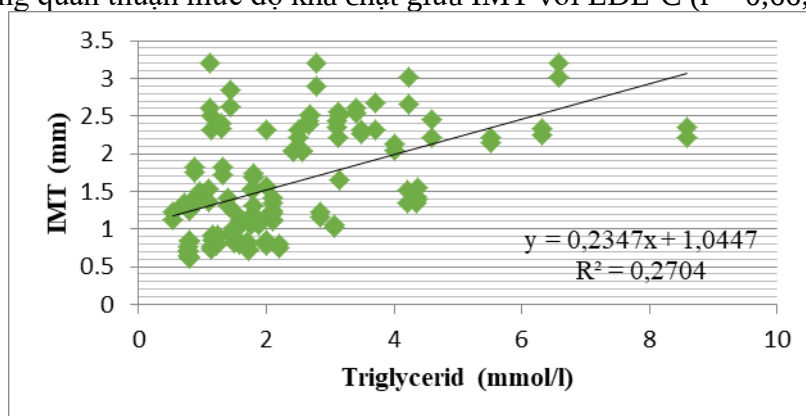
**Biểu đồ 1. Tương quan giữa IMT ở ĐMĐC với cholesterol**

Có mối tương quan thuận mức độ chặt giữa IMT với cholesterol ($r = 0,70$; $p < 0,001$).



Biểu đồ 2. Tương quan giữa IMT của ĐMĐC với LDL-C

Có mối tương quan thuận mức độ khá chặt giữa IMT với LDL-C ($r = 0,66$; $p < 0,001$).



Biểu đồ 3. Tương quan giữa IMT của ĐMĐC với triglycerid

Có mối tương quan thuận mức độ khá chặt giữa IMT với triglycerid ($r = 0,52$; $p < 0,001$).

IV. BÀN LUẬN

Nội trung mạc được xem như một cơ quan nội tiết, tham gia vào đảm bảo chức năng huyết động của thành mạch, có chức năng bảo vệ thành mạch và là nơi tiếp xúc trực tiếp với dòng máu; vì vậy, cũng là nơi đầu tiên tổn thương bởi vữa xơ động mạch nên nội trung mạc có cùng yếu tố nguy cơ với vữa xơ động mạch [9]. Tăng IMT làm tăng nguy cơ biến chứng vữa xơ động mạch và làm tăng tỷ lệ xuất hiện các biến chứng mà điển hình là đột quỵ não và nhồi máu cơ tim. Nhiều nghiên cứu trong và ngoài nước về nội trung mạc ở BN ĐTD typ 2 thì thấy rằng: Cùng với tăng IMT là tăng tỷ lệ mảng vữa

xơ, thực chất mảng vữa xơ bắt nguồn từ sự dày lên của nội trung mạc [5], [8]. Tác giả Gianni Belcaro và cộng sự (1996) đã chỉ ra rằng tỷ lệ mắc các tai biến của tim mạch trong tương lai có liên quan đến phân loại hình thái động mạch và điểm số siêu âm động mạch. Vì vậy, siêu âm động mạch có thể được coi là phương pháp sàng lọc với chi phí thấp để đánh giá sớm vữa xơ động mạch [6]. Kết quả nghiên cứu trên 66 BN ĐTD typ 2 thấy rằng: tỷ lệ BN có dày nội trung mạc ĐMĐC (74,3%) trong đó BN có mảng vữa xơ chiếm 36,4%. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Vũ Thị Hà Ninh (2011) cho thấy đa số BN bị ĐTD typ 2 có dày nội trung

mạch ĐM đùi (77,42%) trong đó BN có mảng vữa xơ chiếm 35,48% [4]. Đồng thời, chúng tôi cũng nhận thấy, ở nhóm BN ĐTD týp 2 tỷ lệ BN bị hẹp lòng mạch ở ĐMĐC hai bên là 4,5%. Tất cả BN này đều có hẹp dưới 50%. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Vũ Thị Hà Ninh (2011) cho thấy không có BN nào có hẹp ĐM đùi ở mức $\geq 50\%$ và tắc mạch nhưng vận tốc tâm thu ở nhóm có mảng vữa xơ cao hơn một cách có ý nghĩa so với nhóm không có mảng vữa xơ [4].

Rối loạn lipid máu là yếu tố nguy cơ biến chứng tim mạch. Song nó lại thường phối hợp với các yếu tố nguy cơ khác làm cho tỷ lệ và mức độ các biến chứng lại càng trở nên phức tạp. Đặc biệt, trong ĐTD týp 2 kết hợp với các thành phần khác của hội chứng chuyển hoá, tạo thành vòng xoắn bệnh lý, càng khó khăn trong tiên lượng và điều trị. Nghiên cứu Framingham, Masmoudi S. cho thấy bệnh lý động mạch chi dưới ở BN ĐTD có liên quan đến rối loạn chuyển hóa lipid. Nghiên cứu của David N.O. và cộng sự (2003) thấy có sự liên quan chặt chẽ của IMT động mạch đùi với tăng cholesterol, tăng triglycerid và giảm HDL [7]. Nguyễn Hữu Chức (2010) thấy rằng ở những BN ĐTD týp 2 có rối loạn lipid máu đều có tỷ lệ tổn thương động mạch chi dưới cao hơn BN ĐTD không bị rối loạn lipid ($p < 0,05$) [2]. Nghiên cứu của Trần Hồng Nghị (2005) cho thấy rõ mối liên quan chặt chẽ giữa rối loạn lipid máu với IMT ở ĐMĐC và mảng vữa xơ động mạch khi khảo sát 216 BN tăng huyết áp có rối loạn lipid máu với nhóm không có rối loạn lipid máu: IMT trung bình là $0,88 \pm 0,23\text{mm}$, tỷ lệ vữa xơ động mạch chiếm 27,9% còn nhóm không có rối loạn lipid máu IMT trung bình là $0,80 \pm 0,16\text{mm}$, tỷ lệ vữa xơ động mạch là 3,5%. Đồng thời, vận tốc tâm thu ở nhóm tăng huyết áp có rối loạn

lipid cao hơn nhóm tăng huyết áp không rối loạn lipid ($p < 0,05$) [10]. Kết quả phân tích 66 BN ĐTD týp 2, chúng tôi ghi nhận chỉ có 17 người không có rối loạn lipid máu, tỉ lệ BN có rối loạn ít nhất một thành phần lipid máu là 74,2%, IMT trung bình của nhóm này ở ĐMĐC là $1,74 \pm 0,72\text{mm}$ cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không có rối loạn lipid máu $1,15 \pm 0,44\text{mm}$, ($p < 0,001$). Tỷ lệ mảng vữa xơ ở nhóm có rối loạn ít nhất một thành phần lipid máu (46,9%) cũng cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không bị rối loạn lipid máu (5,9%); nhóm BN ĐTD týp 2 có tăng cholesterol, triglycerid, LDL-C và giảm HDL-C đều có IMT trung bình và tỷ lệ mảng vữa xơ ở ĐMĐC cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không tăng cholesterol, triglycerid, LDL-C và giảm HDL-C; IMT ở ĐMĐC của nhóm BN ĐTD týp 2 có tương quan thuận mức độ chặt với nồng độ cholesterol trong máu ($r = 0,70$; $p < 0,001$) và tương quan mức độ khá chặt với nồng độ của triglyceride ($r = 0,52$; $p < 0,001$) và LDL-C ($r = 0,66$; $p < 0,001$). David N.O. và cộng sự (2003) nghiên cứu về ảnh hưởng của ĐTD týp 2 và các yếu tố nguy cơ tim mạch trên cấu trúc và chức năng các động mạch chi dưới không bị hẹp, cũng thấy có mối liên quan chặt chẽ của sự tăng IMT với các yếu tố: tăng triglycerid, giảm HDL-C và hội chứng chuyển hóa [7]. Nghiên cứu của Gariepy J. và cộng sự (1995) trên 101 nam giới không có triệu chứng của bệnh vữa xơ động mạch ở độ tuổi từ 28 đến 60 cho thấy IMT ở động mạch cánh và động mạch đùi có mối tương quan thuận mức độ vừa với tăng cholesterol toàn phần ($r = 0,33$; $p < 0,001$ và $r = 0,34$; $p < 0,001$), trong nghiên cứu cũng chỉ ra IMT động mạch đùi là chỉ điểm cho bệnh lý động mạch vành [9].

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 66 BN ĐTĐ týp 2 tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương chúng tôi rút ra một số kết luận như sau:

+ Bề dày IMT trung bình là $1,59 \pm 0,71$ (mm), tỷ lệ BN có dày IMT và có mảng vữa xơ ở ĐMĐC là 37,9% và 36,4%, tỷ lệ BN bị hẹp ở ĐMĐC là 4,5%, tất cả các BN này đều hẹp dưới 50%.

+ BN ĐTĐ týp 2 có rối loạn cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C và rối loạn lipid máu chung IMT trung bình và tỷ lệ mảng vữa xơ ở ĐMĐC cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không có các rối loạn này, ($p < 0,05$).

+ IMT ở ĐMĐC của nhóm BN ĐTĐ týp 2 có mối tương quan thuận mức độ khá chặt với nồng độ triglycerid ($r = 0,52$; $p < 0,001$) và LDL-C ($r = 0,66$; $p < 0,001$); tương quan mức độ chặt với nồng độ cholesterol ($r = 0,70$; $p < 0,001$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Diệp Thị Thanh Bình (2009)**, "Chẩn đoán và sàng lọc bệnh đái tháo đường tại Việt Nam", Khuyến cáo về bệnh đái tháo đường tại Việt Nam, Nhà xuất bản Y học, tr. 11 - 14.
2. **Nguyễn Hữu Chức, Nguyễn Kim Lương (2010)**, Nghiên cứu tình trạng động mạch lớn chi dưới ở bệnh nhân đái tháo đường týp 2, Luận văn thạc sĩ y học. Đại học Y dược Thái Nguyên.
3. **Phạm Mạnh Cường (2012)**, "Siêu âm Doppler động mạch chi dưới", Siêu âm Doppler màu trong thăm khám mạch máu tạng và mạch ngoại biên, Nhà xuất bản Y học, tr. 101 - 123.
4. **Vũ Thị Hà Ninh, Trần Hữu Dàng (2011)**, Nghiên cứu đặc điểm siêu âm của động mạch hai chi dưới ở bệnh nhân đái tháo đường týp 2, Luận văn thạc sĩ y học, Đại học Y dược Huế.
5. **Arbeille P., Bouin - Pineua M. H. and Herault S. (1999)**, "Accuracy of the main Doppler methods for evaluating the degree of carotid stenosis (continuous wave, pulsed wave, and color Doppler)", *Ultrasound in Med and Biol*, 25, pp. 65 - 73.
6. **Belcaro., Nicholaides A.N., et al. (1996)**, "Ultrasound Morphology Classification of the Arterial Wall and Cardiovascular Events in a 6-year Follow-up study", *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, 16, pp. 8851 - 8856.
7. **David N. O., George D., et al (2003)**, "A Cross Sectional Study of Effects type 2 Diabetes and Other Cardiovascular Risk Factors on Structure and Function of Nonstenotic Arteries of Lower Limb", *Diabetes Care*, 26, pp. 199 - 205.
8. **Festa A. et al (2000)**, "Inflammation and microalbuminuria in nondiabetic and type 2 diabetic subjects: the insulin resistance atherosclerosis study", *Kidney Int*, 58(4), pp. 1703 - 1710.
9. **Garipey J., Simon A., et al (1995)**, "Wall thickening of carotid and femoral arteries in male subjects with isolated hypercholesterolemia", *PCVME TRA Group. Prevention cardio- Vasculaire en Medecine du Travail. Atherosclerosis*, 113, pp. 141 - 151.
10. **Pignoli P. et al. (1986)**, "Intimal plus media thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging", *Circulation*, 74, pp. 1399 - 1406.

LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ LIPID HUYẾT TƯƠNG VỚI TỔN THƯƠNG BỆNH VÔNG MẠC ĐÁI THÁO ĐƯỜNG Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYP 2 TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Lương Thị Hải Hà¹, Đặng Đức Minh¹, Nguyễn Thị Hoa¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương với nguy cơ mắc bệnh võng mạc đái tháo đường ở bệnh nhân đái tháo đường typ 2.

Đối tượng và phương pháp: Mô tả cắt ngang trên 395 bệnh nhân đái tháo đường typ 2 được điều trị ngoại trú tại BV Trung Ương Thái Nguyên.

Kết quả: Tỷ lệ bệnh võng mạc đái tháo đường (VMĐTĐ) là 18,5% trong đó có 63% trường hợp bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh và 37% VMĐTĐ tăng sinh. Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương (mmol/L) gồm cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C tương ứng ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ có bệnh VMĐTĐ là 5,42±1,46; 3,11±1,32; 3,31±1,62; 3,81±2,71 cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân ĐTĐ không mắc bệnh VMĐTĐ tương ứng là 3,77±1,37; 2,16±0,98; 2,13 ±1,23; 2,52 ± 0,97. Nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C có sự liên quan tuyến tính đến nguy cơ mắc bệnh VMĐTĐ. Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê theo mức độ bệnh VMĐTĐ.

Kết luận: Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương ở nhóm bệnh VMĐTĐ cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không có bệnh VMĐTĐ,

nồng độ một số thành phần lipid huyết tương không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh và nhóm bệnh VMĐTĐ tăng sinh.

Từ khóa: Thị lực, bệnh võng mạc đái tháo đường, đái tháo đường.

SUMMARY

ASSOCIATION OF DIABETIC RETINOPATHY AND LIPID PROFILE IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS IN THAI NGUYEN NATIONAL HOSPITAL

Objective: Analysis of the relationship between lipid profile and risk diabetic retinopathy.

Methods: A cross-sectional study of 395 patients with diabetes type in Thai Nguyen National hospital.

Results: Totally 395 patients were included, of which 18.5% had diabetic retinopathy. Of which 63% of the patients had non-proliferative diabetic retinopathy, 37% of the patients had proliferative diabetic retinopathy. The lipid profile including total cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C level (mmol/L) corresponding in diabetic patients with retinopathy were 5.42±1.46; 3.11±1.32; 3.31±1.62; 3.81±2.71 higher than in diabetic patients with no retinopathy 3.77±1.37; 2.16±0.98; 2.13±1.23; 2.52±0.97, corresponding. In the risk diabetic retinopathy, was found to have statistically significant correlation with the presence of dyslipidemia, increased total cholesterol (0.0367), triglycerid levels (p=0.0012) and HDL-

**Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên*

Chịu trách nhiệm chính: Lương Thị Hải Hà
Email: haihamat@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

C ($p=0.0005$). However there was no correlation with the occurrence and severity of diabetic retinopathy.

Conclusion: In diabetic patients with retinopathy, the lipid profile was higher than in diabetic patients with no retinopathy. Dyslipidemia was not significantly associated with the proliferative diabetic retinopathy and non-proliferative diabetic retinopathy.

Key words: Vision acuity, diabetic retinopathy, diabetes.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một bệnh rối loạn chuyển hóa glucid mạn tính thường gặp. Theo thống kê của Liên đoàn ĐTĐ quốc tế (IDF 2017), trên thế giới hiện đang có 425 triệu người mắc ĐTĐ trong độ tuổi từ 20 đến 79 (cứ 11 người lớn thì có 1 người mắc ĐTĐ), chi phí y tế toàn cầu cho ĐTĐ chiếm 12% (khoảng 727 tỷ đô la). Năm 2019, số bệnh nhân mắc ĐTĐ trên toàn thế giới là 463 triệu và dự báo con số này lên đến 700 triệu người vào năm 2045 [7]. Bệnh ĐTĐ đang gia tăng trên toàn thế giới và tỷ lệ các biến chứng cũng tăng theo. Các biến chứng bao gồm biến chứng mắt, tim mạch, thận, thần kinh. Trong đó biến chứng mắt rất thường gặp và khá nguy hiểm nhất đặc biệt là biến chứng tại võng mạc, tỷ lệ bệnh nhân mắc bệnh võng mạc đái tháo đường (VMĐTĐ) từ khoảng 20% đến 35% [1]. Bệnh VMĐTĐ là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây mất thị lực. Nếu không được phát hiện và điều trị kịp thời sẽ gây ra những tổn thương nặng nề ở đáy mắt như: phù hoàng điểm, tân mạch võng mạc, xuất huyết dịch kính, xuất huyết võng mạc... và có thể dẫn đến tình trạng mù lòa gây ảnh hưởng nghiêm trọng

đến chất lượng cuộc sống của người bệnh [2].

Ngay từ năm 1952, Keiding và cộng sự đã có báo cáo đầu tiên về mối liên quan giữa nồng độ một số thành phần lipid huyết tương với tiến triển của bệnh VMĐTĐ. Từ đó đến nay có nhiều nghiên cứu về mối liên quan này đã được thực hiện. Tuy nhiên, kết quả các nghiên cứu còn nhiều tranh cãi [8]. Tại bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên hiện nay đang quản lý gần 7000 bệnh nhân ĐTĐ, nhưng chưa có nghiên cứu nào đánh giá về có mối liên quan giữa nồng độ lipid huyết tương với tổn thương VMĐTĐ? Vì vậy nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: *“Phân tích mối liên quan giữa nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương với nguy cơ mắc bệnh võng mạc đái tháo đường ở bệnh nhân đái tháo đường type 2”*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành với trên 395 bệnh nhân đái tháo đường type 2 đang được theo dõi và điều trị ngoại trú tại Bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên.

***Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:** Chẩn đoán ĐTĐ type 2 theo khuyến cáo của WHO (2005), dựa trên các đặc điểm lâm sàng sau:

Bệnh khởi phát muộn, thường không rõ triệu chứng, bắt đầu từ từ, các dấu hiệu ăn nhiều, uống nhiều, đái nhiều, gầy sút cân không rõ rệt.

Thể trạng thường béo, tiền sử gia đình thường có người mắc ĐTĐ type 2.

Hiếm khi nhiễm toan ceton.

Áp dụng một hoặc phối hợp nhiều phương pháp điều trị như thay đổi chế độ ăn, tăng

cường vận động, sử dụng thuốc hạ glucose máu bằng đường uống hoặc insulin.

***Tiêu chuẩn loại trừ:**

Có các bệnh lý bề mặt nhãn cầu.

Đang bị các bệnh lý bề mặt nhãn cầu cấp tính.

Tiền sử dị ứng với Fluorescein.

Bệnh nhân già yếu hoặc đang mang thai.

Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu

- Nghiên cứu được tiến hành tại phòng khám Mắt và phòng khám Đái tháo đường, BV Trung Ương Thái Nguyên.

- Thời gian: từ tháng 01 đến tháng 06 năm 2021.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang

2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu được tính theo công thức ước tính một tỷ lệ [7]:

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

Trong đó:

$Z^2_{(1-\alpha/2)} = 1,96$ khi $\alpha = 0,05$.

p: tỷ lệ tổn thương tại mắt gây giảm thị lực trên những bệnh nhân đái tháo đường type 2 tỷ lệ này là 27,0%, dựa trên nghiên cứu của tác giả Thomas (2019) [9].

α : mức ý nghĩa thống kê ($\alpha = 0,05$)

Δ : sai số ấn định trong nghiên cứu (5%)

n: số bệnh nhân tối thiểu cần nghiên cứu để kết quả có ý nghĩa.

Tính ra $n = 302,9$ bệnh nhân. Trên thực tế chúng tôi tiến hành nghiên cứu này trên 395 bệnh nhân.

2.5. Phương tiện nghiên cứu

Bảng thị lực Landolt, hộp thử kính, bộ đo nhãn áp kế, sinh hiển vi khám, kính Volk,

thuốc giãn đồng tử Mydrin-P Fluorescein 10%, máy chụp ảnh màu đáy mắt, chụp mạch huỳnh quang đáy mắt, máy xét nghiệm sinh hóa máu...

2.6. Các bước tiến hành

- Hỏi bệnh:

+ Tuổi.

+ Giới.

+ Thời gian mắc bệnh ĐTĐ.

- Lấy máu xét nghiệm sinh hóa máu: Định lượng cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C.

- Đo thị lực, thử kính nếu thị lực $\leq 7/10$.

- Khám và đánh giá bán phần trước nhãn cầu bằng sinh hiển vi.

- Soi đáy mắt bằng kính Volk để phát hiện tổn thương đáy mắt.

- Chụp ảnh màu đáy mắt, nếu có tổn thương nghi ngờ thì chụp mạch huỳnh quang phát hiện vi phình mạch, tân mạch, xuất huyết, phù hoàng điểm, xuất tiết,...

2.7. Các biến số nghiên cứu

- Giới: Nam hay nữ

- Tuổi: Chia làm 2 nhóm tuổi:

+ <60 tuổi (ĐTĐ ở độ tuổi lao động)

+ ≥ 60 tuổi (ĐTĐ ở người già)

- Đánh giá thời gian mắc bệnh ĐTĐ: Là thời gian tính từ khi bệnh nhân được chẩn đoán chắc chắn bị ĐTĐ, tính theo năm. Thời gian mắc bệnh chia thành 2 nhóm:

+ <10 năm

+ ≥ 10 năm

- Đánh giá mức độ kiểm soát glucose huyết: Dựa vào nồng độ glucose máu hàng tháng để đánh giá.

+ Kiểm soát tốt nồng độ glucose máu ≤ 7 mmol/L

+ Không kiểm soát tốt nồng độ glucose máu > 7 mmol/L

- Đánh giá giai đoạn bệnh vồng mạc đái tháo đường:

Phân loại	Tổn thương quan sát được trên soi đáy mắt
Bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh:	
- Mức độ nhẹ:	Có 1 vi phình mạch
-Mức độ trung bình:	Có nhiều vi phình mạch
- Mức độ nặng:	Có nhiều vi phình mạch và các dấu hiệu khác (như: chấm và đám xuất huyết, nhiều xuất tiết cứng, nhiều xuất tiết dạng bông) nhưng chưa đến mức độ rất nặng.
- Mức độ rất nặng:	Là mức độ nặng + bất kỳ một trong các dấu hiệu sau: xuất huyết vồng mạc ($\geq 20\%$ mỗi góc phần tư), bất thường tĩnh mạch (trên 2 góc phần tư), tổn thương vi mạch vồng mạc (trên 1 góc phần tư), và không có dấu hiệu của bệnh VMĐTĐ tăng sinh.
Bệnh VMĐTĐ tăng sinh: Là bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh nặng + 1 hoặc nhiều dấu hiệu sau: tân mạch, xuất huyết dịch kính và/hoặc xuất huyết trước vồng mạc.	

2.8. Phương pháp xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm Stata 14.2 và xử lý số liệu theo phương pháp thống kê y học.

2.9. Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu được Hội đồng thông qua đề cương nghiên cứu và Hội đồng Y đức trường Đại học Y Dược Thái Nguyên thông qua.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Một số đặc điểm lâm sàng nhóm bệnh nhân nghiên cứu (n=395)

Đặc điểm		n	%
Tuổi	$\bar{X} \pm SD$ (năm)	74,7 $\pm$ 6,8	Min-Max: 43-93
	<60 tuổi	7	1,8
	≥ 60 tuổi	388	98,2
Giới	Nam	201	50,9
	Nữ	194	49,1
BMI (kg/m ²)	$\bar{X} \pm SD$	23,55 $\pm$ 1,96	Min-Max: 18,7-29,1
	<23	140	35,4
	≥ 23	255	64,6
Thời gian mắc bệnh	$\bar{X} \pm SD$ (năm)	11,4 $\pm$ 4,5	Min-Max: 4-31
	<10 năm	146	37,0
	≥ 10 năm	249	63,0
Huyết áp	HATT ($\bar{X} \pm SD$)	131,9 $\pm$ 14,2	110 – 170
	HATTr ($\bar{X} \pm SD$)	77,5 $\pm$ 11,9	60 – 110
	Bình thường	253	64,1
	Tăng HA	142	35,9

Nhận xét: Không có sự khác biệt về giới ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu. Bệnh nhân chủ yếu ở độ tuổi ≥ 60 , chiếm tới 98,2%, tỷ lệ bệnh nhân có thừa cân, béo phì chiếm 64,6%. Thời gian mắc bệnh trung bình là 11,4 năm, tỷ lệ bệnh nhân có thời gian ≥ 10 năm chiếm 63,0%. Có 35,9% bệnh nhân tăng huyết áp.

Bảng 2. Tỷ lệ tổn thương võng mạc do bệnh đái tháo đường

Chỉ số		n	%
Tổn thương VMĐTĐ	Có	73	18,5
	Không	322	81,5
	Tổng	395	100
Phân loại tổn thương VMĐTĐ			
VMĐTĐ chưa tăng sinh	Mức độ nhẹ	20	27,4
	Mức độ trung bình	9	12,3
	Mức độ nặng	10	13,7
	Mức độ rất nặng	7	9,6
VMĐTĐ tăng sinh		27	37,0
Tổng		73	100

Nhận xét: Trong nghiên cứu của chúng tôi có 73 bệnh nhân có tổn thương VMĐTĐ, chiếm tỉ lệ 18,5%. Phân loại tổn thương VMĐTĐ có 46 bệnh nhân được chẩn đoán giai đoạn bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh (chiếm 63%), 27 bệnh nhân bệnh VMĐTĐ tăng sinh (chiếm 37%).

Bảng 3. Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Nồng độ	Có bệnh VMĐTĐ (n=73)	Không có bệnh VMĐTĐ (n=322)	p
Cholesterol _{TP} (mmol/L)	5,42 $\pm$ 1,46	3,77 $\pm$ 1,37	< 0,001
Triglycerid (mmol/L)	3,11 $\pm$ 1,32	2,16 $\pm$ 0,98	< 0,001
HDL-C (mmol/L)	3,31 $\pm$ 1,62	2,13 $\pm$ 1,23	< 0,001
LDL-C (mmol/L)	3,81 $\pm$ 2,71	2,52 $\pm$ 0,97	< 0,001

Nhận xét: Nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C ở nhóm bệnh nhân có tổn thương VMĐTĐ cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân không có tổn thương VMĐTĐ với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p < 0,001.

Bảng 4. Mối liên quan giữa nồng độ một số thành phần lipid huyết tương với bệnh VMĐTĐ

Chỉ số	RR (95%CI)	p
Cholesterol _{TP} (mmol/L)	1,12 (1,01-1,25)	0,0367
Triglycerid (mmol/L)	0,84 (0,67-0,97)	0,0012
HDL-C (mmol/L)	1,19 (1,03-1,42)	0,0005
LDL-C (mmol/L)	1,10 (0,89-1,22)	0,0946

Nhận xét: Nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C tăng làm tăng nguy cơ mắc bệnh vông mạc đái tháo đường với $p < 0,05$ và $0,001$, nồng độ Triglycerid tăng làm giảm nguy cơ mắc bệnh vông mạc đái tháo đường có sự liên quan tuyến tính đến nguy cơ mắc bệnh vông mạc đái tháo đường với $p < 0,05$ và $0,001$.

Bảng 5. Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương với giai đoạn tổn thương bệnh VMĐTĐ

Nồng độ	Bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh (n=46)	Bệnh VMĐTĐ tăng sinh (n=27)	P
Cholesterol (mmol/L)	5,39 ± 1,42	5,45 ± 1,56	0,55
Triglycerid (mmol/L)	3,04 ± 1,18	3,23 ± 1,55	0,86
HDL-C (mmol/L)	3,27 ± 1,48	3,39 ± 1,86	0,85
LDL-C (mmol/L)	3,86 ± 3,29	3,73 ± 1,23	0,78

Nhận xét: Nồng độ cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C giữa nhóm bệnh nhân tổn thương VMĐTĐ giai đoạn chưa tăng sinh và tăng sinh không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

***Đặc điểm về tuổi và giới của đối tượng nghiên cứu**

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 201 bệnh nhân nam chiếm 50,9%, 194 bệnh nhân nữ chiếm 49,1%, không có sự khác biệt giữa tỷ lệ nam và nữ.

Nghiên cứu này cho kết quả tương tự như của tác giả Shimin Jiang và cộng sự năm 2019 cho thấy trong số các bệnh nhân đái tháo đường thường không có sự khác biệt giữa tỷ lệ nam và nữ [6].

*** Đặc điểm tổn thương tại mắt**

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 73 bệnh nhân có tổn thương vông mạc do đái tháo đường gây ra chiếm tỉ lệ 18,5%. Trong đó các hình thái tổn thương gặp trên nhóm đối tượng có bệnh VMĐTĐ là vi phình mạch, xuất tiết VM, xuất huyết VM, tân mạch VM, phù HĐ và tắc mạch.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho kết quả tương tự như trong nghiên cứu của tác giả Trần Thị Thu Hiền (2007) khi tiến hành khảo sát tổn thương VM trên 98 bệnh nhân

ĐTĐ thì thấy tỷ lệ có tổn thương VM là 25% với các tổn thương hay gặp nhất là vi phình mạch, xuất huyết, xuất tiết, tân mạch VM, và có một số trường hợp có bong vông mạc [2].

***Giai đoạn tổn thương của bệnh VMĐTĐ trên đối tượng nghiên cứu**

Trong 73 bệnh nhân được chẩn đoán bệnh VMĐTĐ thì có 46 bệnh nhân giai đoạn bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh chiếm 63% trong đó tổn thương ở mức độ nhẹ chiếm đa số (27,4%), 27 bệnh nhân bệnh VMĐTĐ tăng sinh. Có 25 bệnh nhân có phù hoàng điểm.

Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương tự như trong nghiên cứu của tác giả Lê Thị Hiền (2020) khi tiến hành nghiên cứu tổn thương đáy mắt trên bệnh nhân ĐTĐ tại bệnh viện đa khoa tỉnh Hòa Bình [1].

Theo nghiên cứu của tác giả Salaria (2019) trong số 75 bệnh nhân bệnh VMĐTĐ được phân bố bệnh VMĐTĐ thì tỷ lệ bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh mức độ nhẹ, trung bình, nặng và rất nặng tương ứng là 33 (44%); 22 (29%); 8 (10%); 5 (6,66%); có 7 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 9,33% bệnh VMĐTĐ

tăng sinh [5].

***Nồng độ cholesterol, triglycerid, HDL-C, LDL-C trong đánh giá nguy cơ bệnh vông mạc đái tháo đường**

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C ở nhóm bệnh nhân có bệnh VMĐTĐ cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân không có bệnh VMĐTĐ (bảng 3). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của tác giả Salaria (2019) đã nghiên cứu về nồng độ một số thành phần lipid huyết tương ở 150 bệnh nhân đái tháo đường trong đó có 75 BN mắc bệnh VMĐTĐ (nhóm I), 75 bệnh nhân không mắc VMĐTĐ (nhóm II), kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid ở nhóm I cao hơn có ý nghĩa so với nhóm II, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$ [5].

Về mối liên quan giữa nồng độ một số thành phần lipid huyết tương với bệnh VMĐTĐ, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: ở nhóm bệnh nhân có bệnh VMĐTĐ có nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương ở nhóm bệnh nhân có bệnh VMĐTĐ cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không có bệnh VMĐTĐ. Tuy nhiên, khi phân tích đa biến đánh giá tỷ số nguy cơ tương đối (RR: relative risk) của nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương với bệnh VMĐTĐ thì chúng tôi thấy chỉ có nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C có giá trị trong đánh giá nguy cơ bệnh VMĐTĐ với $p < 0,05$ và 0,001. Nghiên cứu về mối liên quan giữa nồng độ một số thành phần lipid huyết tương với bệnh VMĐTĐ, kết quả của tác giả Salaria cho thấy ở nhóm bệnh nhân có rối loạn nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C thì tỷ lệ bệnh VMĐTĐ ở các mức độ đều cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân không có rối loạn các chỉ số trên [5].

Tuy nhiên, trong một phân tích gộp tác Zhou (2018) đã phân tích qua 7 nghiên cứu về mối liên quan giữa một số thành phần lipid huyết tương với bệnh VMĐTĐ, kết quả cho thấy chưa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C ở nhóm bệnh nhân đái tháo đường có bệnh VMĐTĐ so với nhóm bệnh nhân không có bệnh VMĐTĐ nên cần có những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn nữa để tìm hiểu mối liên quan này [8].

Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương ở nhóm bệnh nhân có bệnh VMĐTĐ theo phân loại bệnh, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương giữa 2 nhóm bệnh nhân bệnh VMĐTĐ tăng sinh với nhóm bệnh nhân bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với nghiên cứu của tác giả Salaria [5].

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu chúng tôi xin rút ra một số kết luận như sau:

- Tỷ lệ bệnh VMĐTĐ là 18,5% trong đó có 63% trường hợp bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh và 37% VMĐTĐ tăng sinh.
- Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương ở nhóm bệnh VMĐTĐ cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không có bệnh VMĐTĐ, nồng độ một số thành phần lipid huyết tương không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh VMĐTĐ chưa tăng sinh và nhóm bệnh VMĐTĐ tăng sinh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Hiền (2020), “Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng bệnh vông mạc đái tháo đường tại bệnh viện đa khoa tỉnh Hòa Bình năm 2020 và một số yếu tố liên quan”, Luận

- văn chuyên khoa cấp 2, Trường đại học Y Hà Nội.
2. **Trần Thị Thu Hiền (2008)**, “Nghiên cứu biến chứng trên mắt bệnh nhân đái tháo đường tại bệnh viện Mắt Trung ương”, Luận văn thạc sĩ Y học, trường Đại học Y Hà Nội.
 3. **Jyothi Idiculla, Suneetha Nithyanandam, et al (2012)**, “Serum lipids and diabetic retinopathy: A cross – retinopathy”, Indian J Endocrinol Metab: 16 (Suppl 2): S492-494.
 4. **Li L, Zhang X, Li Z, Zhang R (2017)**, “Renal pathological implications in type 2 diabetes mellitus patients with renal involvement”, J Diabetes Complication, 31(1):114-121.
 5. **Salaria N.S, Vyas M (2019)**, “Association of Diabetic Retinopathy and Lipid Profile in Diabetic Patients in Mathura District”, Asian Journal of Medical Research, 8 (1), pp. 1-5.
 6. **Shimin Jiang, Tianyu Yu, Zheng Zhang, et al (2019)**, “Diagnostic Performance of retinopathy in the detection of Diabetic nephropathy in Type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis of 45 studies”, Ophthalmic Research, 62, pp. 68-79
 7. **Thomas R.L, Halim S, Gurudas S, Sivaprasad S, Owens D.R (2019)**, “IDF Diabetes Atlas: A review of studies utilising retinal photography on the global prevalence of diabetes related retinopathy between 2015 and 2018”, Diabetes Research and Clinical Practice, 157, pp 1-13.
 8. **Zhou Y, Wang C, Shi K, Yin X (2018)**, “Relationship between dyslipidemia and diabetic retinopathy”, Medicine, 97 (36), pp. 1-6.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ DOPAMIN TRONG DỊCH NÃO TỦY VÀ MỐI LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ DOPAMIN VỚI MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG Ở BỆNH NHÂN PARKINSON

Nguyễn Hữu Quang², Nhữ Đình Sơn¹, Nguyễn Đức Thuận¹,
Lê Văn Quân¹, Trần Thị Ngọc Trường¹,
Hoàng Thị Dung¹, Trịnh Văn Quỳnh¹

TÓM TẮT¹⁶

Mục tiêu: Nghiên cứu nồng độ dopamin trong dịch não tủy và mối liên quan giữa nồng độ dopamin với một số đặc điểm lâm sàng ở bệnh nhân Parkinson. **Đối tượng và phương pháp:**

¹Bệnh viện Quân y 103

²Trường đại học Buôn Ma Thuột

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Quang
Email: nhquang@bmtvietnam.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

nghiên cứu 80 bệnh nhân Parkinson và 40 bệnh nhân nhóm chứng; phương pháp: tiến cứu, mô tả cắt ngang có so sánh với nhóm chứng. Xét nghiệm nồng độ dopamin bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS). **Kết quả:** Nồng độ dopamin dịch não tủy ở nhóm bệnh nhân Parkinson là $20,22 \pm 4,47$ pg/ml; nhóm chứng là $31,85 \pm 12,56$ pg/ml, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Nồng độ dopamin dịch não tủy giữa các nhóm tuổi và giới tính khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nồng độ dopamin dịch não tủy giảm dần khi thời gian mắc bệnh

tăng dần ($p < 0,01$), từ mức độ bệnh nhẹ đến mức độ bệnh rất nặng ($p < 0,001$), từ giai đoạn bệnh 1 đến giai đoạn 4,5 ($p < 0,001$). Nồng độ dopamin dịch não tủy nhóm có trầm cảm thấp hơn nhóm bệnh nhân không có trầm cảm ($p < 0,001$), và nồng độ dopamin giảm dần từ trầm cảm mức độ nhẹ đến trầm cảm mức độ nặng, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Có sự tương quan hồi qui tuyến tính, tương quan nghịch có nghĩa thống kê, giữa nồng độ dopamin dịch não tủy với thời gian mắc bệnh ($R = -0,41$, $p < 0,001$). **Kết luận:** Nồng độ dopamin dịch não tủy ở bệnh nhân Parkinson giảm có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng. Nồng độ dopamin dịch não tủy bệnh nhân Parkinson giảm dần có ý nghĩa thống kê theo mức độ nặng của bệnh, giai đoạn bệnh, mức độ trầm cảm tăng dần.

Từ khóa: Bệnh Parkinson; nồng độ dopamine dịch não tủy.

SUMMARY

RESEARCH OF THE CONCENTRATION OF DOPAMINE IN THE CEREBROSPINAL FLUID AND THE RELATIONSHIP BETWEEN THE DOPAMINE CONCENTRATION AND SOME CLINICAL CHARACTERISTICS IN PARKINSON'S PATIENTS

Objectives: To study the concentration of dopamine in the cerebrospinal fluid and the relationship between the dopamine concentration and some clinical characteristics in Parkinson's patients. **Subjects and methods:** 80 Parkinson's patients and 40 control patients were studied; **Methods:** prospective, cross-sectional description with comparison with control group. Dopamine concentration was tested by liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS). **Results:** The concentration of dopamine in the cerebrospinal fluid in the group of Parkinson's patients was 20.22 ± 4.47 pg/ml; the control

group was 31.85 ± 12.56 pg/ml, the difference was statistically significant ($p < 0.001$). Dopamine concentrations in cerebrospinal fluid were not statistically significant between age and sex groups. The concentration of dopamine in the cerebrospinal fluid gradually decreased as the duration of the disease gradually increased ($p < 0.01$), from mild disease to very severe disease ($p < 0.001$), from disease stage 1 to stage 4, 5 ($p < 0.001$). The concentration of cerebrospinal fluid dopamine in the group with depression was lower than in the group without depression ($p < 0.001$), and the concentration of dopamine gradually decreased from mild depression to severe depression, the difference was significant. statistical significance ($p < 0.001$). There is a linear regression correlation, a statistically significant negative correlation, between the concentration of dopamine in the cerebrospinal fluid and the duration of the disease ($R = -0.41$, $p < 0.001$). **Conclusion:** The concentration of dopamine in the cerebrospinal fluid in Parkinson's patients decreased statistically significantly compared with the control group. The concentration of cerebrospinal fluid dopamine in the group of Parkinson's patients gradually decreased with statistical significance when the disease severity, disease stage, and depression level gradually worsened.

Keywords: Parkinson's disease; CSF dopamine concentration.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Parkinson là một bệnh thoái hóa thần kinh trung ương mạn tính tiến triển, một trong các bệnh lý hay gặp của hệ ngoại tháp. Cơ chế bệnh Parkinson là sự mất các tế bào thần kinh ở hệ dopamin ở phần đặc liềm đen trên não bộ, làm giảm lượng dopamin và gây ra triệu chứng rối loạn vận động [1]. Đánh

giá nồng độ dopamin và các chất chuyển hóa của dopamin trong huyết tương và dịch não tủy là một trong những phương pháp tiếp cận chẩn đoán ở bệnh nhân Parkinson. Nồng độ dopamin trong huyết tương bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố do dopamin được sản xuất ở nhiều các cơ quan ngoại vi đặc biệt là tuyến thượng thận, trong khi nồng độ dopamine trong dịch não tủy tương đối ổn định do hệ thần kinh trung ương được nuôi dưỡng, đệm đỡ bởi môi trường dịch não tủy và giữa máu và dịch não tủy còn có hàng rào máu – dịch não tủy bảo vệ. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với mục tiêu xác định nồng độ dopamin trong dịch não tủy và mối liên quan với một số đặc điểm lâm sàng ở bệnh nhân Parkinson.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 120 bệnh nhân, điều trị tại khoa Thần kinh Bệnh viện Quân y 103 từ 9/2018 đến tháng 8/2021. Chia thành 2 nhóm:

- Nhóm bệnh: Gồm 80 bệnh nhân Parkinson được chẩn đoán bệnh theo tiêu chuẩn chẩn đoán MDS - PD Criteria (Movement Disorder Society Clinical Diagnostic Criteria for Parkinson Disease) năm 2015 [2].

- Nhóm chứng: Gồm 40 bệnh nhân mắc các bệnh lý thần kinh ngoại vi có đặc điểm tuổi, giới tính tương đồng với nhóm bệnh. Nhóm chứng có chỉ định chọc ống sống thắt lưng làm xét nghiệm dịch não tủy phục vụ chẩn đoán các bệnh lý thần kinh khác.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Không mắc các bệnh lý thoái hóa thần

kinh (bệnh Parkinson, bệnh sa sút trí tuệ, teo đa hệ thống, thoái hóa hạch nền, sa sút trí tuệ thể Lewy, sa sút trí tuệ trán - thái dương), đồng thời cũng không mắc hội chứng Parkinson khác.

- Bệnh nhân mắc các bệnh lý nội tiết ảnh hưởng lượng dopamin như: cường giáp, suy giáp, cường tuyến thượng thận, suy tuyến thượng thận, ...

- Bệnh nhân mắc các bệnh lý cấp tính như: bệnh lý tim mạch, bệnh lý tâm thần như: tâm thần phân liệt, rối loạn cảm xúc lưỡng cực.

- Bệnh nhân có tiền sử nghiện ma túy và/hoặc nghiện rượu.

- Bệnh nhân mù chữ hoặc rối loạn chức năng ngôn ngữ như nghe, đọc.

2. Phương pháp nghiên cứu:

Nghiên cứu tiến cứu, mô tả cắt ngang có so sánh với nhóm chứng, chọn mẫu thuận tiện. Thu thập số liệu theo bệnh án nghiên cứu thống nhất, khai thác tiền sử, khám lâm sàng, làm các xét nghiệm để loại trừ những bệnh nhân nằm trong tiêu chuẩn loại trừ.

- Các thang điểm đánh giá lâm sàng:

- + Đánh giá mức độ rối loạn vận động theo thang điểm thống nhất đánh giá bệnh Parkinson phần III (UPDRS: Unified Parkinson's Disease Rating Scale) [3].

- + Đánh giá giai đoạn bệnh theo Hoehn và Yahr gồm 5 giai đoạn, từ I đến V [4].

- + Chẩn đoán trầm cảm theo tiêu chuẩn ICD-10 và đánh giá mức độ trầm cảm theo thang điểm BECK [5].

- Bệnh nhân Parkinson chưa được dùng thuốc, hoặc đang điều trị nhưng ngừng thuốc tối thiểu 6 giờ trước khi lấy dịch não tủy làm xét nghiệm. Chọc ống sống thắt lưng lấy 2ml

dịch não tủy, lưu trữ mẫu ở nhiệt độ âm 83⁰C.

- Xét nghiệm nồng độ dopamin bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS: Liquid Chromatography - Mass Spectrometry) tại Viện nghiên cứu Y Dược học Quân sự - Học Viện Quân y.

- *Xử lý số liệu* sử dụng phần mềm Stata

14. Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

- **Đạo đức trong nghiên cứu:** Tất cả bệnh nhân được giải thích đầy đủ, tự nguyện tham gia nghiên cứu và đồng ý lấy dịch não tủy. Bệnh nhân không phải trả bất kì chi phí nào trong quá trình nghiên cứu.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Nồng độ dopamin dịch não tủy nhóm bệnh và nhóm chứng

Nhóm nghiên cứu	Số lượng (n)	Dopamin (pg/ml)	p
Nhóm bệnh	80	20,22 ± 4,47	<0,001 (t-test)
Nhóm chứng	40	31,85 ± 12,56	

Nhận xét: Nồng độ dopamin dịch não tủy ở nhóm bệnh là 20,22 ± 4,47 pg/ml; nhóm chứng là 31,85 ± 12,56 pg/ml. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với ($p < 0,001$).

Bảng 2. Mối liên quan giữa dopamin dịch não tủy với tuổi, giới tính nhóm bệnh

Đặc điểm		Số lượng n (%)	dopamin (pg/ml)	p
Nhóm tuổi	<40	2 (2,5)	25,29 ± 11,39	>0,05 (anova)
	40-49	5 (6,25)	18,22 ± 6,31	
	50-59	16 (20,0)	19,92 ± 4,06	
	60-69	33 (41,25)	19,84 ± 4,73	
	≥70	24 (30)	20,96 ± 3,18	
Giới tính	Nam	26 (32,5)	20,25 ± 5,35	>0,05 (t-test)
	Nữ	54 (67,5)	20,21 ± 19,11	

Nhận xét: Nồng độ dopamin dịch não tủy giữa các nhóm tuổi và giới tính khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$

Bảng 3. Mối liên quan giữa dopamin dịch não tủy với thời gian mắc bệnh

Thời gian mắc bệnh (năm)	Số lượng n (%)	dopamin (pg/ml)	p
<1 năm	13 (16,25)	23,27 ± 1,86	<0,01 (anova)
Từ 1-5 năm	44 (55,0)	20,57 ± 4,72	
Từ 5-10 năm	13 (16,25)	18,56 ± 3,23	
≥10 năm	10 (12,5)	16,92 ± 3,17	

Nhận xét: Nồng độ dopamin dịch não tủy giảm dần khi thời gian mắc bệnh tăng dần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Điều này gợi ý rằng thời gian mắc bệnh càng tăng thì nồng độ dopamin dịch não tủy càng giảm.

Bảng 4. Mối liên quan giữa dopamin dịch não tủy với mức độ bệnh

Mức độ bệnh	Số lượng n (%)	dopamin (pg/ml)	p
Nhẹ	27 (33,75)	23,93 ± 2,83	<0,001 (anova)
Vừa	26 (32,5)	21,42 ± 2,37	
Nặng	21 (26,25)	16,22 ± 2,21	
Rất nặng	6 (7,5)	12,35 ± 1,53	

Nhận xét: Nồng độ dopamin dịch não tủy giảm dần từ mức độ bệnh nhẹ đến mức độ bệnh rất nặng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Điều này gợi ý rằng mức độ bệnh càng nặng thì nồng độ dopamin dịch não tủy càng giảm.

Bảng 5. Mối liên quan giữa dopamin dịch não tủy với giai đoạn bệnh

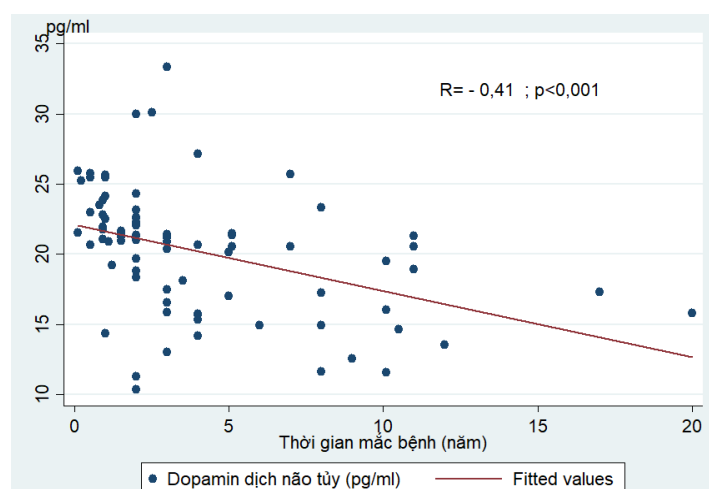
Giai đoạn bệnh	Số lượng n (%)	dopamin (pg/ml)	p
1	21 (26,25)	23,97 ± 2,19	<0,001 (anova)
2	27 (33,75)	21,38 ± 3,27	
3	19 (23,75)	18,84 ± 3,60	
4, 5	13 (16,25)	13,81 ± 2,37	

Nhận xét: Nồng độ dopamin dịch não tủy giảm dần từ giai đoạn bệnh 1 đến giai đoạn 4,5; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Điều này gợi ý rằng giai đoạn bệnh càng tăng thì nồng độ dopamin dịch não tủy càng giảm.

Bảng 6. Mối liên quan giữa dopamin dịch não tủy với trầm cảm

Đặc điểm		Số lượng n (%)	dopamin (pg/ml)	p
Không trầm cảm		30 (40)	24,27 ± 2,91	<0,001 (t-test)
Có trầm cảm		50 (60)	17,80 ± 3,34	
Mức độ trầm cảm	Nhẹ	22 (27,5)	20,88 ± 0,65	<0,001 (anova)
	Vừa	11 (13,75)	17,73 ± 1,10	
	Nặng	17 (22,25)	13,86 ± 1,81	

Nhận xét: Nồng độ dopamin dịch não tủy nhóm có trầm cảm thấp hơn nhóm không có trầm cảm, và nồng độ dopamin giảm dần từ trầm cảm mức độ nhẹ đến trầm cảm mức độ nặng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Điều này gợi ý rằng trầm cảm càng nặng thì nồng độ dopamin dịch não tủy càng giảm.



Biểu đồ 1. Liên quan nồng độ dopamin dịch não tủy với thời gian mắc bệnh

Nhận xét: Sử dụng phương pháp phân tích tương quan hồi qui tuyến tính cho thấy có sự tương quan nghịch, mức độ trung bình, có nghĩa thống kê giữa nồng độ dopamin dịch não tủy với thời gian mắc bệnh ($R = -0,41$, $p < 0,001$). Kết quả này gợi ý rằng thời gian mắc bệnh càng dài nồng độ dopamin dịch não tủy càng giảm.

IV. BÀN LUẬN

Nồng độ dopamin dịch não tủy giảm rõ rệt trên bệnh nhân Parkinson so với chứng không mắc bệnh (bảng 1). Điều này có thể giải thích bởi cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson có liên quan chặt chẽ đến hoạt động của tế bào thần kinh dopamin. Người ta đã chứng minh được rằng bệnh Parkinson có nguyên nhân là mất dần các tế bào dopamin trên hệ thần kinh trung ương, đặc biệt là vùng phần đặc liềm đen (substantia nigra comparta). Các biểu hiện lâm sàng của bệnh được biểu hiện khi tổn thương khoảng 31% tế bào thần kinh thuộc vùng này [6]. Sự thoái hóa các tế bào thần kinh dopamin là nguyên nhân quan trọng dẫn đến sự suy giảm nồng độ dopamin ở synap thần kinh của các tế bào dopamin. Khi nồng độ các dopamin ở synap thần kinh giảm sẽ giảm sự truyền tin từ các tế bào thần kinh dopamin ở vùng phần đặc liềm đen đến thể vân, là nguyên nhân dẫn đến rối loạn vận động và thăng bằng trên bệnh nhân Parkinson [7].

Nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ dopamin dịch não tủy và một số đặc điểm lâm sàng, vấn đề đầu tiên là tuổi và giới tính, vì tuổi càng cao thì tỉ lệ bệnh Parkinson càng tăng, và nam thường mắc nhiều hơn nữ, tuy nhiên kết quả cho thấy nồng độ dopamin dịch não tủy giữa nam và nữ; và giữa các nhóm tuổi (bảng 2) khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Mặc dù bệnh Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh trung ương tiến triển mạn tính của các tế bào thần kinh dopamin, tuy nhiên mức độ tổn thương và sự mất đi của các tế bào thần kinh dopamin - nguyên nhân dẫn đến sự giảm nồng độ dopamin trong cơ thể - phụ thuộc nhiều vào thời gian mắc bệnh tính từ thời điểm khởi phát hơn là phụ thuộc vào tuổi của người bệnh; dù nam hay nữ mắc bệnh thì cơ chế bệnh cũng như tiến triển bệnh lý của bệnh Parkinson là hoàn toàn giống nhau.

Thứ hai, thời gian mắc bệnh, kết quả cho thấy nồng độ dopamin giảm dần khi thời gian mắc bệnh tăng dần (bảng 4), có mối

tương quan nghịch, mức độ trung bình ($r=-0,41$, $p<0,001$) giữa nồng độ dopamin và thời gian mắc bệnh (biểu đồ 1). Kết quả này hoàn toàn phù hợp với cơ chế bệnh sinh của bệnh Parkinson là bệnh thoái hóa thần kinh trung ương tiến triển mạn tính, thời gian bị bệnh càng lâu thì mức độ thoái hóa các tế bào thần kinh dopamin trên hệ thần kinh trung ương càng mạnh, kết quả làm nồng độ dopamin dịch não tủy giảm càng nhiều.

Yếu tố thứ ba, mức độ bệnh, kết quả cho thấy nồng độ dopamin giảm dần khi mức độ bệnh tăng dần (bảng 4). Theo thang điểm thống nhất đánh giá bệnh Parkinson (UPDRS – phần III) [3], bệnh Parkinson được chia thành 4 mức độ (nhẹ, vừa, nặng và rất nặng), thang điểm này liên quan rất lớn đến rối loạn vận động và thăng bằng trên bệnh nhân Parkinson. Những triệu chứng này được cho là liên quan chặt chẽ đến hoạt động của dopamin trên hệ thần kinh trung ương [8]. Vì vậy, mức độ bệnh có thể phản ánh mức độ rối loạn hoạt động của hệ dopaminergic. Do vậy, khi mức độ bệnh càng nặng thì nồng độ dopamin giảm càng lớn là phù hợp.

Yếu tố thứ tư, mối liên quan giữa nồng độ dopamin dịch não tủy với giai đoạn bệnh. Bệnh Parkinson được chia thành 5 giai đoạn tiến triển của bệnh, và giai đoạn bệnh thể hiện bệnh sớm hay muộn. Hiển nhiên là giai đoạn càng muộn thì thời gian bị bệnh càng lâu. Do vậy, kết quả của chúng tôi đã cho thấy giai đoạn bệnh càng muộn thì nồng độ dopamin dịch não tủy giảm càng mạnh là phù hợp (bảng 5).

Cuối cùng, trầm cảm và mức độ trầm cảm. Hầu hết các bằng chứng đều chỉ ra trầm cảm có liên quan đến những rối loạn trong hệ thống noradrenergic trung ương, nhưng các chất dẫn truyền thần kinh khác (ví dụ: serotonin, dopamin) cũng có liên quan.

Ngoài ra, trầm cảm ở bệnh nhân Parkinson có liên kết với chất vận chuyển dopamin thể vân thấp hơn so với bệnh nhân không trầm cảm; chính liên kết chất vận chuyển dopamin thấp hơn được cho là phản ánh sự thoái hóa thần kinh nghiêm trọng hơn của các neuron Dopaminergic thể vân, dẫn đến mức dopamin thể vân thấp hơn. Do đó, kết quả bảng 6 cũng khá phù hợp; tuy nhiên ngoài dopamin, các chất dẫn truyền thần kinh khác như serotonin, noradrenalin, adrenalin, GABA... cũng có liên quan đến trầm cảm trong bệnh Parkinson, cho nên cần thêm các nghiên cứu để đánh giá chi tiết hơn trong tương lai.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ dopamin dịch não tủy ở nhóm bệnh là $20,22 \pm 4,47$ pg/ml; nhóm chứng là $31,85 \pm 12,56$ pg/ml. Thống kê cho thấy nồng độ dopamin dịch não tủy ở nhóm bệnh nhân Parkinson thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với ở nhóm chứng ($p<0,001$).

Nồng độ dopamin dịch não tủy nhóm bệnh nhân Parkinson giảm dần có ý nghĩa thống kê theo mức độ nặng của bệnh, giai đoạn bệnh, mức độ trầm cảm.

Nồng độ dopamin dịch não tủy bệnh nhân Parkinson có tương quan hồi qui tuyến tính - tương quan nghịch mức độ trung bình - có nghĩa thống kê với thời gian mắc bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Fahn S., Sulzer D. (2004)**, “Neurodegeneration and neuroprotection in Parkinson disease”, *NeuroRx*, 1(1), pp.139–154.
2. **Postuma R.B., Berg D., Stern M., et al. (2015)**, “MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease”, *Movement disorders*, 30(12), pp.1591-1601.

3. Goetz C.G., Tilley B.C., Shaftman S.R., et al. (2008), "Movement Disorder Society-sponsored revision of the Unified Parkinson's Disease Rating Scale (MDS-UPDRS): scale presentation and clinimetric testing results", *Movement disorders: official journal of the Movement Disorder Society*, 23(15), pp. 2129-2170.
4. Hoehn M.M., Yahr M.D. (1967), "Parkinsonism: onset, progression, and mortality. *Neurology*", 50(2): 318-318.
5. Beck A.T., Ward C.H., Mendelson M., et al. (1961), "An inventory for measuring depression". *Archives of general psychiatry*, 4, pp. 561-571.
6. Fearnley J.M., Lees A.J. (1991), "Ageing and Parkinson's disease: substantia nigra regional selectivity", *Brain*, 114, pp.2283-2301.
7. Bisaglia M., Filograna R., Beltramini M., et al. (2014), "Are dopamin derivatives implicated in the pathogenesis of Parkinson's disease?", *Ageing Research Reviews*, 13, pp.107-114.
8. Medera D., Herzb D.M., Rowe J.B., et al. (2019), "The role of dopamin in the brain - lessons learned from Parkinson's disease". *NeuroImage*, 190(15), pp.79-93.

KHẢO SÁT NỒNG ĐỘ VITAMIN D HUYẾT TƯƠNG Ở NGƯỜI LÀM VIỆC TRONG NHÀ ĐƯỢC KIỂM TRA SỨC KHỎE TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA MEDLATEC

Trịnh Thị Quế¹, Triệu Thùy Anh¹, Vũ Anh Tuấn¹,
Cao Thị Trang¹, Bùi Văn Thường¹,
Nguyễn Bảo Ngọc², Phạm Thiện Ngọc³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá nồng độ vitamin D huyết tương trên người làm việc trong nhà ít tiếp xúc với ánh nắng mặt trời và xác định mối tương quan với một số chỉ số sinh học. **Phương pháp nghiên cứu:** Lựa chọn đối tượng theo tiêu chuẩn, lấy máu tĩnh mạch lúc đói đo nồng độ vitamin D.

Kết quả: nồng độ Vitamin D huyết tương chung là $18,76 \pm 4,28$ ng/mL. Nồng độ Vitamin D ở nam cao hơn ở nữ với $p < 0,05$. Có mối tương quan chặt, mức độ vừa giữa nồng độ Vitamin D với chiều cao, cân nặng, nồng độ Calci huyết tương với hệ số tương quan r từ 0,34 – 0,47 với $p < 0,05$. **Kết luận:** nồng độ vitamin D ở người làm việc trong nhà từ 40-48 giờ/ tuần giảm, cần phải bổ sung vitamin D. Có mối tương quan chặt giữa nồng độ Vitamin D huyết tương với chiều cao, cân nặng, BMI và nồng độ Calci huyết tương.

Từ khóa: Vitamin D, người làm việc trong nhà, huyết tương

¹Bệnh viện đa khoa MEDLATEC

²Trường THPT chuyên KHTH

³Trường đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trịnh Thị Quế

Email: que.trinhthi@medlatec.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 28.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

SUMMARY**EVALUATION OF SERUM VITAMIN D LEVEL IN INDOOR WORKERS HAVING MEDICAL CHECKUP AT MEDLATEC GENERAL HOSPITAL**

Objectives: To evaluate plasma vitamin D concentrations in indoor workers with little exposure to sunlight and determine its correlation with some biological indices. **Methods:** Selected subjects according to the criteria, taking fasting venous blood to measure vitamin D concentration. **Result:** the general plasma vitamin D concentration is 18.76 ± 4.28 ng/mL. Vitamin D concentration in men was higher than in women with $p < 0.05$. There is a strong and moderate correlation between vitamin D concentration and height, weight, and plasma calcium concentration with the correlation coefficient r from 0.34 to 0.47 with $p < 0.05$. **Conclusion:** Vitamin D concentration in people working indoors from 40-48 hours/week decreased, it was necessary to supplement with vitamin D. There is a strong correlation between plasma vitamin D concentration with height, weight, BMI and plasma calcium concentration.

Keywords: Vitamin D, people working at home, plasma

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu vitamin D gây loãng xương và nhuyễn xương. Vitamin D làm tăng nguy cơ mắc các bệnh rối loạn chuyển hóa, tự miễn dịch, rối loạn tâm thần, tim mạch và ung thư.^{1,2,3} Tình trạng thiếu vitamin D đang là vấn nạn sức khỏe phổ biến toàn cầu. Các báo cáo cho thấy khoảng 1 tỷ người trên thế giới bị ảnh hưởng bởi tình trạng thiếu vitamin D.³ Tỷ lệ thiếu vitamin D ở Châu Âu, Hoa Kỳ, Nam Mỹ, Australia và Trung Đông chiếm từ 20 đến 90%. Ở Đông Nam Á, tỷ lệ này dao

động từ 6-70%.⁴ Mặc dù chương trình bổ sung vitamin D vào thực phẩm bắt đầu diễn ra từ những năm 1940, góp phần cải thiện tình trạng còi xương, nhuyễn xương, nhưng phơi nắng không đầy đủ và các bệnh mạn tính vẫn là nguyên nhân chính gây ra tình trạng thiếu vitamin D ở tất cả các nhóm tuổi.⁵ Theo thống kê tại một bệnh viện ở Boston, 32% bác sĩ và nhân viên y tế khỏe mạnh làm việc trong nhà được uống 400 IU vitamin D/ngày và một ly sữa tăng cường vitamin D/ngày vẫn phát hiện thiếu vitamin D.^{6,7} Daniel Sowah và cộng sự (2017) đã tổng hợp dữ liệu từ 35 nghiên cứu khác nhau với 19083 đối tượng nghiên cứu cho thấy, tỷ lệ thiếu vitamin D của nhân viên y tế làm việc trong nhà là rất đáng báo động: 72% sinh viên y khoa, 65% học viên sau đại học, 46% bác sĩ hành nghề và 43% điều dưỡng.¹ Do đó, việc đánh giá nồng độ vitamin D huyết tương trên đối tượng thường xuyên làm việc trong nhà, thiếu thời gian tiếp xúc với ánh nắng mặt trời đang ngày càng được quan tâm^{1,4}. Tại Việt Nam, hiện chưa có nhiều nghiên cứu về tình trạng thiếu vitamin D ở quần thể này. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với mục tiêu xác định nồng độ vitamin D huyết tương và tìm hiểu mối liên quan giữa nồng độ Vitamin D huyết tương với một số chỉ số sinh học ở đối tượng làm việc trong nhà.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**2.1. Đối tượng nghiên cứu**

• **Tiêu chuẩn lựa chọn:** người lao động trong nhà có thời gian làm việc ít nhất 40- 48 giờ mỗi tuần, ít tiếp xúc ánh sáng mặt trời, đến kiểm tra sức khỏe tại Bệnh viện Đa khoa

MEDLATEC từ tháng 12/2020 đến tháng 10 năm 2021

- **Tiêu chuẩn loại trừ:**
 - Không trong thời gian mang thai.
 - Không sử dụng các thuốc bổ sung vitamin D trong 3 tháng gần đây.
 - Không mắc bệnh thận mạn giai đoạn III, IV, V.

• **Địa điểm nghiên cứu:** Bệnh viện ĐK MEDLATEC

2.2. Phương pháp nghiên cứu: phương pháp mô tả cắt ngang, tiền cứu. Khai thác bệnh sử, tiền sử, thời gian làm việc trong

nhà, ít tiếp xúc với ánh sáng mặt trời, lựa chọn đối tượng theo tiêu chuẩn.

- Đo cân nặng, chiều cao, BMI.
- Mẫu máu bệnh nhân sau khi thu thập sẽ được ly tâm với tốc độ 3000 vòng/5 phút tách lấy huyết thanh/huyết tương và định lượng nồng độ vitamin D, calci trên máy miễn dịch tự động ABBOTT ARCHITECT (I2000).
- Phân tích số liệu: các số liệu được phân tích trên phần mềm SPSS 20.0 để tính các chỉ số thống kê.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của nhóm đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Một số đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Nồng độ	Mean $\pm$ SD			Min	Max
Đặc điểm	Tổng	Nam (n=21)	Nữ (n=49)		
Tuổi (năm)	27,06 $\pm$ 3,87	29,25 $\pm$ 3,67	26,40 $\pm$ 3,73	23	45
Nam/nữ (%)	100%	23,08%	76,92%		
Chiều cao (cm)	159,73 $\pm$ 6,67	168,08 $\pm$ 6,19	157,22 $\pm$ 4,42	148	178
Cân nặng (kg)	51,88 $\pm$ 10,12	66,58 $\pm$ 7,37	47,48 $\pm$ 5,68	40	78
BMI	20,20 $\pm$ 2,76	23,60 $\pm$ 2,60	19,17 $\pm$ 1,84	17,04	27,89
Nồng độ vitD HT tháng 12/2020 (ng/mL)	18,16 $\pm$ 3,71	21,00 $\pm$ 3,04	17,31 $\pm$ 3,49	8,50	25,90
Nồng độ vitD HT tháng 6/2021 (ng/mL)	18,76 $\pm$ 4,28	20,94 $\pm$ 4,32	18,10 $\pm$ 4,09	9,88	27,50
Nồng độ Calci (mmol/L) (n=70)	2,27 $\pm$ 0,06	2,29 $\pm$ 0,06	2,27 $\pm$ 0,06	2,16	2,40
Tỷ lệ cong vẹo cột sống	38,46%				

Độ tuổi tham gia nghiên cứu đều ở nhóm người trẻ tuổi, cao nhất 45 tuổi, là độ tuổi lao động và hoạt động thể lực tốt. Chỉ số BMI trung bình đạt mức bình thường $20,2 \pm 2,8$. Nồng độ vitamin D cả thời điểm mùa đông và mùa hè đều ở mức thấp từ 18,16 đến 18,76 ng/mL. Nồng độ Calci trung bình đạt mức bình thường $2,27 \pm 0,06$ mmol/L. Tỷ lệ cong vẹo cột sống chiếm tỷ lệ cao 38,46% trong nhóm người tham gia nghiên cứu.

Bảng 3.2. So sánh nồng độ Vitamin D giữa mùa đông và mùa hè ở cùng nhóm đối tượng

Thời điểm	Vitamin D huyết tương (ng/mL)	
	Mean $\pm$ SD	p
Tháng 12/2020	18,16 $\pm$ 3,7	0,45
Tháng 06/2021	18,76 $\pm$ 4,3	

Kết quả bảng trên cho thấy không có sự khác nhau giữa nồng độ Vitamin D vào thời điểm mùa đông và mùa hè trên cùng nhóm đối tượng nghiên cứu với $p=0,45$.

3.2. Đánh giá nồng độ Vitamin D theo một số chỉ số sinh học

Bảng 3.3. So sánh nồng độ vitamin D huyết tương theo giới

Giới	Mean $\pm$ SD (ng/mL)	
	VitD HT (12/2020)	VitD HT (06/2021)
Nam	21,00 $\pm$ 3,04	20,94 $\pm$ 4,32
Nữ	17,31 $\pm$ 3,49	18,10 $\pm$ 4,09
p	0,002	0,043

Từ bảng trên cho thấy có sự khác biệt giữa nồng độ Vitamin D giữa nam và nữ ở cả giai đoạn mùa đông và mùa hè với $p < 0,05$.

Bảng 3.4. Mối tương quan giữa nồng độ Vitamin D huyết tương với các chỉ số sinh học

	Vit D tháng 12		Vit D tháng 6	
	r	p	r	p
Cân nặng (kg)	0,456	0,001	0,367	0,007
Chiều cao (cm)	0,474	0,000	0,447	0,001
BMI	0,338	0,014	0,236	0,092
Calci (mmol/L)	0,306	0,027	0,269	0,053

Từ bảng trên cho thấy, có mối tương quan chặt chẽ giữa nồng độ Vitamin D với chiều cao, cân nặng, BMI và nồng độ Calci huyết tương của đối tượng tham gia nghiên cứu ở mức độ vừa có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 3.5. Mối liên quan giữa nồng độ Vitamin D huyết tương với tình trạng cong vẹo cột sống.

Nồng độ Vitamin D	Tình trạng CVCS	
	r	p
Vitamin D tháng 12/2020	-0,213	0,130
Vitamin D tháng 6/2021	-0,248	0,076

Bảng trên cho thấy không có mối liên quan của tình trạng cong vẹo cột sống và nồng độ Vitamin D với $p > 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

Vitamin D ở người có 2 nguồn gốc là nội sinh (80%) và ngoại sinh (20%).⁸ Vitamin D nội sinh được tạo ra khi da tiếp xúc với ánh nắng mặt trời (nội sinh). Tia UV-B chuyển 7-dehydro cholesterol, một tiền chất của con đường sinh tổng hợp cholesterol, trong màng sinh chất của tế bào biểu bì thành tiền vitamin D₃. Tiền vitamin D₃ được chuyển hóa nhanh chóng thành vitamin D₃ tới khoảng gian bào liên kết với protein gắn vitamin D (DBP) rồi vận chuyển về gan. Ngoài tổng hợp tại da, vitamin D có thể bổ sung qua thức ăn (ngoại sinh) như các loại cá béo (cá hồi, cá ngừ, cá mòi), thực phẩm tăng cường (ngũ cốc, sữa) ở dạng D₃, hoặc D₂ trong một số loại nấm và sinh vật phù du.⁶ Kết quả nghiên cứu này chỉ ra đối tượng làm việc trong nhà có nồng độ Vitamin D khá thấp chỉ ở mức $18,76 \pm 4,3$ ng/mL (bảng 3.1), ở mức cần phải bổ sung. Theo Holick MF năm 2010 và đa số các tác giả trên thế giới đều thống nhất phân loại:⁵

- Thiếu hụt Vitamin D (deficiency): 25(OH)D < 20 ng/mL
- Suy giảm Vitamin D (insufficient): 25(OH)D 21-29 ng/mL
- Vitamin D bình thường (normal): 25(OH)D > 30 ng/mL

Như vậy, với chế độ ăn không còn thiếu như hiện nay, và đối tượng tham gia nghiên cứu của chúng tôi đều là người trẻ tuổi, cao nhất 45 tuổi nên không bị ảnh hưởng bởi việc kém hấp thu của người già nên việc vitamin D được tạo ra khi da được tiếp xúc với ánh nắng mặt trời vẫn rất quan trọng. Chiều cao trung bình người Việt Nam theo công bố của Viện Dinh dưỡng là: nam 168cm; nữ 156 cm, cân nặng trung bình ở nam là 60,96kg và nữ là 48,76 kg.⁹ Kết quả nhóm nghiên cứu của chúng tôi có chiều cao

và cân nặng đương đương với mức trung bình của người Việt Nam, như vậy kết quả nghiên cứu về nồng độ vitamin D không bị sai lệch bởi các yếu tố về nhân trắc học.

Sản xuất vitamin D theo con đường nội sinh bởi ánh sáng mặt trời (tia UV-B) là nguồn cung cấp chính vitamin D, tuy nhiên con đường này bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác nhau, như thời gian và mức độ tiếp xúc ánh sáng trong ngày, mùa, vĩ độ, độ cao, quần áo, sử dụng kem chống nắng, sắc tố da và tuổi tác.^{10,11} Người sinh sống ở vĩ độ lớn hơn 37° sẽ không nhận đủ bức xạ UV-B để tạo ra đủ vitamin D trong những tháng mùa đông.⁶ Ở Boston Hoa Kỳ (42°N), sản xuất tối đa vitamin D₃ được tìm thấy vào khoảng giữa trưa tháng 7, giảm vào mùa xuân - mùa thu và không sản xuất từ ngày 1 tháng 11 đến ngày 15 tháng 3.¹¹ Chúng tôi tiến hành nghiên cứu nồng độ Vitamin D vào 2 mùa trong năm là mùa đông (tháng 12.2020) và mùa hè (tháng 6.2021) (bảng 3.2). Tuy nhiên không có sự khác biệt về nồng độ Vitamin D giữa 2 lần đo $p=0,45$. Điều này cho thấy việc tiếp xúc với ánh nắng mặt trời của đối tượng làm việc trong nhà là rất thấp. Thời gian nhân viên đi làm từ sáng sớm trước 7 giờ và về nhà sau 5 giờ chiều nên việc hấp thu vitamin D bị hạn chế.

Bảng 3.3 cho thấy có sự khác biệt nồng độ Vitamin D ở nam và nữ. Nồng độ Vitamin D ở nam ở mức suy giảm còn nồng độ vitamin D ở nữ đang ở mức thiếu hụt cần phải bổ sung. Có thể do phụ nữ thường sử dụng kem chống nắng còn ở nam giới ít sử dụng hơn. Các độ tuổi khác nhau có hiệu quả sản xuất vitamin D ở da khác nhau khi tiếp xúc với ánh sáng mặt trời. Một người lớn trên 70 tuổi cần thời gian phơi nắng gần gấp 3 lần thời gian để có thể tạo ra lượng vitamin D tương tự như một đứa trẻ. Mặt khác, khi

bôi kem chống nắng có chỉ số SPF 8 lên da đúng cách, việc sản xuất vitamin D3 đã giảm hơn 90%.⁴ Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Ushashree Divakar (2019) tại Singapore¹², tại Việt Nam chưa có nghiên cứu cho nhóm đối tượng này được công bố.

Vitamin D ảnh hưởng đến quá trình hấp thu phospho và calci của cơ thể. Dạng hoạt động của vitamin D kích thích sự hấp thu calci ở ruột. Nếu không có vitamin D, chỉ 10-15% calci trong khẩu phần và khoảng 60% phospho được hấp thu. Cung cấp đủ vitamin D giúp tăng cường hấp thu calci và phospho lần lượt là 30-40% và 80%.¹³ Đồng thời, dạng hoạt động của vitamin D còn tham gia quá trình phiên mã của gen cũng như sự phân hóa và khoáng hóa của nguyên bào xương, do đó ảnh hưởng đến việc sản xuất collagen loại I và nhiều protein không tạo keo (osteocalcin, osteopontin, sialoprotein xương BSP1). Osteocalcin và osteopontin chịu trách nhiệm liên kết calci và hydroxyapatite, góp phần lắng đọng chúng trong chất nền xương. Trong nghiên cứu của chúng tôi có sự tương quan chặt mức độ vừa của nồng độ vitamin D huyết tương với chiều cao, cân nặng, chỉ số BMI và nồng độ calci (bảng 3.4). Tuy nhiên nồng độ Calci ở nhóm nghiên cứu vẫn nằm trong giới hạn bình thường trong khi nồng độ Vitamin D thấp ở mức cần phải bổ sung. Calci được vận chuyển qua ruột bằng con đường nội bào hoặc xuyên tế bào. Con đường nội bào chủ yếu là quá trình thụ động, trong khi quá trình xuyên tế bào được điều chỉnh bởi 1,25 (OH)₂D. Một số protein vận chuyển Calci phụ thuộc vitamin D điều hòa sự hấp thu Calci ở ruột.¹⁴ Như vậy khi không có Vitamin D thì Calci vẫn được hấp thu một phần, ngoài ra còn có nhiều loại protein vận

chuyển Calci và có các con đường khác nhau để vận chuyển Calci. Vì vậy ở đối tượng làm việc trong nhà nhưng bổ sung đủ lượng Calci trong khẩu phần ăn vẫn không có tình trạng thiếu Calci huyết tương.

Nồng độ vitamin D giảm khi chỉ số khối cơ thể (BMI) cao, không liên quan tới hoạt động thể chất hay chế độ ăn và có mối quan hệ nghịch đảo giữa vitamin D với tỷ lệ mỡ dưới và nội tạng, ngay cả ở những người gầy.² Tuy nhiên nghiên cứu của chúng tôi có tương quan thuận với chỉ số cân nặng do đối tượng nghiên cứu có chiều cao và cân nặng ở mức trung bình với chỉ số BMI ở mức thấp là $20,20 \pm 2,76$ (bảng 3.1). Mặt khác, người ta cũng nhận thấy ở những người bị cong vẹo cột sống, tình trạng thiếu hụt vitamin D diễn ra rất phổ biến.¹⁵ Nghiên cứu này không thấy có mối liên quan giữa tình trạng cong vẹo cột sống và nồng độ vitamin D. Nguyên nhân hàng đầu gây ra chứng cong vẹo cột sống là nguyên nhân tự phát ở tuổi vị thành niên (chiếm đến 85% các ca mắc bệnh). Đa số các bé trong độ tuổi đến trường đều có nguy cơ bị vẹo cột sống do phải mang cặp sách nặng làm vai bị lệch, bàn ghế ngồi học không đạt tiêu chuẩn tạo ra tư thế học tập sai. Các nguyên nhân khác bao gồm: di truyền, các yếu tố tác động khi người mẹ mang thai hoặc sự phát triển của thai nhi diễn ra quá nhanh, không thích ứng kịp với cơ thể của mẹ cũng là nguyên nhân khiến cột sống của trẻ bị chèn ép, cong vẹo; các bệnh lý cơ, thần kinh, suy dinh dưỡng khiến cột sống phát triển bất thường. Như vậy, sự thiếu hụt vitamin D có thể là yếu tố thuận lợi cho việc dẫn đến cong vẹo cột sống ở trẻ chứ không phải là nguyên nhân tiến triển thành bệnh ở người trưởng thành.

Tóm lại: Vitamin D rất quan trọng cho sự hoạt động của cơ thể cũng như sự phát triển

thể chất ở trẻ em, ở người lớn Vitamin D đóng vai trò quan trọng trong hoạt động của bộ xương, hệ miễn dịch, tham gia biệt hóa tế bào, phòng ngừa ung thư, điều hòa tổng hợp insulin...Việc thiếu hụt Vitamin D có thể dẫn đến nhiều bệnh lý khác nhau, vì vậy việc phát hiện thiếu hụt Vitamin D và bổ sung hợp lý giúp nâng cao chất lượng cuộc sống cho con người.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ Vitamin D huyết tương ở người làm việc trong nhà, ít tiếp xúc với ánh nắng mặt trời rất thấp, ở mức thiếu hụt cần bổ sung.

Có mối liên quan chặt chẽ giữa nồng độ Vitamin D huyết tương với chiều cao, cân nặng, chỉ số BMI và nồng độ Calci huyết tương.

Không có mối liên quan giữa nồng độ Vitamin D với tình trạng cong vẹo cột sống.

KHUYẾN NGHỊ

Cần nghiên cứu nồng độ vitamin D huyết tương trên nhiều đối tượng nghề nghiệp khác nhau để xây dựng chiến lược bổ sung Vitamin D cho những người ít được tiếp xúc với ánh nắng mặt trời.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sowah D, Fan X, Dennett L, Hagtvedt R, Straube S. Vitamin D levels and deficiency with different occupations: a systematic review. *BMC Public Health*. 2017;17:519. doi:10.1186/s12889-017-4436-z
2. Cheng S, Massaro JM, Fox CS, et al. Adiposity, Cardiometabolic Risk, and Vitamin D Status: The Framingham Heart Study. *Diabetes*. 2010;59(1):242-248. doi:10.2337/db09-1011
3. Siddiquee MH, Bhattacharjee B, Siddiqi UR, MeshbahurRahman M. High prevalence of vitamin D deficiency among the South Asian adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2021;21(1):1823. doi:10.1186/s12889-021-11888-1
4. Nimitphong H, Holick MF. Vitamin D status and sun exposure in southeast Asia. *Dermatoendocrinol*. 2013;5(1):34-37. doi:10.4161/derm.24054
5. Holick MF. The Vitamin D Deficiency Pandemic: a Forgotten Hormone Important for Health. *Public Health Rev*. 2010;32(1):267-283. doi:10.1007/BF03391602
6. Pfothenauer KM, Shubrook JH. Vitamin D Deficiency, Its Role in Health and Disease, and Current Supplementation Recommendations. *J Osteopath Med*. 2017;117(5):301-305. doi:10.7556/jaoa.2017.055
7. Siddiquee MH, Bhattacharjee B, Siddiqi UR, MeshbahurRahman M. High prevalence of vitamin D deficiency among the South Asian adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Public Health*. 2021;21(1):1823. doi:10.1186/s12889-021-11888-1
8. Pilz S, Zittermann A, Trummer C, et al. Vitamin D testing and treatment: a narrative review of current evidence. *Endocr Connect*. 2019;8(2):R27-R43. doi:10.1530/EC-18-0432
9. PhD. Ngan Pham, MA. Hien Nguyen, Assoc Prof.Doc. Hong Nguyen et al. Some results of the development of the anthropometric atlas of static and dynamic ergonomics for Vietnamese in the working age, period 2017-2019. Viet Nam National Institute of Occupational Safety and Health (VNNIOSH).

10. **Kennel KA, Drake MT, Hurley DL.** Vitamin D Deficiency in Adults: When to Test and How to Treat. *Mayo Clin Proc.* 2010;85(8):752-758. doi:10.4065/mcp.2010.0138
11. **Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L, et al.** Commonly recommended daily intake of vitamin D is not sufficient if sunlight exposure is limited. *J Intern Med.* 2000;247(2):260-268. doi:10.1046/j.1365-2796.2000.00595.x
12. **Ushashree Divakar, Thirunavukkarasu Sathish, Michael Soljak, et al.** Prevalence of Vitamin D Deficiency and Its Associated Work-Related Factors among Indoor Workers in a Multi-Ethnic Southeast Asian Country. *Int. J. Environ. Res. Public Health.* 2020; 17:164. doi:10.3390/ijerph17010164
13. **Nair R, Maseeh A. Vitamin D:** The “sunshine” vitamin. *J Pharmacol Pharmacother.* 2012;3(2):118-126. doi:10.4103/0976-500X.95506
14. **Walters JR, Balesaria S, Chavele KM, et al.** Calcium channel TRPV6 expression in human duodenum: different relationships to the vitamin D system and aging in men and women. *J Bone Miner Res.* 2006;21:1770–1777.
15. **Ng SY, Bettany-Saltikov J, Cheung IYK, Chan KKY.** The Role of Vitamin D in the Pathogenesis of Adolescent Idiopathic Scoliosis. *Asian Spine J.* 2018;12(6):1127-1145. doi:10.31616/asj.2018.12.6.1127.

ĐÁNH GIÁ SỰ THAY ĐỔI NỒNG ĐỘ VITAMIN A & RETINOL-BINDING PROTEIN Ở PHỤ NỮ ĐƯỢC BỔ SUNG THỰC PHẨM TỰ NHIÊN TRƯỚC VÀ TRONG KHI CÓ THAI

**Nguyễn Thị Diệp Anh^{*}, Hoàng Thu Nga¹, Phí Ngọc Quyên¹,
Từ Ngữ², Phạm Thiện Ngọc³, Lê Bạch Mai²,
Janet King⁴, Henri Diren⁴**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả cải thiện tình trạng Vitamin A (Vit.A) của phụ nữ được bổ

sung thực phẩm từ trước khi mang thai đến thời điểm thai 32 tuần. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu can thiệp ngẫu nhiên có đối chứng 138 phụ nữ 18-30 tuổi chưa từng mang thai sống tại Cẩm Khê, Phú Thọ được phân ngẫu nhiên vào 2 nhóm; Nhóm can thiệp được bổ sung thực phẩm giàu sắt, kẽm, vitamin A, vitamin B₁₂ và folate sẵn có tại địa phương 5 ngày/tuần từ trước khi mang thai đến khi sinh con; nhóm chứng: không bổ sung thực phẩm. Hiệu quả can thiệp được đánh giá bằng các chỉ số: Vit.A, Retinol-Binding Protein (RBP) tại các thời điểm trước khi mang thai, thai 16 tuần và thai 32 tuần. **Kết**

¹*Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia,*

²*Hội Dinh dưỡng Việt Nam,*

³*Đại học Y Hà Nội,*

⁴*Viện Nghiên cứu – Bệnh Viện Nhi Oakland, Đại học California Hoa Kỳ*

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Diệp Anh
Email: diepanhnin@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

quả: Tại thời điểm thai 32 tuần (T_{32}), tỷ lệ phụ nữ có nồng độ Vit.A thấp ở nhóm can thiệp (3,3%) thấp hơn so với nhóm chứng (18,0%) với $p < 0,01$. Nồng độ RBP tại T_{32} của nhóm can thiệp ($1,52 \mu\text{mol/L}$) cao hơn so với trước can thiệp ($1,1 \mu\text{mol/L}$) với $p < 0,0001$. **Kết luận:** Bổ sung thực phẩm tự nhiên từ trước khi mang thai cho tới thời điểm thai 32 tuần đã cải thiện tình trạng Vit.A.

Từ khóa: Vitamin A, Retinol-Binding Protein, thiếu vitamin A, bổ sung thực phẩm, phụ nữ có thai, Phú Thọ.

SUMMARY

EVALUATION IN CHANGE CONCENTRATION OF VITAMIN A & RETINOL-BINDING PROTEIN OF WOMEN SUPPLIED WITH BASIC FOOD BEFORE AND DURING PREGNANCY

Objective: To evaluate the improvement of vitamin A status of women supplied with basic food from before to 32 weeks pregnancy. **Subjects and Methods:** Randomized controlled study. 138 women who have not been pregnant of 18-30 years old living in Cam Khe, Phu Tho were randomly assigned into two groups; Intervention group: were supplemented with foods rich in iron, zinc, vitamin A, vitamin B12, and folate available locally for 5 days per week from prenatal to postnatal; Control group: do not have food supplementation. The efficacy of the intervention was evaluated by the concentration of Vitamin A and Retinol-Binding Protein at different times: before pregnancy, 16 weeks, and 32 weeks pregnancy. **Results:** At the gestation of 32 weeks, the prevalence of women who had low vitamin A concentration in the intervention group was 3.3% which was lower than that of the control group (18,0%) with $p < 0.01$. Moreover, the mean RBP concentration at 32 weeks in the intervention group was $1,52 \mu\text{mol/L}$ which was

higher than that prior to supplementation ($1,1 \mu\text{mol/L}$) with $p < 0.001$. **Conclusion:** Natural food supplementation before to 32 weeks pregnancy has improved nutritional vitamin A status.

Key words: Vitamin A, retinol-binding protein, vitamin A deficient, food supplementation, pregnant women.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo WHO, hàng năm có trên 7 triệu phụ nữ có thai bị thiếu Vit.A tiền lâm sàng (Vit.A huyết thanh $< 0,7 \text{ mmol/L}$) gây nên tử vong của 1,2 đến 3 triệu trẻ em [1]. Thiếu Vit.A ở người mẹ có thể gây chậm phát triển của thai nhi, giảm khả năng miễn dịch, dễ bị mắc các bệnh nhiễm trùng và tăng nguy cơ tử vong [2]. Tại Việt Nam, kết quả điều tra toàn quốc năm 2015 cho thấy, tỷ lệ thiếu VitA tiền lâm sàng ở trẻ em là 13% trong đó cao nhất ở nhóm trẻ < 12 tháng tuổi chiếm tới 22%, nguyên nhân có thể là do hàm lượng vitamin A trong sữa mẹ thấp ($< 1,05 \mu\text{mol/L}$) là 34,8% đã ảnh hưởng đến tình trạng vitamin A của trẻ, đặc biệt là đối với trẻ < 6 tháng tuổi [3,4].

Dinh dưỡng của bà mẹ kém cả trước và trong khi mang thai là nguyên nhân cơ bản gây nên tình trạng thiếu vi chất dinh dưỡng, việc tăng cường dự trữ của người mẹ trước khi có thai giúp đảm bảo đáp ứng nhu cầu của thai nhi trong thời kỳ mang thai [5].

Thực phẩm là nguồn cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho con người. Đặc biệt thực phẩm có nguồn gốc động vật là nguồn cung cấp các chất dinh dưỡng có giá trị sinh học cao như sắt, kẽm, vitamin A, vitamin B12... những chất này rất quan trọng với sức khỏe sinh sản và sự phát triển của thai nhi. Mặc dù các chất dinh dưỡng trong thực phẩm đóng vai trò rất quan trọng cho phụ nữ khi có thai, nhưng số nghiên cứu thử nghiệm

bổ sung thực phẩm tự nhiên để cải thiện tình trạng vi chất của mẹ và kết quả thai nghén còn ít [5]. Do vậy, nhóm tác giả tiến hành nghiên cứu can thiệp bổ sung thực phẩm giàu dinh dưỡng sẵn có tại địa phương cho phụ nữ từ trước khi mang thai cho tới khi sinh tại huyện Cẩm Khê Phú Thọ, nhằm cải thiện tình trạng Vit.A trên nhóm đối tượng này.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn lựa chọn

- Phụ nữ tuổi từ 18 đến 30. Mới đăng ký kết hôn và dự định có con ngay. Hiện tại không mang thai. Sinh sống tại 29 xã của huyện Cẩm Khê tỉnh Phú Thọ.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Phụ nữ đã có con. Phụ nữ đang mang thai.

- Phụ nữ có dự định đi làm ăn xa nhà hoặc phụ nữ hiện có chồng đi làm xa trong thời gian dài hoặc không sống cùng với chồng.

- Phụ nữ có vấn đề về sức khỏe tâm thần, giảm sút trí nhớ.

Thời gian nghiên cứu:

Triển khai nghiên cứu tại cộng đồng, từ tháng 1 năm 2012 đến tháng 9 năm 2015

Cỡ mẫu: Áp dụng công thức tính cỡ mẫu so sánh sự khác biệt giữa hai nhóm trong nghiên cứu có đánh giá nhiều lần theo thời gian [6].

$$N = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 (1 + (n - 1)\rho)}{n[(\mu_1 - \mu_2)/\sigma]^2}$$

Trong đó: n: là số thời điểm đánh giá, n = 3; ρ là tương quan giả định giữa các lần đo lặp lại, ước tính $\rho = 0,87$; σ : phương sai giả định chung giữa hai nhóm, $\sigma = 0,07$ dựa vào nghiên cứu trước [7]; $(\mu_1 - \mu_2) = 0,04$ là kỳ vọng sự khác biệt trung bình giữa hai nhóm. Với độ tin cậy 95% và lực mẫu là

0,80; ta có $Z_{\alpha} = 1,96$ và $Z_{\beta} = 0,84$.

Thay vào công thức, cỡ mẫu tính được là 44 đối tượng, cộng thêm 20% bỏ cuộc cỡ mẫu tính được cho một nhóm là 53. Thực tế nghiên cứu đã triển khai với cỡ mẫu của mỗi nhóm là 69. Tổng số phụ nữ đã tham gia của 2 nhóm là 138 đối tượng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu can thiệp có đối chứng.

Trong nghiên cứu can thiệp, đối tượng được chia ngẫu nhiên vào một trong hai nhóm:

- Nhóm 1 can thiệp: Nhóm phụ nữ được bổ sung thực phẩm giàu dinh dưỡng từ khi đăng ký tham gia nghiên cứu cho đến khi sinh con.

- Nhóm chứng: Nhóm phụ nữ không được ăn bổ sung thực phẩm.

Thực phẩm sử dụng trong can thiệp là những thực phẩm sẵn có tại địa phương gồm thịt lợn, gan lợn, tiết lợn, tôm, trứng vịt lộn và rau theo mùa được xây dựng thành 10 thực đơn quay vòng. Mỗi thực đơn trung bình cung cấp khoảng 15 (mg) sắt, 5 (mg) kẽm, 600 (μ g) vitamin A, 9 (μ g) Vitamin B₁₂ và 400 (μ g) folate. Năng lượng của khẩu phần bổ sung không vượt quá 200 Kcal/ngày. Đối tượng được ăn thực phẩm bổ sung hàng ngày trừ cuối tuần và các ngày lễ tết. Đối tượng ăn thực phẩm bổ sung tại các điểm quy định của mỗi xã, không ăn ở nhà. Người tổ chức ăn giám sát, cân lại thực phẩm không ăn hết và ghi vào sổ theo dõi ăn hàng ngày. Đối tượng không đến ăn 10 ngày liên tiếp hoặc ăn 1 năm mà không có thai bị loại khỏi nghiên cứu.

Thu thập thông tin, nhân trắc, khẩu phần: phỏng vấn thông tin dựa vào bộ câu hỏi thiết kế sẵn. Đo cân nặng, chiều cao. Dụng cụ đo được trang bị mới và giống nhau

ở các xã. Sử dụng kỹ thuật hồi ghi khẩu phần ăn 24 giờ qua trong 2 ngày không liên tiếp tại 3 thời điểm ban đầu khi chưa có thai (T_0), thai 16 tuần (T_{16}), thai 32 tuần (T_{32}).

Thu thập mẫu máu: Mẫu máu được thu thập tại 3 thời điểm: T_0 ; T_{16} và T_{32} . Máu tĩnh mạch được lấy vào buổi sáng khi đói, cho vào ống không có chất chống đông. Ly tâm ống máu ở 3000 vòng trong 10 phút, tách lấy huyết thanh chia vào các ống eppendorf. Bảo quản mẫu ở -20°C , tại trung tâm Y tế huyện trong 2 tuần. Sau 2 tuần, mẫu được vận chuyển về Viện Dinh dưỡng và bảo quản ở -80°C cho đến khi phân tích.

Định lượng các chỉ số hóa sinh:

Vitamin A huyết thanh: được định lượng dựa trên phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC MS) tại phòng thí nghiệm của Bevitall – Na Uy. Retinol-binding protein (RBP): được định lượng dựa trên phương pháp ELISA tại Viện Dinh dưỡng Quốc Gia.

Tiêu chuẩn đánh giá tình trạng vitamin A:

- Vit.A thấp khi nồng độ Vit.A trong huyết thanh $< 1,05$ ($\mu\text{mol/L}$).

- Thiếu Vit.A khi nồng độ Vit.A huyết thanh $< 0,7$ ($\mu\text{mol/L}$) hoặc nồng độ RBP $< 0,7$ ($\mu\text{mol/L}$).

2.3. Phân tích số liệu: Sử dụng phần mềm STATA 14.2 MP để phân tích

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 .Thông tin chung của đối tượng tại thời điểm ban đầu

Tại thời điểm tham gia nghiên cứu có đủ 138 đối tượng. Tới thời điểm T_{32} có 122 đối tượng thu thập được đầy đủ chỉ tiêu nghiên cứu. Độ tuổi trung bình của đối tượng tham gia nghiên cứu là $(21,6 \pm 2,9)$ tuổi với BMI trung bình là $(19,9 \pm 1,9)$. Trung bình nồng độ Vit.A và RBP tương ứng là $(1,65 \pm 0,47)$ $\mu\text{mol/L}$ và $(1,12 \pm 0,40)$ $\mu\text{mol/L}$. Năng lượng trung bình trong khẩu phần của đối tượng khoảng 1773 (1562; 1980) kcal với trên 80% đối tượng không đáp ứng đủ khuyến nghị (NCKN). Khẩu phần Vit.A của đối tượng trung bình khoảng 482,5 (283,9; 688,2) μg với trên 69% đối tượng không đáp ứng đủ NCKN Vit.A. Không thấy sự khác biệt về các chỉ số tuổi; BMI; thành phần các chất dinh dưỡng và các chỉ số hóa sinh giữa 2 nhóm tại thời điểm ban đầu, với $p>0,05$ trong tất cả các trường hợp.

3.2 Hiệu quả bổ sung thực phẩm lên tình trạng Vit.A của phụ nữ trong thai kỳ

Nồng độ Vit.A và RBP của hai nhóm nghiên cứu trước và trong thai kỳ được trình bày trong bảng 1

Bảng 1: So sánh nồng độ Vitamin A và RBP của 2 nhóm trong thai kỳ

		Nhóm can thiệp	Nhóm chứng
		Trung bình $\pm$ SD	
Vit.A ($\mu\text{mol/L}$)	T_0 (n=69)	$1,59 \pm 0,38^a$	$1,68 \pm 0,77^b$
	T_{16} (n=61)	$1,71 \pm 0,31^{a,b}$	$1,75 \pm 0,71^c$
	T_{32} (n=61)	$1,54 \pm 0,34^b$	$1,51 \pm 0,55^{b,c}$
RBP ($\mu\text{mol/L}$)	T_0 (n=69)	$1,10 \pm 0,37^{b,d}$	$1,16 \pm 0,48$
	T_{16} (n=61)	$1,27 \pm 0,44^{b,c}$	$1,27 \pm 0,60$
	T_{32} (n=61)	$1,52 \pm 0,67^{c,d}$	$1,34 \pm 0,48$

Số liệu được trình bày: (trung bình $\pm$ SD).

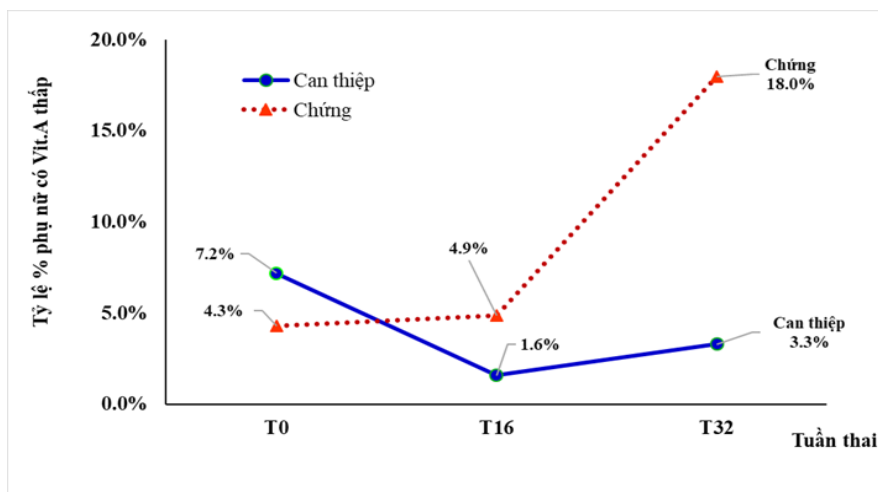
Sử dụng t-test để so sánh giá trị giữa hai nhóm ở cùng thời điểm nghiên cứu hoặc t-test ghép cặp để so sánh giá trị giữa các thời điểm) trong cùng một nhóm (T_0 với T_{16} ; T_0 với T_{32} hoặc T_{16} với T_{32}). Với ^{a,b,c,d} là giá trị của “p” khi so sánh trong cùng một nhóm, ^a là: $p < 0,05$; ^b là: $p < 0,01$; ^c là: $p < 0,001$ và ^d là: $p < 0,0001$.

Ở nhóm can thiệp, nồng độ Vit.A tại thời điểm thai 16 tuần là 1,71 $\mu\text{mol/L}$ cao hơn so với lúc chưa có thai (1,59 $\mu\text{mol/L}$) với $p < 0,05$. Khi thai 32 tuần, nồng độ Vit.A ở nhóm can thiệp và nhóm chứng lần lượt là: 1,54 $\mu\text{mol/L}$ và 1,51 $\mu\text{mol/L}$ đều thấp hơn có YNTK so với nồng độ Vit.A khi thai 16 tuần tương ứng ở nhóm can thiệp (1,71 $\mu\text{mol/L}$) và nhóm chứng (1,75 $\mu\text{mol/L}$). Không thấy sự khác biệt về nồng độ Vit.A ở thời điểm

thai 32 tuần so với trước khi có thai ở nhóm can thiệp ($p > 0,05$) trong khi ở nhóm chứng, nồng độ Vit.A trung bình khi thai 32 tuần (1,51 $\mu\text{mol/L}$) thấp hơn so với trước khi có thai (1,68 $\mu\text{mol/L}$) với $p < 0,001$.

Nồng độ RBP của nhóm can thiệp ở T_{16} là 1,27 $\mu\text{mol/L}$ và ở T_{32} là 1,52 $\mu\text{mol/L}$ đều cao hơn so với trước khi có thai (1,10 $\mu\text{mol/L}$) tương ứng với $p < 0,01$ và $p < 0,0001$. Nồng độ RBP ở thời điểm T_{32} của nhóm can thiệp (1,52 $\mu\text{mol/L}$) cao hơn so với thời điểm T_{16} (1,27 $\mu\text{mol/L}$) với $p < 0,001$; Ở nhóm chứng, không thấy sự khác biệt về nồng độ RBP giữa các thời điểm nghiên cứu: T_0 với T_{16} ; T_0 với T_{32} và T_{16} với T_{32} .

Không có sự khác biệt có YNTK về nồng độ Vit.A, RBP, giữa nhóm can thiệp với nhóm chứng tại cùng thời điểm nghiên cứu.



Hình 1. So sánh tỷ lệ % phụ nữ có nồng độ Vit.A thấp giữa nhóm can thiệp với nhóm chứng trong thai kỳ

Hình 1 cho thấy, ở thời điểm thai 32 tuần tỷ lệ % phụ nữ có nồng độ Vit.A thấp ở nhóm can thiệp là 3,3% thấp hơn có YNTK so với tỷ lệ này ở nhóm chứng (18,0%) với $p < 0,01$. Không thấy sự khác biệt có YNTK về tỷ lệ % phụ nữ có nồng độ Vit.A thấp giữa 2 nhóm tại thời điểm trước khi có thai và khi thai được 16 tuần.

Bảng 2. Hiệu quả bổ sung thực phẩm lên chênh lệch nồng độ các chỉ số đánh giá tình trạng vitamin A của phụ nữ được can thiệp sớm

		Nhóm can thiệp (n = 61)	Nhóm chứng (n = 61)
		Median (p25; p75)	
Vit.A ($\mu\text{mol/L}$)	T ₁₆ – T ₀	0,13 (-0,05; 0,36)	0,07 (-0,14; 0,29)
	T ₃₂ – T ₁₆	-0,16 (-0,35; 0)	-0,16 (-0,46; 0,02)
	T ₃₂ – T ₀	-0,05 (-0,36; 0,19)	-0,19 (-0,41; 0,18)
RBP ($\mu\text{mol/L}$)	T ₁₆ – T ₀	0,15(-0,03; 0,37)	0,08 (-0,09; 0,30)
	T ₃₂ – T ₁₆	0.20 (0.08; 0.53)*	0.10 (-0.15; 0.35)*
	T ₃₂ – T ₀	0.28 (0,16; 0,63)**	0,12 (0,02; 0,41)**

Số liệu được trình bày: median (p25; p75).

Sử dụng Wilcoxon rank sum-test để so sánh giá trị giữa hai nhóm. *p<0,05; **p<0,01.

Trung vị của chênh lệch nồng độ RBP giữa (T₃₂-T₁₆) và giữa (T₃₂-T₀) ở nhóm can thiệp lần lượt là: 0.20 $\mu\text{mol/L}$ và 0.28 $\mu\text{mol/L}$ cao hơn có YNTK so với nhóm chứng tương ứng là 0.10 $\mu\text{mol/L}$ và 0,12 $\mu\text{mol/L}$. Không thấy sự khác biệt có YNTK về chênh lệch nồng độ Vit.A, giữa nhóm can thiệp với nhóm chứng tại các giai đoạn nghiên cứu (T₁₆-T₀); (T₃₂-T₁₆) và (T₃₂-T₀).

IV. BÀN LUẬN

Theo nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị (NCKN) dành cho người Việt Nam, nhu cầu Vit.A khuyến nghị cho phụ nữ khi có thai ở hai quý đầu không thay đổi so với trước khi có thai khoảng 670 $\mu\text{g/ngày}$ và NCKN Vit.A chỉ tăng vào 3 tháng cuối của thai kỳ là 750 $\mu\text{g/ngày}$ [8]. Đó là lý do mà ở thời điểm thai 16 tuần không cho thấy có sự giảm nồng độ Vit.A huyết thanh ở cả 2 nhóm nghiên cứu và hàm lượng này giảm vào cuối thai kỳ ở T₃₂. Dù không có sự khác biệt về trung bình nồng độ các chỉ số đánh giá tình trạng Vit.A giữa 2 nhóm tại cùng thời điểm nghiên cứu,

nhưng so sánh giữa các thời điểm trong cùng 1 nhóm đã cho thấy hiệu quả của can thiệp bổ sung thực phẩm. Ở nhóm can thiệp nồng độ Vit.A tại T₁₆ (1,71 $\mu\text{mol/L}$) cao hơn có YNTK so với lúc chưa có thai (1,59 $\mu\text{mol/L}$), trong khi không thấy sự khác biệt có YNTK về nồng độ Vit.A giữa 2 thời điểm này ở nhóm chứng. Hiệu quả can thiệp còn được thể hiện thông qua so sánh hàm lượng Vit.A huyết thanh ở cuối thai kỳ so với trước khi có thai: ở nhóm can thiệp không thấy sự khác biệt nồng độ Vit.A ở T₃₂ (1,54 $\mu\text{mol/L}$) so với T₀ (1,59 $\mu\text{mol/L}$), trong khi nồng độ Vit.A ở T₃₂ của nhóm chứng (1,51 $\mu\text{mol/L}$) thấp hơn có YNTK so với trước khi có thai (1,68 $\mu\text{mol/L}$) với p<0,01.

Những hiểu biết quan trọng về vai trò sinh học của RBP đã được thu thập bằng các nghiên cứu thực nghiệm trên động vật và trên người cho thấy, RBP rất quan trọng trong việc huy động retinol từ kho dự trữ trong gan ở những giai đoạn có chế độ ăn uống không đầy đủ. RBP là protein vận chuyển Vit.A chủ yếu trong huyết tương, hơn nữa RBP có một số lợi thế so với Vit.A trong các nghiên cứu trên cộng đồng do nó không bị mất khi tiếp xúc với ánh sáng và

hiệt độ cao. Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy, ở nhóm can thiệp trung bình nồng độ RBP của nhóm can thiệp ở T₁₆ là 1,27 $\mu\text{mol/L}$ và ở T₃₂ là 1,52 $\mu\text{mol/L}$ đều cao hơn so với trước khi có thai (1,10 $\mu\text{mol/L}$) tương ứng với $p < 0,01$ và $p < 0,0001$. Trong khi ở nhóm chứng, không thấy sự khác biệt về nồng độ RBP giữa các thời điểm nghiên cứu.

Việc sử dụng thực phẩm tự nhiên đặc biệt thực phẩm có nguồn gốc động vật với hàm lượng protein cao rất dễ hấp thu lượng vi chất vào cơ thể, tuy nhiên với 1 lượng hấp thu nhỏ hàng ngày đòi hỏi việc bổ sung phải thường xuyên lâu dài mới mang lại hiệu quả. Kết quả đã minh chứng rõ ở cuối thai kỳ với tỷ lệ % phụ nữ có nồng độ Vit.A thấp ở nhóm can thiệp là 3,3% thấp hơn so với nhóm chứng (18,0%) với $p < 0,01$.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trên 69% phụ nữ trước khi có thai có khẩu phần Vit.A thấp hơn nhu cầu khuyến nghị. Do vậy việc bổ sung thực phẩm có nguồn gốc động vật giàu protein và Vit.A cho phụ nữ từ trước khi có thai là rất an toàn và hết sức cần thiết để chuẩn bị nguồn vi chất dinh dưỡng đáp ứng nhu cầu trong suốt thai kỳ.

V. KẾT LUẬN

Bổ sung thực phẩm tự nhiên từ trước khi mang thai cho tới thời điểm thai 32 tuần đã cải thiện tình trạng Vit.A

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Mason J B, et al. (2001)**, “The micronutrient report. Current progress and trends in the control of vitamin A iodine, and iron deficiencies”. Published by the MI Ottawa, Canada: 1-39.
2. **West C E, Eilander A, and Lieshout M V (2002)**, “Consequences of revised estimated of carotenoid bioefficacy for dietary control of vitamin A deficiency in developing countries”. J Nutr, 2002. **132**: 2920S-2926S.
3. **Viện Dinh dưỡng**, “Đánh giá tình trạng thiếu máu, thiếu một số vi chất dinh dưỡng ở phụ nữ và trẻ em năm 2014, 2015”: Hội nghị Công bố kết quả Tổng điều tra vi chất dinh dưỡng tháng 10 năm 2015.
4. **Nguyễn Công Khản and Nguyễn Xuân Ninh (2003)**, “Trẻ em dưới 6 tháng tuổi ở Việt Nam có nguy cơ cao bị thiếu vitamin A”. Tạp chí Y học thực hành. **445**(3): 28-31.
5. **Ramakrishnan U, et al. (2014)**, “Maternal Nutrition Intervention to improve maternal, newborn, and child health outcomes”. Nestle Nutr Inst Workshop Ser. Vol.78: 71-80.
6. **Diggle P, et al. (2002)**, “Analysis of longitudinal data”. 2nd, Oxford University Press.
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 sỹ Dinh dưỡng - Viện Dinh dưỡng. Chương 3. Kết quả nghiên cứu: 85-86
8. **Bộ Y Tế và Viện Dinh Dưỡng (2016)**, Nhu cầu dinh dưỡng khuyến nghị cho người Việt Nam, Hà Nội: Nhà xuất bản Y học. (Nhu cầu khuyến nghị vitamin A): 85-89.

NGHIÊN CỨU MỘT SỐ CHỈ SỐ HÓA SINH MÁU VÀ NHÂN TRẮC Ở VẬN ĐỘNG VIÊN THỂ THAO ĐỘI TUYỂN QUỐC GIA VIỆT NAM

Phạm Đức Minh¹, Đặng Nhật Minh¹, Trịnh Đắc Hoàn²,
Đỗ Vĩnh Trường², Nguyễn Văn Phú³,
Nguyễn Hữu Tùng⁴, Bùi Thị Nhung⁵, Vũ Duy Nhân²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá sự thay đổi một số chỉ số hóa sinh máu và chỉ số nhân trắc ở vận động viên thể thao đội tuyển quốc gia Việt nam.

Phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 37 vận động viên (VĐV) tại Trung tâm Huấn luyện thể thao Quốc gia. Đo nhân trắc, lấy máu xét nghiệm nồng độ sắt, kẽm, canxi và vitamin D trong máu.

Kết quả: Chỉ số khối cơ thể của nhóm cử tạ cao nhất (24,8), sau đó đến nhóm điền kinh (19,8) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (16,4). Tương tự, chỉ số lực cơ tay (kg) ở nhóm VĐV cử tạ cao nhất (45,4), sau đó đến nhóm điền kinh (36,8) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (19,0). Tình trạng thiếu vi chất dinh dưỡng còn khá phổ biến ở vận động viên: thiếu canxi ion (78%), thiếu kẽm (43,5%), canxi toàn phần thấp (17%). Nồng độ chung Vitamin D của vận động viên ở mức thiếu ($39,6 \pm 12,7 \text{ nmol/L}$), trong số 78,3% số vận động viên thiếu Vitamin

D, bao gồm cả thiếu (47,8%) và cạn kiệt (30,4%).

Kết luận: Nhóm vận động viên đỉnh cao có chỉ số thể hình phù hợp với đặc trưng môn thể thao chuyên sâu. Xét nghiệm huyết thanh vận động viên thấy vi chất hay thiếu là canxi, kẽm, đặc biệt phần lớn vận động viên thiếu và cạn kiệt Vitamin D sau thời gian tập cường độ cao.

Từ khóa: Tình trạng dinh dưỡng, vận động viên, thiếu năng lượng và vi chất.

SUMMARY

RESEARCH ON SOME BLOOD BIOCHEMICAL PARAMETERS AND ANTHROPOMETRIC INDEX OF ATHLETES IN VIETNAM NATIONAL SPORTS TEAM

Objectives: Evaluation of changes in some blood biochemical parameters and anthropometric indicators in athletes of the Vietnamese national team.

Methods: A cross-sectional descriptive study on 37 athletes at the National Sports Training Center. We measured anthropometrically, iron, zinc, calcium and vitamin D levels in the venous blood.

Results: The body mass index (kg/m^2) of the weightlifting group was highest (24.8), followed by the athletics group (19.8) and the lowest was the gymnastics group (16.4). Similarly, hand grip index (kg) was highest in the weightlifting group (45.4), then in the athletics group (36.8) and the lowest in the gymnastics group (19.0).

¹Bộ môn - Khoa Dinh dưỡng/ Bệnh viện quân y 103/ Học viện Quân y

²Viện Hoá học - Vật liệu/Viện Khoa học Quân sự

³Trung tâm Doping và Y học thể thao/ Tổng cục TDTT

⁴Khoa Dược/ Trường Đại học PHENIKAA

⁵Viện Dinh Dưỡng Quốc gia

Chịu trách nhiệm chính: Vũ Duy Nhân

Email: ducminh.pham@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

Micronutrient deficiencies are still quite common in athletes: ionic calcium deficiency (78%), zinc deficiency (43.5%), low total calcium (17%). The overall concentration of Vitamin D in athletes was deficient ($39.6 \pm 12.7 \text{ mmol/L}$), of which a large proportion were deficient (47.8%) and depleted (30.4%).

Conclusions: The group of elite athletes have fitness index that matches the specificity of an intensive sport. Athlete's serum tests show that the micronutrients deficiencies are calcium and zinc, especially most athletes lack and deplete Vitamin D after intense exercise.

Keywords: Nutritional status, athletes, energy and micronutrients deficiencies.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Dinh dưỡng thể thao là lĩnh vực đang ngày càng phát triển, ứng dụng nhằm cải thiện hiệu quả vận động, sức bền cũng như thành tích của vận động viên (VĐV) [1]. Cùng với những khuyến nghị dinh dưỡng dựa trên chứng cứ khoa học, VĐV có thể cải thiện cân bằng năng lượng của cơ thể, chất dinh dưỡng, dịch trong quá trình tập luyện, thi đấu và phục hồi, nhằm hỗ trợ tốt nhất cho việc thiết lập nền tảng sức khỏe dài hạn [2].

Nghiên cứu đưa ra những khuyến nghị dinh dưỡng hiệu quả là vô cùng cần thiết. Đây là tiền đề để đưa ra những vấn đề về cải thiện cân bằng dinh dưỡng của VĐV còn tồn tại, cũng như định hướng giải pháp cho tương lai [3].

Mặt khác, những yếu tố có thể ảnh hưởng tới tình trạng dinh dưỡng của VĐV như chu kỳ, cường độ luyện tập, thi đấu và khoảng thời gian hồi phục. Những điều này có thể thay đổi từ từng ngày cho tới từng năm, phụ thuộc vào kế hoạch của các VĐV. Đánh giá

sự thay đổi một số yếu tố hóa sinh vi lượng như kẽm, calcium, vitamine D và một số chỉ số nhân trắc của VĐV sẽ giúp cho công tác theo dõi, phát hiện tình trạng thiếu hụt và bổ sung dinh dưỡng kịp thời trong suốt quá trình tập luyện và thi đấu [4]. Đảm bảo cân bằng các chỉ số của cơ thể là yếu tố tiên quyết ảnh hưởng tới chất lượng thi đấu và sức khỏe của VĐV [5], [6]. Xuất phát từ thực tiễn trên, nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu đánh giá tình trạng dinh dưỡng của VĐV tại Trung tâm thể thao quốc gia.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được tiến hành trên 54 vận động viên (VĐV) tại Trung tâm Huấn luyện Quốc gia, từ ngày 20 tháng 10 năm 2019 tới ngày 24 tháng 10 năm 2019. Sau khi tuyển chọn và lấy dữ liệu, có 37 VĐV đủ dữ liệu nhân trắc với 23 VĐV đủ dữ liệu sinh hoá.

2.2. Phương pháp

* Thu thập và xử lý số liệu

Sử dụng phiếu điều tra, cân bàn đạt tiêu chuẩn, thước dây, tham khảo hồ sơ bệnh án và quyền ảnh dùng cho điều tra khẩu phần ăn của Viện dinh dưỡng năm 2014. Dựa trên biến số nghiên cứu và thử nghiệm bộ công cụ. Các thông tin thu được trên phiếu điều tra sẽ được mã hóa và xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 16.0.

* Xác định nhân trắc, thể lực:

- Chỉ số khối cơ thể (BMI – Body Mass Index).

Sử dụng phần mềm Anthro plus của WHO để đánh giá, chiều cao theo tuổi của vận động viên trẻ dựa theo Z-scores được xác định cụ thể như sau: Từ -2SD đến + 2 SD (Bình thường), dưới -2SD đến -3SD (Suy

đinh dưỡng thể thấp còi mức độ vừa), dưới -3SD (Suy dinh dưỡng thể thấp còi mức độ nặng). BMI theo tuổi của trẻ dựa theo Z-scores được xác định cụ thể như sau: Từ -2SD đến +2SD (Bình thường), từ dưới -2SD đến -3SD (Suy dinh dưỡng thể gầy còm mức độ vừa), dưới -3SD (Suy dinh dưỡng thể gầy còm mức độ nặng), trên +1SD (Thừa cân), Trên +2SD (Béo phì).

- Đo sức cơ của VĐV sử dụng lực bóp tay thuận bằng thiết bị lực kế tay kẹp hiển thị số Model 5401 ITO-JAPAN.

* **Xét nghiệm:** Được tiến hành tại Trung tâm xét nghiệm Việt Nga/ Viện Y sinh nhiệt đới (VN biomed).

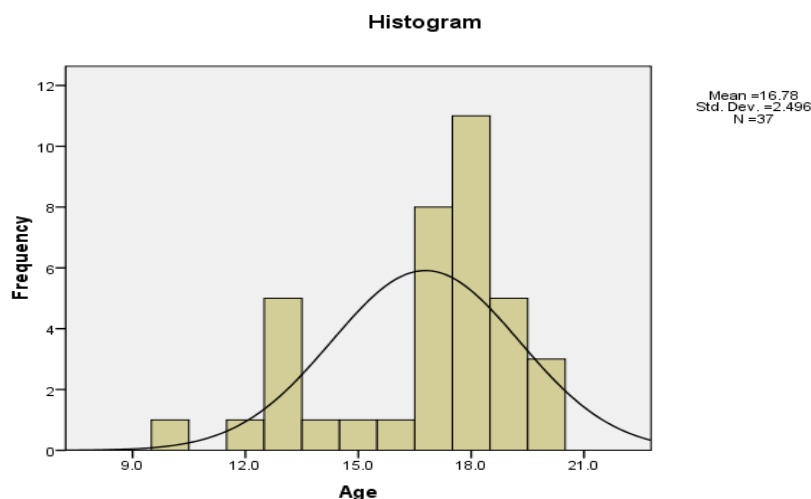
Định lượng kẽm trong huyết thanh theo phương pháp đo quang, tiến hành trên máy AU480 (Beckman Coulter), thiếu kẽm khi nồng độ Zn < 11,3 $\mu\text{mol/L}$; Định lượng

Canxi ion theo phương pháp điện cực chọn lọc trên máy ISE 5000 (ISE: Ion Selective Electrode), giá trị tham chiếu trên người trưởng thành: 1,12 – 1,3 mmol/L; Định lượng Canxi toàn phần theo phương pháp đo quang trên máy Cobas C501 (Roche), giá trị tham chiếu: 2,2 – 2,75 mmol/L; Định lượng Vitamin D theo phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy Architect I1000 (Abbott), giá trị tham chiếu trên người trưởng thành 50 – 125 nmol/L, thiếu khi nồng độ < 50nmol/L và cạn kiệt khi < 30nmol/L [7]; Sắt được định lượng theo phương pháp đo quang trên máy Cobas C501 (Roche).

- Nghiên cứu được sự hỗ trợ kinh phí và là một phần số liệu của đề tài cấp Bộ của Bộ Công thương, mã số 11/HD-ĐT.11.19/CNSHCB.

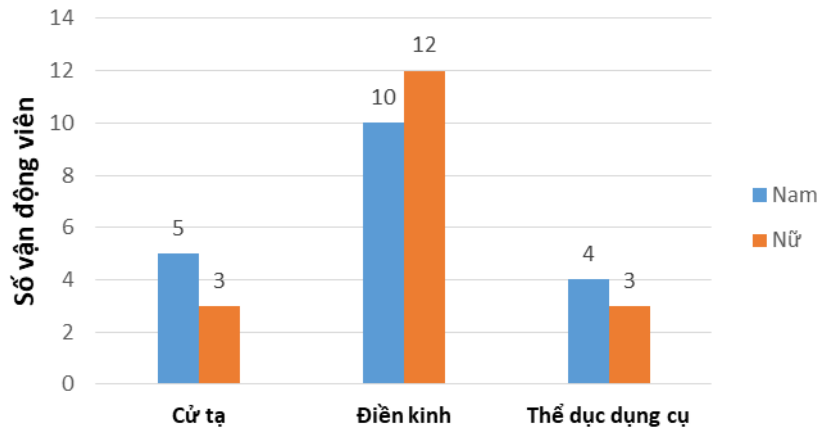
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu



Biểu đồ 1. Phân bố tuổi của vận động viên

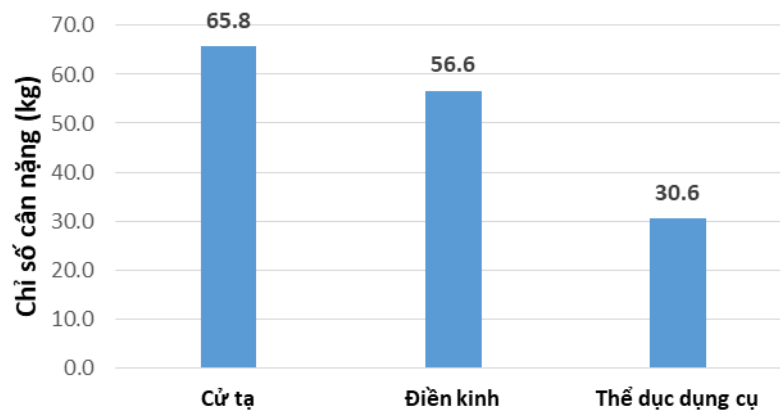
Nhận xét: Tuổi của vận động viên từ 10-20 tuổi, trung bình là $16,8 \pm 2,5$ (tuổi).



Biểu đồ 2. Phân bố giới tính của vận động viên

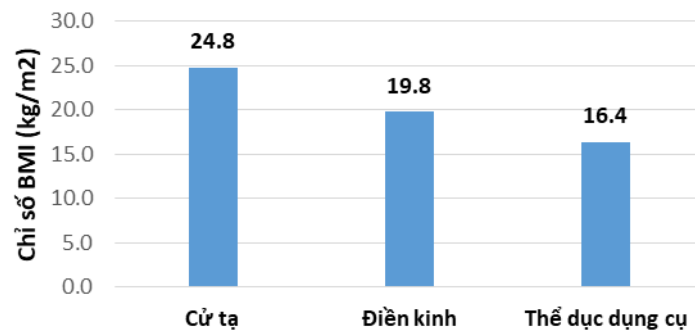
Nhận xét: Phân bố giới tính giữa các nhóm vận động viên không khác nhau ($p > 0,05$).

3.2. Tình trạng dinh dưỡng qua chỉ số nhân trắc



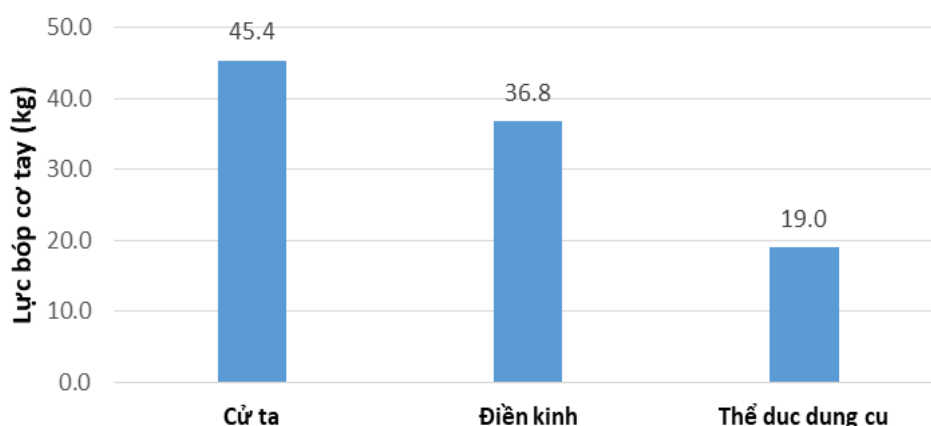
Biểu đồ 3. Chỉ số cân nặng của vận động viên

Nhận xét: Cân nặng (kg) ở nhóm VĐV cử tạ cao nhất (65,8), sau đó đến nhóm điền kinh (56,6) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (30,6). Cân nặng trung bình chung là 53.7 ± 14.9 (kg).



Biểu đồ 4. Chỉ số BMI của vận động viên

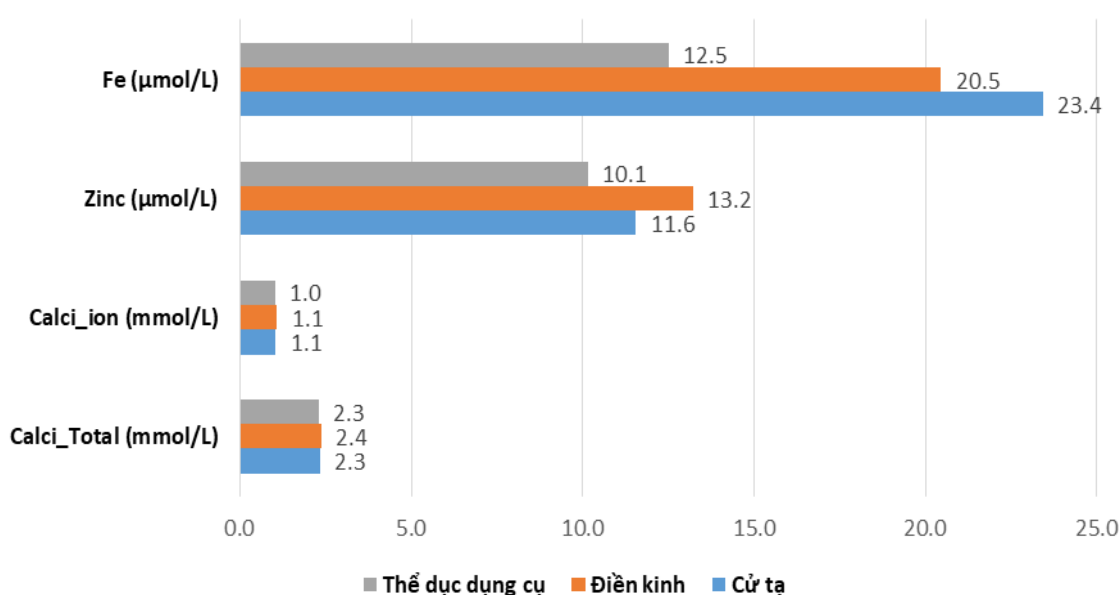
Nhận xét: Chỉ số BMI ở nhóm VĐV cử tạ cao nhất (24,8), sau đó đến nhóm điền kinh (19,8) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (16,4).



Biểu đồ 5. Chỉ số lực bóp cơ tay thuận của vận động viên

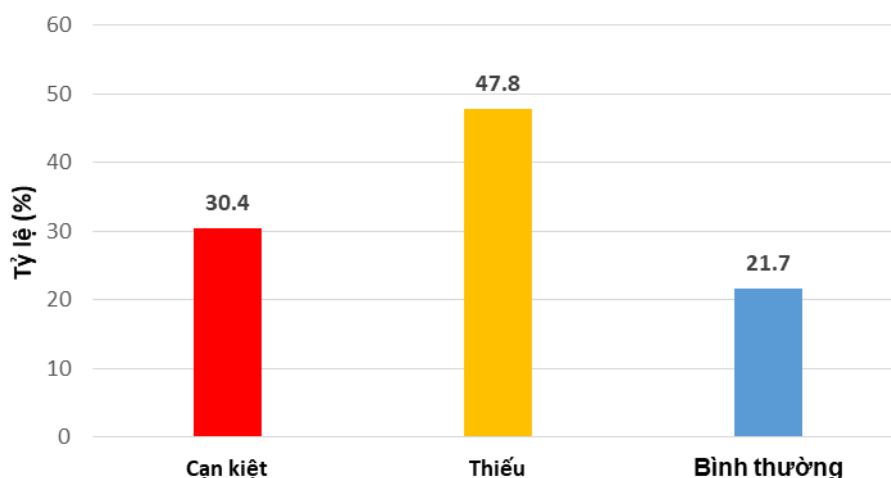
Nhận xét: Chỉ số lực cơ tay ở nhóm VĐV cử tạ cao nhất (45,4), sau đó đến nhóm điền kinh (36,8) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (19,0).

3.3. Tình trạng dinh dưỡng qua chỉ số xét nghiệm sinh hoá



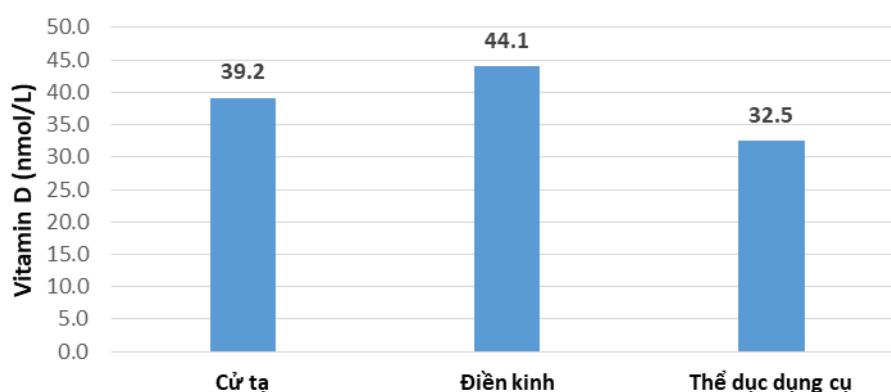
Biểu đồ 5. Chỉ số yếu tố đa lượng và vi lượng của vận động viên.

Nhận xét: Nhóm VĐV điền kinh có xu hướng có nồng độ kẽm ($p < 0,05$) và calci huyết thanh cao hơn ($p > 0,05$) các nhóm khác. Nhóm cử tạ có nồng độ sắt huyết thanh cao hơn các nhóm khác ($p < 0,05$).



Biểu đồ 6. Tình trạng thiếu vitamin D của vận động viên

Nhận xét: Chỉ 21.7% số VĐV có đủ vitamin D ($>50\text{nmol/L}$), phần còn lại chiếm tỷ lệ lớn (47.8%) là thiếu ($< 50\text{ nmol/L}$) và cạn kiệt (30.4%) Vitamin D ($< 30\text{ nmol/L}$).



Biểu đồ 7. Nồng độ vitamin D của vận động viên

Nhận xét: Nồng độ Vitamin D của vận động viên ở mức thiếu ($39,6\pm 12,7\text{nmol/L}$), nồng độ Vitamin D huyết thanh của nhóm điền kinh cao nhất ($44,1\text{nmol/L}$), sau đó đến nhóm cử tạ ($39,2\text{ nmol/L}$) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ ($32,5\text{nmol/L}$).

IV. BÀN LUẬN

4.1. Tình trạng dinh dưỡng của vận động viên qua chỉ số nhân trắc và thể lực

Tập luyện thể thao cần tạo khối cơ để tăng sức bền cho cơ thể và giữ cân nặng ổn định. Chế độ ăn và tập luyện cần hợp lý để sao cho cung cấp đủ năng lượng tiêu hao và tích lũy khối cơ đủ khoẻ cho quá trình thi đấu trong điều kiện cực hạn.

Kết quả nghiên cứu cho thấy cân nặng (kg) nặng trung bình chung là 53.7 ± 14.9 (kg), trong đó nhóm VĐV cử tạ cao nhất (65,8), sau đó đến nhóm điền kinh (56,6) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (30,6). Tương tự, chỉ số lực cơ tay ở nhóm VĐV cử tạ cao nhất (45,4kg), sau đó đến nhóm điền kinh (36,8 kg) và thấp nhất là nhóm thể dục dụng cụ (19,0 kg). Điều này chứng tỏ các vận động viên đã áp dụng chế độ dinh

duỡng, tập luyện để sức cơ tương ứng với thể hình của bản thân, phục vụ các môn thi đấu có tính chất khác nhau [8].

Các chỉ số nhân trắc và thể lực của VĐV đều thể hiện đặc điểm của loại hình thể thao và đặc điểm cơ thể của từng nhóm đặc thù. Nhóm cử tạ cần thể lực, cân nặng, sức cơ tốt nhất, trong khi đó nhóm thể dục dụng cụ cần sự tinh tế, chính xác, khéo léo nên thường nhẹ cân và không tập nặng. Nhóm điền kinh cần sự dẻo dai nên các chỉ số cân nặng, BMI luôn giữ ở mức trung bình để tạo vóc dáng cho cơ thể.

4.2. Tình trạng dinh dưỡng của vận động viên qua chỉ số sinh hoá

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ VĐV thiếu canxi cao (78%). Canxi giúp cơ thể hình thành hệ xương và răng vững chắc, đảm bảo chức phận thần kinh và sự đông máu bình thường. Tất cả các quá trình chuyển hoá trong cơ thể đều cần calci, vì vậy nồng độ canxi trong cơ thể được duy trì không thay đổi bằng cơ chế cân bằng. Có 60% canxi trong huyết thanh tồn tại dưới dạng ion và có hoạt tính sinh học, lượng canxi còn lại trong huyết thanh không phải ion mà ở dạng 'trơ'. Thiếu canxi ảnh hưởng tới tăng trưởng chiều cao và thành tích khi thi đấu, dễ gây chuột rút tê bì khi vận động cường độ cao.

Tỷ lệ VĐV thiếu kẽm nhiều (43,5%). Kẽm là vi chất có vai trò đặc biệt quan trọng đối với sự phát triển của cơ thể. Kẽm giúp cơ thể chuyển hóa năng lượng, phân chia tế bào và hình thành các tổ chức. Kẽm cũng tương tác với những hormon quan trọng tham gia vào tăng trưởng xương. Kẽm làm tăng hiệu quả của vitamin D lên chuyển hoá xương thông qua kích thích tổng hợp DNA trong tế bào xương. Kẽm còn có tác dụng điều hòa hệ thống nội tiết, thúc đẩy quá trình tăng trưởng, chính vì vậy kẽm có vai trò rất quan

trọng đối với sự phát triển về tầm vóc và chiều cao. Ngoài ra, kẽm còn là vi chất thiết yếu đảm bảo cho sự phát triển hệ thần kinh của trẻ được diễn ra bình thường. VĐV thiếu kẽm ảnh hưởng tới sự phát triển chiều cao và thành tích thi đấu.

Phần lớn (78,3) VĐV thiếu Vitamin D (< 50 nmol/L), đặc biệt tỷ lệ VĐV cạn kiệt Vitamin D là 30,4% (< 30 nmol/L). Lý giải điều này có thể do mẫu được lấy vào cuối mùa thu, nồng độ Vitamin D có thể giảm theo mùa, giảm nhiều sau các đợt luyện tập cường độ cao, kéo dài. Tuy nhiên các nghiên cứu khác cũng cho thấy các VĐV đều thiếu, không liên quan nhiều đến mùa trong năm mà chủ yếu liên quan đến hình thức vận động trong nhà hay ngoài trời, cường độ vận động và chế độ dinh dưỡng [9], [10].

V. KẾT LUẬN

Nhóm vận động viên đỉnh cao có chỉ số thể hình phù hợp với đặc trưng môn thể thao chuyên sâu, tuy nhiên cơ thể vận động viên thường thiếu vi chất như canxi, kẽm, đặc biệt phần lớn vận động viên thiếu và cạn kiệt Vitamin D sau thời gian tập cường độ cao.

Xét nghiệm sinh hóa cho thấy tình trạng thiếu vi chất dinh dưỡng còn khá phổ biến ở vận động viên: thiếu canxi ion (78%), canxi toàn phần thấp (17%), thiếu kẽm (43,5%). Đặc biệt, trong các VĐV thiếu Vitamin D (78,3%), phần lớn (30,4%) ở tình trạng cạn kiệt Vitamin D (<30 nmol/L).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Burke, L.M., et al.**, Eating patterns and meal frequency of elite Australian athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 2003. 13(4): p. 521-38.
2. **Burke, L.M.**, **Energy needs of athletes**. *Can J Appl Physiol*, 2001. 26 Suppl: p. S202-19.

3. **Capling, L., et al.**, Validity of Dietary Assessment in Athletes: A Systematic Review. *Nutrients*, 2017. **9**(12): p. 1313.
4. **Tardy, A.L., et al.**, Vitamins and Minerals for Energy, Fatigue and Cognition: A Narrative Review of the Biochemical and Clinical Evidence. *Nutrients*, 2020. **12**(1).
5. **Lukaski, H.C.**, Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition*, 2004. **20**(7-8): p. 632-44.
6. **Beck, K.L., et al.**, Micronutrients and athletic performance: A review. *Food Chem Toxicol*, 2021. **158**: p. 112618.
7. **Amrein, K., et al.**, Vitamin D deficiency 2.0: an update on the current status worldwide. *European Journal of Clinical Nutrition*, 2020. **74**(11): p. 1498-1513.
8. **Larson-Meyer, D.E., K. Woolf, and L. Burke**, Assessment of Nutrient Status in Athletes and the Need for Supplementation. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 2018. **28**(2): p. 139-158.
9. **Kawashima, I., et al.**, Comparison of vitamin D sufficiency between indoor and outdoor elite male collegiate athletes. *Nagoya J Med Sci*, 2021. **83**(2): p. 219-226.
10. **Teixeira, P., et al.**, Prevalence of vitamin D deficiency amongst soccer athletes and effects of 8 weeks supplementation. *J Sports Med Phys Fitness*, 2019. **59**(4): p. 693-699.

KHẢ NĂNG LÊN MEN CHÌM VÀ TÁC DỤNG CỦA DỊCH CHIẾT SINH KHỐI NẤM THƯỢNG HOÀNG (*Phellinus linteus*) PHÂN LẬP TẠI LÂM ĐỒNG, VIỆT NAM LÊN MỘT SỐ DÒNG TẾ BÀO NGƯỜI

**Phạm Đức Minh², Hoàng Vân Thanh³, Hoàng Phú Hiệp³,
Hoa Thị Minh Tú¹, Nguyễn Hữu Trí²,
Lê Thị Hoàng Yến⁵, Nguyễn Thị Minh Huyền¹**

TÓM TẮT

Nấm Thượng hoàng (*Phellinus linteus*) đã được biết đến trên thế giới là loại nấm dược liệu

có nhiều công dụng tốt cho sức khỏe của con người. Tuy nhiên, quả thể của nấm ở Việt Nam rất hiếm và giá khá cao vì việc trồng nấm này ở nước ta có nhiều hạn chế. Do đó, trồng nấm dưới dạng sinh khối trong môi trường lên men lỏng cũng là một lựa chọn được quan tâm. Trong nghiên cứu này, chủng nấm được đặt tên PLUS được phân lập từ vùng Lâm Đồng và được phân loại là *Phellinus linteus* dựa vào trình tự rARN vùng ITS. Chủng nấm này được tối ưu hóa điều kiện nuôi cấy để thu sinh khối dạng sợi. Sinh khối nấm thu sau khi lên men được sấy khô và chiết với nước nóng và cồn, sau đó các dịch chiết được đánh giá khả năng ảnh hưởng đến dòng tế bào ung thư vú BT474 bằng KIT MTS. Kết quả

¹*Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam;*

²*Học viện Quân y, Bệnh viện Quân y 103;*

³*Đại học Sư phạm, Đại học Thái Nguyên;*

⁴*Đại học Nông Lâm Thành phố Hồ Chí Minh;*

⁵*Viện Vi sinh vật và công nghệ sinh học, Đại học Quốc gia Hà Nội;*

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Minh Huyền
Email: ntminhhuyen@ibt.ac.vn

Ngày nhận bài: 23.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

cho thấy cả hai dịch chiết của *Phellinus linteus* đều có khả năng kìm hãm sự phát triển của BT474. Dịch chiết nước nóng có sự kìm hãm BT474 cao hơn dịch chiết cồn. Cả 2 loại dịch chiết này đều không ảnh hưởng đến dòng tế bào phôi thận thường của người (HEK293).

Từ khóa: Phân lập, nấm dược liệu, lên men chìm, sinh khối, *Phellinus linteus*.

SUMMARY

SUBMERGE FERMENTATION ABILITY AND EFFECT OF EXTRACTION OF PHELLINUS LINTEUS BIOMASS WHICH ISOLATED IN LAM DONG, VIETNAM ON HUMAN CELL LINES

Phellinus linteus has been worldwide known as a medicinal mushroom with many useful activity for human health. However, its fruit body still rare in Vietnam and is very expensive, because it is difficult for cultivated in artificial medium. Therefore, biomass production by liquid fermentation is still being a good way for obtaining this mushroom's production in Vietnam. In this study, one mushroom naming PLUS was isolated from Lam Dong. Based on morphology observation and rARN sequence analysis of the ITS region PLUS was identified as *Phellinus linteus*. Biomass of this fungus obtained from an optimized liquid medium was used for hot water and ethanol extraction. These extractions were used for testing ability to affect to human breast cancer cell line (BT474) activity by using MTS KIT. The results showed that both of two extractions inhibit activity of BT474 cell line. However, the hot water extraction showed higher activity than the ethanol extraction. Both of these extractions showed no effective to the normal human embryonic kidney (HEK293) cell line.

Keywords: Isolation, medicinal mushroom, submerged fermentation, biomass, *Phellinus linteus*

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nấm Thượng hoàng (TH) có tên khoa học là *Phellinus linteus*, họ Hymenochaetaceae, chi *Phellinus*. Nấm có màu vàng, đường kính 6-12 cm, dày khoảng 2-10 cm, hình bán nguyệt, dạng nhẵn, tròn và hình dạng rất đa dạng. Bề mặt có màu sẫm, lông ngắn và dần mất đi khi trưởng thành, khi đó nấm ngả sang màu đen hoặc vàng sẫm, bề ngang và bề dọc khác biệt hẳn. Mặt chính giữa thường có màu vàng sáng, mặt dưới màu sẫm. Thỉnh thoảng nấm có hình dạng không miếng và bào tử có màu vàng nhạt. Đây là loài nấm hóa gỗ, thường mọc ở những vùng rừng sâu, núi cao hiểm trở, hay các khu rừng nguyên sinh nên tuổi nấm có khi lên tới hàng chục năm. Chúng đã được sử dụng phổ biến tại Hàn Quốc, Trung Quốc, Nhật Bản. Tổng sản lượng của các loài *Phellinus* trên thế giới khoảng 30 tấn/năm, chủ yếu từ tự nhiên. Việt Nam là nước có khá nhiều loài *Phellinus*, tuy nhiên cũng bị khai thác cạn kiệt, tận thu và khó gặp nếu không đi sâu vào các vùng rừng nguyên sinh. Tác dụng của nấm này đối với sức khỏe của con người đã được nghiên cứu khá nhiều. Các loại nấm này đang được các nhà khoa học thế giới quan tâm vì đặc tính chống khối u của nó [1]. Các nghiên cứu chỉ ra rằng nó còn có tác dụng tốt đối với điều trị các bệnh như đái tháo đường, nhiễm khuẩn, bệnh tim, cao huyết áp và có tính kháng viêm loét [2]. Hiện nay, đã có một số nghiên cứu tại Việt Nam tìm đặc điểm sinh trưởng của nấm [3] hay nghiên cứu về các loài cùng chi *Phellinus* như *Phellinus baumi* [4] nhằm mục đích như trên. Trong nghiên cứu này, đã phân lập và định danh được nấm Thượng

hoàng tại vùng Lâm Đồng, Việt Nam và một số nghiên cứu sơ bộ về đặc tính sinh trưởng cũng như tác dụng của dịch chiết sinh khối nấm lên dòng tế bào ung thư vú BT474 và tế bào thường HEK293 đã được thực hiện.

II. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu

Chủng nấm TH được thu tại vùng Madagui, huyện Đa Huoai, tỉnh Lâm Đồng; Các hóa chất đạt chuẩn vi sinh và sinh học phân tử; Môi trường thạch khoai tây (PDA-Potato Dextrose Agar): 200 g khoai tây, đun lấy nước trong 20 phút, glucose 20 g/l; Yeast extract 1 g/l; Agar 15 g/l khử trùng ở 121°C trong 15 phút. Môi trường lỏng được chuẩn bị dựa trên tham khảo của Lee et al [5]. Thành phần môi trường gồm: glucose 40 g/l; cao nấm men 20 g/l; K_2HPO_4 0,46 g/l; KH_2PO_4 1,00 g/l; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 g/l; $FeCl_2$ 0,01 g/l; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 0,036 g/l; $ZnCl_2$ 0,03 g/l; $CuSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,005 g/l; hấp khử trùng ở 121°C trong thời gian 15-20 phút.

Phương pháp nghiên cứu

Phân lập nấm *Thurong hoang Phellinus* sp.: Tai nấm TH được thu nhận tại thị trấn Madagui, huyện Đa Huoai, tỉnh Lâm Đồng. Tai nấm phát triển tốt, không bị sâu mọt đục khoét. Mẫu được xử lý theo cách sau: Dùng bông thấm cồn 70° lau bề mặt quả thể nấm để loại bỏ bào tử và các bụi bẩn trên quả thể, cắt sạch chân nấm. Sau đó, dùng bông thấm cồn 70° lau bề mặt quả thể nấm. Khử trùng dao cấy trên ngọn lửa đèn cồn. Dùng lưỡi dao rạch nhẹ mặt dưới quả thể nấm tách quả thể làm hai. Tiến hành lấy dao cấy lấy mẫu mô bên trong và cấy lên môi trường PDA trong đĩa petri có kích thước 90 x 15 mm. Sau đó, mang đĩa giống để vào phòng tối, nhiệt độ phòng từ 25°C – 32°C. Quan sát sợi nấm mọc sau đó.

Nhân giống nấm trong môi trường thạch và lỏng: Giống nấm được nhân và bảo quản ở môi trường PDA. Trước các thí nghiệm, làm mới bằng cách cấy nấm trên đĩa PDA, ủ ở 28°C. Cắt nhỏ sợi nấm và chuyển sang môi trường lỏng trong bình tam giác 250ml với 50 ml môi trường, và cấy giống theo tỉ lệ 10%. Các điều kiện gồm: nhiệt độ 28°C, tốc độ lắc 150 vòng/phút, thời gian nuôi lắc 12 ngày để thu sinh khối.

Tách chiết và tinh sạch DNA từ nấm *Thurong Hoang*: Sinh khối nấm được thu bằng cách ly tâm 10000 vòng/phút trong 5 phút trong ống 2ml và nghiền mịn với Ni tơ lỏng. Bổ sung 800 µl đệm TE + 1% triton X-100, trộn đều. Thêm 15 µl lysozyme 100 mg/ml, ủ ở 37°C trong 1h. Thêm 60µl SDS 10% và 15µl proteinase K (20mg/ml), trộn đều, ủ ở 56°C trong 30 phút. Tiếp tục thêm 100µl CTAB/NaCl và 100µl NaCl 5M, trộn đều, ủ ở 65°C trong 10 phút. Bổ sung 800µl hỗn hợp Cloroform/isoamylalcohol (24:1) đảo nhẹ nhàng, ly tâm 10 phút ở 12000 vòng/phút. Hút dịch nổi sang ống mới. Lặp lại bước này 2 lần. Bổ sung 800µl isopropanol, đảo ống và ủ ở -20°C trong 1giờ. Ly tâm với tốc độ 12000 vòng/phút trong 15 phút ở 4°C. Rửa tua 2 lần bằng 500µl ethanol 70%, ly tâm thu cạn, và để khô. Hòa tan lại DNA trong 100µl nước khử ion (DDW), bổ sung 200 µl lysis buffer và tiếp tục tinh sạch lại với kit Thermo Scientific GeneJET DNA purification. DNA được elute trong 100µl DDW. Bảo quản trong tủ -20°C. Nồng độ DNA được xác định với máy đo nanodrop.

PCR và giải trình tự DNA: Hỗn hợp phản ứng PCR gồm có: 1x PCR buffer 22,5 µl, 10 pmol primer 0,5 µl mỗi loại (ITS1: TCC GTA GGT GAA CCT GCG G; ITS4: TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC), DNA

khuôn 0,5 µl, nước khử ion vừa đủ 25 µl (EZ PCR mix, Phusa Biochem). Chu trình nhiệt: 1, 95°C 3 phút; 2, 95°C 30 giây; 3, 58°C 30 giây; và 4, 72°C 30 giây; lặp lại các bước 2 đến 4 từ 30 đến 35 chu kỳ; 5, 72°C 5 phút. Sản phẩm PCR được phân tách bằng điện di trên 1% agarose gel, 100V, 30 phút và kiểm tra kết quả với UV visualizer. Sau đó được giải trình tự tại Phòng thí nghiệm Trọng điểm công nghệ gene, Viện Công nghệ sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam. Kết quả được phân tích sử dụng phần mềm BioEdit và Blast tool trên NCBI.

Chiết bột sinh khối nấm Thượng hoàng: a, Chiết cồn: Ngâm 10 g bột sinh khối trong 300 ml cồn (2~3 ngày), thu dịch bằng cách lọc với giấy lọc 3M. Dịch sau khi lọc được cô đặc với máy cô quay chân không đến khi khối lượng không thay đổi. Xác định khối lượng bình trước và sau khi cô, và hòa lại các chất còn trong bình cô quay với 2ml DMSO. Hàm lượng các chất được tính theo mg/ml. b, Chiết nước nóng: Ngâm 10g bột sinh khối trong 200-300 ml nước cất nóng ~90°C trong 2-3 giờ (h). Thu dịch và cô đặc tương tự như chiết với cồn và hòa lại trong 2 ml nước. Cách tính hàm lượng các chất trong dịch chiết tương tự như với chiết cồn (mg/ml).

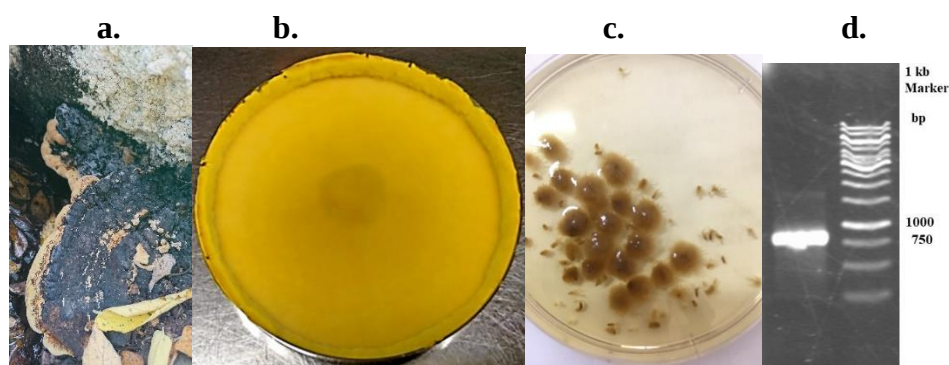
Thí nghiệm trên tế bào BT474 và HEK293: Tế bào sau khi hoạt hóa và cấy chuyển một số lần để đạt độ ổn định trước thí nghiệm. Tế bào được duy trì trong môi trường DMEM low glucose bổ sung 10 % FBS, 1% Pen/strep trong tủ ấm 37°C, 5% CO₂. Đếm tế bào sử dụng Trypan blue và chia ra đĩa 96 giếng ở nồng độ 10⁴ tế bào/giếng/100 µl, ủ qua đêm. Bổ sung dịch chiết nước nóng của nấm ở các nồng độ 0,425 mg/ml, 0,85 mg/ml, 1,7 mg/ml, 3,4 mg/ml; dịch chiết cồn ở các nồng độ: 0,15

mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,6 mg/ml, 1,2 mg/ml trên tổng 10 µl vào mỗi giếng và tiếp tục theo dõi sau khi ủ 24h, 48h. Ảnh hưởng của dịch chiết đến các tế bào được đánh giá bằng cách quan sát trên kính hiển vi quang học và theo phương pháp MTS sử dụng Kit CellTiter 96® AQueous One Solution Cell Proliferation Assay (MTS) của hãng Promega. Mỗi mẫu thí nghiệm được lặp lại 2 lần.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Thu thập và phân lập và định danh nấm Thượng hoàng

Nấm TH được tìm thấy tại một hốc cây mục ở vùng Madagui, huyện Đạ Huoai, tỉnh Lâm Đồng (hình 1a). Tại nấm có kích thước lớn, bề mặt xen lẫn màu đen và vàng. Vùng màu đen có bề mặt nhẵn, mịn. Vùng màu vàng có bề mặt mịn như nhung, cấu tạo xốp hơn. Sợi nấm phát triển trên bề mặt thạch PDA có màu vàng đậm, bề mặt mịn như nhung. Sợi tơ khỏe, tốc độ lan tơ đầy đĩa trong khoảng 7 đến 10 ngày (hình 1b). Trong môi trường lỏng, sợi nấm mọc theo khối tròn hoặc dài, các sợi tơ lan tỏa xung quanh khối cầu đó (hình 1c). Nhiệt độ thích hợp để sợi nấm phát triển trên môi trường thạch là 28°C. Trình tự gene tại vùng ITS được khuếch đại với phản ứng PCR dùng mồi đặc trưng ITS1 và ITS4 [6]. Vùng gene khuếch đại là một băng to, rõ nét, có kích thước khoảng hơn 800bp (hình 1d). Sản phẩm PCR được giải trình tự theo phương pháp Sanger. Trình tự PCR được blast trên NCBI cho thấy nấm thu thập được có trình tự tương đồng với *Phellinus linteus* strain DGUM25004 (99% tương đồng, 100% cover) với gene bank accession: AF080458.1.



Hình 1: Thu thập và phân lập nấm Thượng hoàng.

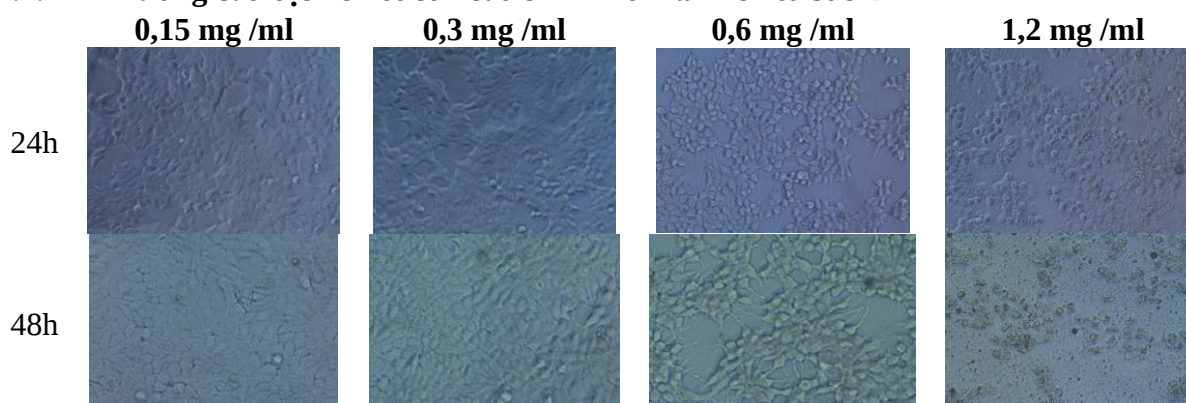
a. Ảnh nấm tại hiện trường. b. Sợi nấm mọc trên đĩa thạch PDA.

c. Sợi nấm phát triển trong môi trường lỏng.

d. Sản phẩm PCR của ADN tổng số với môi ITS1 và ITS4

2. Ảnh hưởng của dịch chiết sinh khối nấm Thượng hoàng lên các dòng tế bào ung thư vú BT474 và tế bào thường phôi thận người (HEK293).

2.1. Ảnh hưởng của dịch chiết cồn của sinh khối nấm lên tế bào BT474



Hình 2: Tế bào BT474 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết cồn của sinh khối nấm TH.

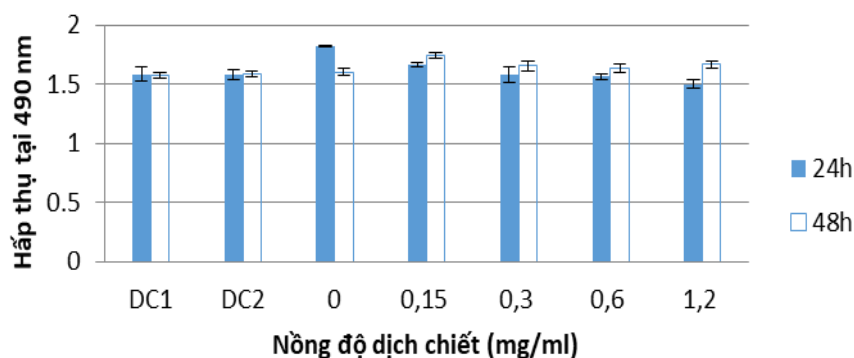
Sau 24h ủ với dịch chiết cồn, hàm lượng dịch chiết tăng lên thì tế bào cũng phát triển kém hơn, thưa hơn, đặc biệt ở nồng độ cao nhất (1,2 mg/ml) tế bào đã có dấu hiệu chết, tế bào trở nên tròn hơn, không thấy còn chân bám và bề mặt phồng lên nhiều hơn (hình 2).

Sau 48h, ở các nồng độ thấp không thấy có ảnh hưởng nhiều. Ở nồng độ 0,6 mg/ml tế bào thưa thớt hơn rất nhiều và ở nồng độ 1,2 mg/ml thì tế bào đã chết, các cấu trúc tế bào đã không còn, nhiều vùng tế bào tan rã thành các mảnh vụn nhỏ (hình 2). Ở các thí nghiệm đối chứng gồm tế bào không xử lý gì hoặc ủ

với 0,1% và 0,2 % DMSO (trương ứng với nồng độ DMSO có trong 0,6 mg/ml và 1,2 mg/ml dịch chiết), các tế bào vẫn sống bình thường, khỏe, vách tế bào lan tỏa và bám vào đáy đĩa nuôi, không có dấu hiệu bị chết (kết quả không thể hiện trong hình 2). Như vậy, DMSO có trong đối chứng hay trong mẫu không ảnh hưởng đến sự sống của tế bào ở các nồng độ ủ là 0,1% và 0,2%. Sau khi ủ với MTS (hình 3), sau 24h tế bào BT474 giảm dần sự sống khi nồng độ dịch chiết tăng. Ở nồng độ 0 mg/ml hay không bổ sung dịch chiết cồn của nấm, tế bào có sức sống

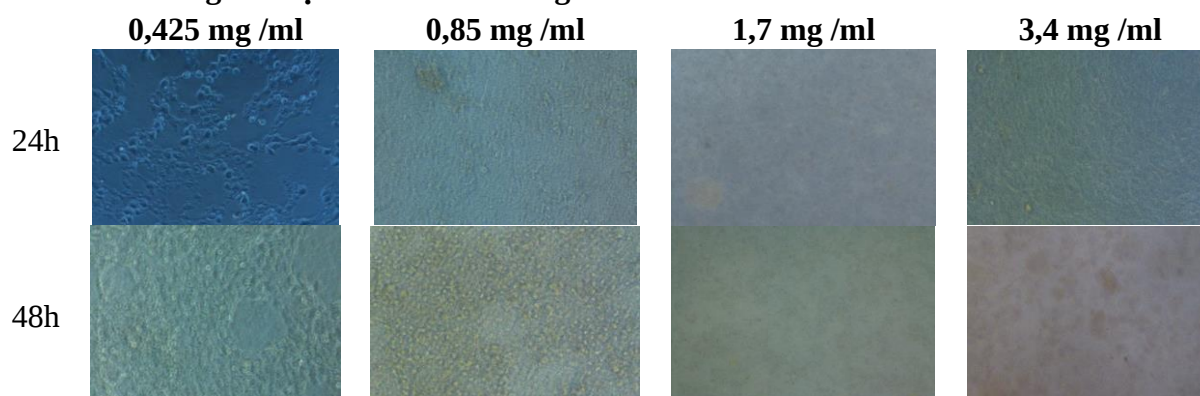
cao nhất. Ở nồng độ 1,2 mg/ml, tế bào cho thấy sức sống thấp nhất. Hay nói cách khác là dịch chiết còn của sinh khối nấm ức chế sự phát triển của tế bào ung thư vú BT474. Tuy nhiên, sau 48h kết quả không ổn định như

đối với trường hợp 24h. Điều này có thể là do sau 48h có một số chất ảnh hưởng đến kết quả đọc phổ hấp thụ ở 490 nm do đó kết quả không ổn định. Ở trường hợp đối chứng kết quả không thay đổi đáng kể.



Hình 3: Kết quả MTS của tế bào BT474 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết còn của sinh khối nấm TH. DC1: tế bào ủ với 0,2 % DMSO; DC2: tế bào ủ với 0,1% DMSO; các con số là nồng độ dịch chiết (mg/ml)

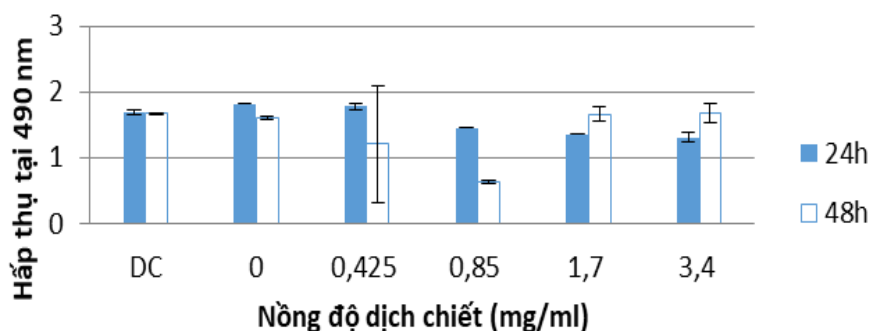
2.2. Ảnh hưởng của dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm lên tế bào BT474



Hình 4: Tế bào BT474 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm TH.

Trong trường hợp tế bào BT474 ủ với dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm (hình 4), sau 24h, ở nồng độ thấp nhất là 0,425 mg/ml, tế bào vẫn có chân bám vào bề mặt đĩa nuôi cấy, ở các nồng độ cao hơn không còn nhìn rõ từng tế bào. Sau 48h, ngay cả ở nồng độ thấp nhất cũng không thấy rõ chân tế bào bám vào đáy đĩa nuôi.

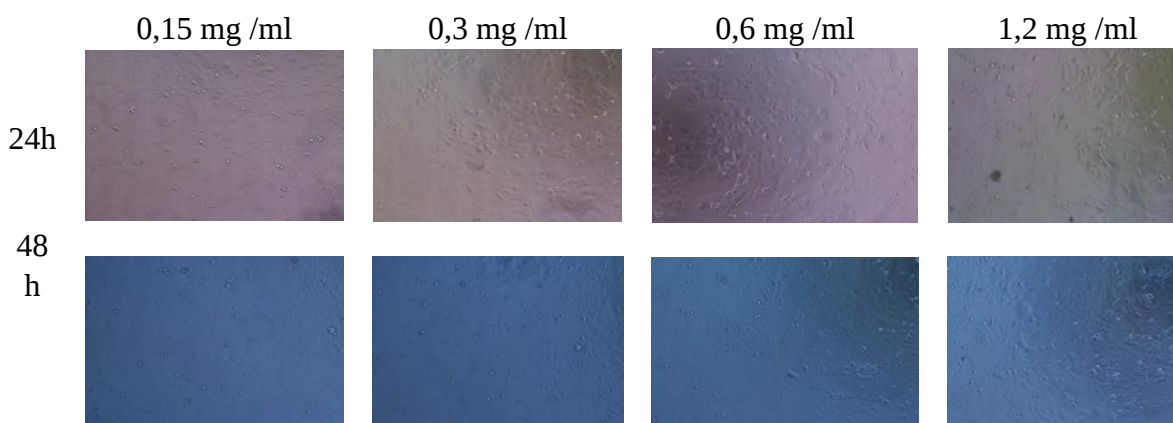
Kết quả MTS (hình 5) sau 24h cho thấy tế bào giảm dần sự sống khi nồng độ của dịch chiết nước nóng của bột sinh khối nấm Thượng hoàng tăng dần. Tuy nhiên, cũng giống như trường hợp dịch chiết còn, sau 48h thì kết quả MTS không ổn định. Các thí nghiệm khẳng định cần được làm thêm để có kết quả tốt hơn.



Hình 5: Kết quả MTS của tế bào BT474 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm TH. DC: tế bào ủ với 10 μ l nước cất; Các con số là nồng độ dịch chiết (mg/ml).

2.3. Ảnh hưởng của dịch chiết cồn của sinh khối nấm lên tế bào HEK293

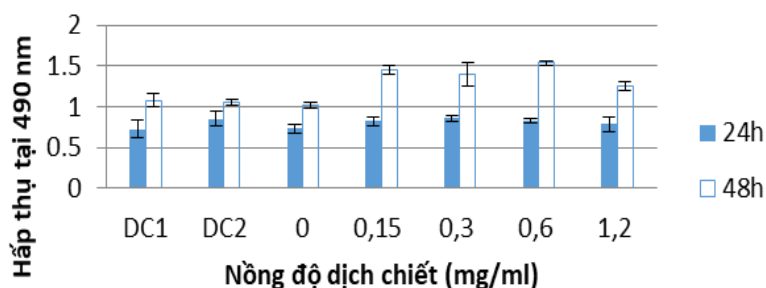
Với dòng tế bào thường, tế bào HEK293 khi được ủ với các nồng độ khác nhau của dịch chiết cồn của sinh khối nấm có hình ảnh như sau:



Hình 6: Tế bào HEK293 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết cồn của sinh khối nấm TH

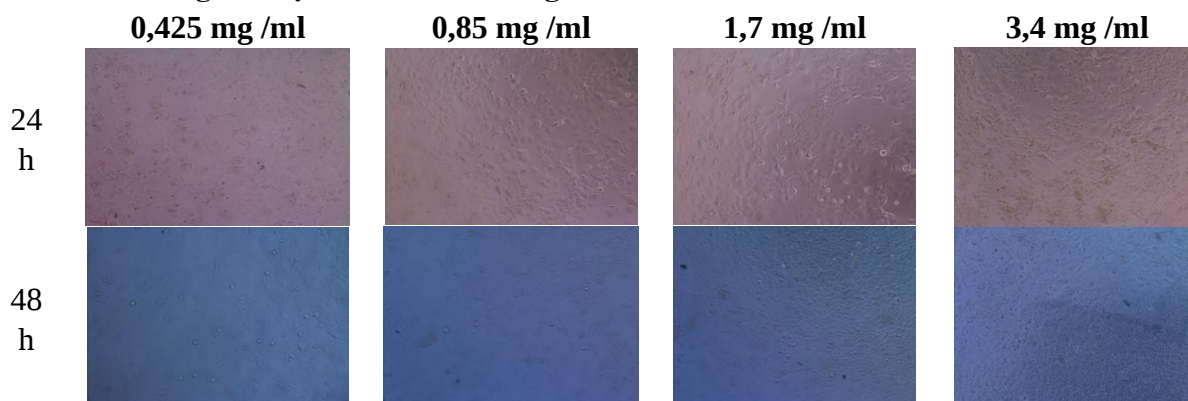
Sau 24h ủ với dịch chiết cồn, tế bào HEK293 vẫn phát triển bình thường ở tất cả các nồng độ dịch chiết trong thí nghiệm, chân tế bào vẫn tỏa ra, bám vào bề mặt đáy đĩa nuôi cấy, không bị co tròn lại, có thể quan sát được rõ ràng. Sau 48h ủ, ngay cả ở nồng độ cao nhất là 1,2 mg/ml dịch chiết, tế bào HEK293 vẫn phát triển bình thường, không thấy dấu hiệu tế bào chết (hình 6). Kết quả MTS (hình 7) cũng cho thấy tế bào phát triển tốt hơn ở các nồng độ dịch chiết khác nhau so với không bổ sung dịch chiết (nồng độ 0 mg/ml). Tương tự sau 48h ủ với dịch

chiết cồn của sinh khối nấm, các tế bào vẫn phát triển tốt hơn ở trường hợp bổ sung dịch chiết so với trường hợp không ủ dịch chiết. DMSO có trong đối chứng hay trong mẫu không ảnh hưởng đến sự sống của tế bào ở các nồng độ ủ là 0,1% và 0,2%, nồng độ 0,2% DMSO tương đương lượng DMSO có trong 1,2 mg/ml dịch chiết. Như vậy, dịch chiết sinh khối nấm trong cồn đã có tác dụng tốt lên dòng tế bào thường HEK293, không ức chế tế bào mà lại kích thích tế bào phát triển.



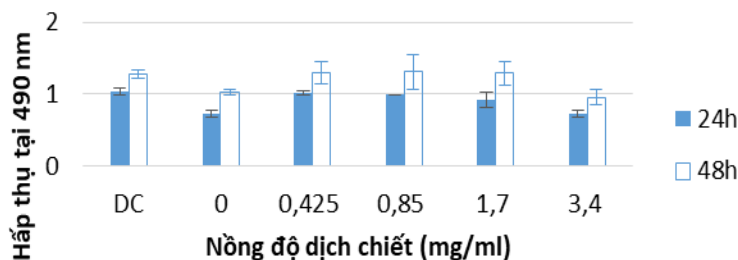
Hình 7: Kết quả MTS của tế bào HEK293 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết cồn của sinh khối nấm TH. DC1: tế bào ủ với 0,2 % DMSO; DC2: tế bào ủ với 0,1 % DMSO; các con số là nồng độ dịch chiết (mg/ml)

2.4. Ảnh hưởng của dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm lên tế bào HEK293



Hình 8: Tế bào HEK293 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm TH

Trong hình 8 ta thấy, tế bào HEK293 ủ với dịch chiết nước nóng của nấm vẫn phát triển bình thường. Có một số thành phần chưa tan hoàn toàn ở nồng độ cao nhất của dịch chiết nước nóng (3,4 mg/ml) do đó ảnh hưởng đến hình ảnh (các đám hạt tròn nhỏ che mất hình ảnh tế bào). Tuy nhiên, vẫn quan sát được rõ ràng hình ảnh chân tế bào bám vào đáy đĩa nuôi, cho thấy tế bào không bị ảnh hưởng bởi việc bổ sung dịch chiết nước nóng của nấm Thượng hoàng.



Hình 9: Kết quả MTS của tế bào HEK293 sau 24h và 48h ủ với dịch chiết nước nóng của sinh khối nấm TH. DC: tế bào ủ với 10 μ l nước cất; Các con số là nồng độ dịch chiết (mg/ml)

Ở hình 9, kết quả ủ với MTS, sau khi ủ với dịch chiết nước nóng của nấm thì độ hấp phụ của tế bào ở cả 2 thời điểm đo đều tăng lên so với không ủ. Điều này cho thấy dịch chiết sinh khối nấm ngâm nước nóng đã có đáp ứng tốt đến tế bào HEK, kích thích tế bào phát triển tăng sinh. Tuy nhiên, ở nồng độ dịch chiết cao hơn thì sức sống của tế bào giảm dần. Sức sống của tế bào cao nhất ở nồng độ dịch chiết 0,425 mg/ml và thấp nhất ở nồng độ dịch chiết là 3,4 mg/ml. Như vậy, nồng độ nghiên cứu để sử dụng nấm rất quan trọng để suy ra liều lượng bổ sung nào hàng ngày có thể giúp nâng cao sức khỏe con người, hay có thể không tốt nếu dùng liều cao dịch chiết vì chúng có thể trở nên ức chế tế bào. Theo Sensuke [1], 10 dòng tế bào ung thư gồm có PC-3, DU-145, LNCaP, T24, ACHN, A549, MCF-7, AGS, HepG2, U87 đều bị ức chế bởi dịch chiết của *Phellinus linteus* (PL-ES và PL-I-ES). Kết quả cho thấy tiềm năng kháng khối u của dịch chiết nấm này. Với kết quả của Jun [7], dịch chiết nấm TH cùng với lá tre và nấm Chaga cũng biểu hiện hoạt tính kháng khối u thông qua sự kích thích đáp ứng miễn dịch nguyên thủy. Như vậy kết quả ức chế sự phát triển tế bào ung thư vú BT474 của dịch chiết sinh khối nấm của chúng tôi đáng tin cậy. Ngoài ra, theo Jung-ok, 2008 [8] dịch chiết còn (PLE) có hàm lượng tổng flavonoid và phenolic cao hơn dịch chiết nước nóng (PLW) của nấm TH; các hoạt tính ức chế tyrosinase hay elastase PLE cũng cao và PLE thích hợp để sử dụng như thực phẩm chức năng hoặc nguyên liệu cho mỹ phẩm.

V. KẾT LUẬN

Đã phân lập và định danh được nấm Thượng hoàng thu thập tại vùng Lâm Đồng,

Việt Nam. Nấm thu thập được có trình tự tương đồng với *Phellinus linteus* strain DGUM25004 (99% tương đồng, 100% cover) với gene bank accession: AF080458.1. Nấm có thể phát triển tốt trong điều kiện môi trường thạch bán rắn và môi trường lỏng. Sinh khối nấm chiết cồn và chiết nước nóng có tác dụng ức chế tăng sinh tế bào ung thư vú BT474. Đối với dòng tế bào thường HEK293, dịch chiết cồn và nước nóng của sinh khối nấm kích thích tế bào phát triển so với không bổ sung dịch chiết. Liều lượng sử dụng để phát huy tốt nhất tác dụng của dịch chiết cần phải được nghiên cứu kỹ hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sensuke Konno et al, 2015, Potent Anticancer Effects of Bioactive Mushroom Extracts (*Phellinus linteus*) on a Variety of Human Cancer Cells, *J Clin Med Res.*, 7 (2), 76-82.
2. Kim HM et al, 2010, Evaluation of antidiabetic activity of polysaccharide isolated from *Phellinus linteus* in non-obese diabetic mouse, *Int Immunopharmacol*, 10 (1), 72-78.
3. Phạm Quang Thu, 2016, Đặc điểm sinh học của nấm thượng hoàng (*Phellinus linteus*) trong nuôi cấy thuần khiết, *Tạp chí Khoa học lâm nghiệp*, 1, 4231 - 4237.
4. Trần Thị Lụa, Vũ Văn Hạnh, 2017, Nghiên cứu điều kiện nhân sinh khối nấm thượng hoàng vàng (*Phellinus baumi*), *Tạp chí Khoa học Công nghệ Nông nghiệp Việt Nam*, 8 (81), 106-108.
5. June Woo Lee et al, 2008, Submerged Culture of *Phellinus linteus* for Mass Production of Polysaccharides, *The Korean Society of Mycology – Mycobiology*, 36 (3), 178-182.

6. **White, T. J. et al, 1990**, Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA Genes for phylogenetics, **PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications**, chapter 38, 315-322.
7. **Jun Fang et al, 2020**, Extracts of *Phellinus linteus*, Bamboo (*Sasa senanensis*) Leaf and Chaga Mushroom (*Inonotus obliquus*) Exhibit Antitumor Activity through Activating Innate Immunity, **Nutrients**, **12**, 2279.
8. **Jung-Ok Kim et al, 2008**, Antioxidative and Biological Activity of Hot Water and Ethanol Extracts from *Phellinus linteus*, **J Korean Soc Food Sci Nutr**, **37**(6), 684-690.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG THAY THẾ CỦA MẪU HUYẾT TƯƠNG HEPARIN CHO MẪU HUYẾT THANH ĐỐI VỚI CÁC XÉT NGHIỆM AFP, CEA, HYBRITECH PSA VÀ FREE PSA TRÊN MÁY BECKMAN COULTER DxI800

Điền Thị Thúy Chuyên*, Nguyễn Gia Bình*, Nguyễn Văn Đàm, Đỗ Văn Toàn**, Nguyễn Văn Tính*, Hoàng Mạnh Hưng****

TÓM TẮT

Hiện nay, đối với các xét nghiệm hóa sinh, bệnh phẩm mẫu huyết tương chống đông Heparin đang dần thay thế loại mẫu huyết thanh do có ưu điểm về thời gian xử lý mẫu, tránh phải lấy nhiều loại ống mẫu gây lãng phí và sự không hài lòng từ người bệnh. Tuy nhiên, có một số xét nghiệm miễn dịch trong quá trình sản xuất nhà sản xuất không đánh giá xét nghiệm đó với loại mẫu huyết tương chống đông Heparin. Do đó mục đích của nghiên cứu là đánh giá khả năng thay thế của hai loại mẫu với nhau đối với các xét nghiệm AFP, CEA, Hybritech PSA và Free PSA trên máy trên máy Beckman Coulter DxI 800.

Để đánh giá độ chính xác, với mỗi xét nghiệm, sử dụng mẫu sẵn có của bệnh nhân đã được chỉ định thực hiện xét nghiệm thường quy tại khoa trên hai loại ống mẫu: mẫu huyết thanh và mẫu huyết tương chống đông Heparin để đánh giá. Để đánh giá độ chụm, cũng như độ ổn định của mẫu, mẫu huyết tương sẽ được chia nhỏ ra và bảo quản ở nhiệt độ -20°C, các mẫu này sẽ được chạy lặp lại 3 lần một ngày và trong 5 ngày liên tiếp. Để đánh giá độ tuyến tính, mẫu huyết tương của bệnh nhân có nồng độ cao sẽ trộn với mẫu bệnh nhân có nồng độ thấp để ra được 3 mẫu trộn. Để xác nhận việc có khả năng thay thế giữa 2 loại mẫu, giới hạn chấp nhận được của các xét nghiệm AFP, CEA, Hybritech PSA và Free PSA lần lượt là 11.8, 14.3, 18.7 và 18.7% đối với độ chệch và 6.2, 6.4, 9.1 và 9.1% đối với độ chụm.

Kết quả sử dụng mẫu huyết tương chống đông bằng Heparin cho thấy mức sai số về độ đúng và độ chụm ở trong mức chấp nhận được, đồng thời không ảnh hưởng tới dải phân tích của xét nghiệm.

****Khoa xét nghiệm, bệnh viện Vinmec Time**

***Khoa Sinh hóa - Miễn dịch, Bệnh viện K cơ sở Tân Triều**

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Văn Đàm

Email: nguyenvandam13@gmail.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

Có thể sử dụng mẫu huyết tương chống đông bằng Heparin thay thế cho mẫu huyết thanh đối với các xét nghiệm AFP, CEA, Hybritech PSA và Free PSA trên máy Beckman Coulter DxI 800.

SUMMARY

EVALUATION OF INTERCHANGEABILITY BETWEEN SERUM AND HEPARIN PLASMA FOR AFP, CEA, HYBRITECH PSA AND FREE PSA TESTS ON BECKMAN COULTER DxI800

Nowaday, for biochemistry tests, there is a trend that heparin plasma might be alternative to serum due to some of its advantages including reducing turn-around time and blood waste and raising patient customers' satisfaction. However, some immunoassays have not evaluated for heparine plasma by its manufacturer. Thus, this study aimed to evaluate the heparin plasma alternative to serum for AFP, CEA, Hybritech PSA and Free PSA on Beckman Coulter DxI 800.

To evaluate accuracy, for each test, using available tested tubes of serum and heparin plasma to do it. After preanalytical process, all tubes were analyzed. To evaluate precision and also the stability of the analyte in plasma tube, plasma samples were split into cups which were run in 5 consecutive days, and 3 times per day. To evaluate linearity range, high level plasma were mixed with low level plasma of each test to generate 3 more samples that have levels between 2 original ones. To determine the interchangeability is acceptable, allowable bias and allowables precision of AFP, CEA, Hybritech PSA and Free PSA are 11.8, 14.3, 18.7, 18.7% for bias and 6.2, 6.4, 9.1, 9.1% for precision.

Alls evaluations are acceptable for precision, bias and linearity range.

Conclusion: heparin plasma can be used as alternative to serum for AFP, CEA, Hybritech PSA and Free PSA tests on trên máy Beckman Coulter DxI 800.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ước tính khoảng 70% các quyết định lâm sàng dựa trên kết quả phòng xét nghiệm [1]. Thời gian trả kết quả là một trong những yếu tố quan trọng trong việc chẩn đoán và điều trị kịp thời cũng như việc giảm thời gian chờ đợi của bệnh nhân, đặc biệt là bệnh nhân cấp cứu. Tuy theo một nghiên cứu Q-probes được thực hiện vào năm 2016 [2] đã chỉ ra rằng thời gian trả kết quả xét nghiệm vẫn chưa đáp ứng được kỳ vọng của Bác sĩ lâm sàng. Trong bối cảnh đó, phòng xét nghiệm thường xuyên phải đối mặt với những vấn đề liên quan đến thời gian trả kết quả.

Hiện nay ở Việt Nam cũng như trên thế giới, trong các khoa xét nghiệm sinh hóa, huyết tương là mẫu bệnh phẩm phổ biến nhất được sử dụng chung cho các máy xét nghiệm sinh hóa và miễn dịch [3]. Cho rằng mẫu huyết thanh được coi là tinh sạch nhất do không bị nhiễu bởi các yếu tố cation (NH_4^+ , Na^+ , K^+ , Li^+), bởi phức hợp kim loại với EDTA, Citrate, ... [4], do đó lựa chọn tốt nhất cho các xét nghiệm miễn dịch là mẫu huyết thanh. Nhưng nó cũng đặt ra hai vấn đề, một là kéo dài thời gian trả kết quả khi mà ống huyết thanh yêu cầu ít nhất 10-15 phút chờ hình thành cục đông hoàn toàn trước khi ly tâm [5] và hai là bệnh nhân có thể phải lấy 2 ống xét nghiệm huyết thanh và huyết tương để thực hiện các xét nghiệm hóa sinh.

Theo yêu cầu của Hiệp hội các nhà Bệnh học của Hoa Kỳ (College of American Pathologists-CAP) [6], đối với một xét nghiệm mà bị thay đổi so với hướng dẫn sử

dụng đã được phê duyệt/ thông qua của FDA (approved/cleared FDA), phòng xét nghiệm phải xác nhận lại hoặc thiết lập được độ chính xác, độ chụm, khoảng phân tích của xét nghiệm đó. Vì vậy, một xét nghiệm nếu muốn thay thế loại mẫu được khuyến cáo của nhà sản xuất thì phải được đánh giá lại độ đúng, độ chụm và khoảng phân tích đối với loại mẫu mới.

Trong nghiên cứu này, mục tiêu của chúng tôi là đánh giá khả năng thay thế của loại bệnh phẩm huyết tương chống đông bằng Lithium heparin với loại bệnh phẩm huyết thanh với các xét nghiệm AFP, CEA, hybritech PSA và Free PSA trên máy xét nghiệm trên máy Beckman Coulter DxI 800.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thu thập mẫu

Với mẫu xét nghiệm của bệnh nhân, sau khi thực hiện các xét nghiệm thường quy được chỉ định bởi bác sĩ lâm sàng, chúng tôi tiến hành lựa chọn các mẫu huyết thanh có các nồng độ bao phủ dải tuyến tính, đồng thời tìm ống huyết tương chống đông bằng Heparin của bệnh nhân này để chạy đối chiếu với ống huyết thanh tương ứng. Như khuyến cáo bởi Viện tiêu chuẩn xét nghiệm Lâm sàng (Clinical Laboratory Standards Institutes – CLSI EP 09A3) [7], bằng quy trình trên chúng tôi lựa chọn ra được lần lượt 30, 34, 34 và 34 cặp mẫu (huyết thanh và huyết tương chống đông bằng Heparin) tương ứng với các xét nghiệm AFP, CEA, PSA và free PSA để đánh giá.

Tại khoa Sinh hóa - Miễn dịch, chúng tôi sử dụng 2 loại ống mẫu:

- (1) Ống huyết tương Lithium Heparin V-tube 4 ml
- (2) Ống huyết thanh VACUETTE® TUBE 3.5 ml CAT Serum Separator Clot

Activator

Theo hướng dẫn trong CLSI EP 15A3 [8], đối với mỗi xét nghiệm chọn ra 3 mẫu huyết tương ở ngưỡng quyết định lâm sàng, mỗi mẫu lại được chia ra làm 5 ống nhỏ, bảo quản ở nhiệt độ -20°C .

Theo hướng dẫn trong CLSI EP 06A [9], đối với mỗi xét nghiệm chọn ra 2 mẫu huyết tương, một mẫu có nồng độ ở cận ngưỡng trên của dải tuyến tính, một mẫu có nồng độ ở cận ngưỡng dưới của dải tuyến tính. Từ 2 mẫu trên, trộn lại ra được thêm 3 mẫu có nồng độ ở giữa.

Phương pháp phân tích

Ống huyết thanh được để đông trong 30 phút ở nhiệt độ phòng và sau đó ly tâm ở tốc độ 4500 vòng trong vòng 10 phút sử dụng máy ly tâm lạnh Hettich ROTINA 380R. Ống huyết tương được ly tâm ngay lập tức ở tốc độ 4500 vòng trong 10 phút. Bốn xét nghiệm AFP, CEA, hybritech PSA và Free PSA được thực hiện trên máy Beckman Coulter DxI 800 (Beckman Coulter, USA) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thiết bị DxI800 đang được đặt tại khoa xét nghiệm Sinh hóa - Miễn dịch tại bệnh viện K cơ sở Tân Triều.

Phân tích thống kê

a. Phân tích độ đúng

Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy Passing-Bablok và phân tích tương quan vào việc đánh giá mối liên hệ giữa hai loại mẫu. Trong phân tích hồi quy Passing- Bablok, khoảng tin cậy của hệ số góc và hệ số chặn được tính toán dựa vào kỹ thuật bootstrap được khuyến cáo trong CLSI EP 09A3 [7]. Trong phân tích tương quan, hệ số tương quan Pearson được sử dụng. Tính toán được thực hiện trên phần mềm Medcalc Version 20.015

b. Phân tích độ chụm

Áp dụng phương pháp phân tích ANOVA để phân tích độ lặp lại và tái lập đối với mẫu huyết tương theo hướng dẫn trong CLSI EP 15A3[8].

c. Phân tích khoảng tuyến tính của xét nghiệm

Áp dụng phương pháp phân tích hồi quy tuyến tính như hướng dẫn CLSI EP 06A3 [9].

Nghiên cứu được thực hiện trên lượng mẫu (huyết tương và huyết thanh) còn lại sau khi thực hiện các xét nghiệm thường quy của bệnh nhân, hoàn toàn không ảnh hưởng tới quyền lợi sức khỏe, tinh thần và bảo mật thông tin của bệnh nhân.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Đánh giá độ đúng

Kết quả đánh giá độ đúng được thể hiện qua phân tích tương quan, phân tích hồi quy tuyến tính và phân tích độ chệch (bảng 1). Tất cả xét nghiệm đều được phân tích ở các mức nồng độ từ thấp đến cao, bao phủ tất cả các ngưỡng quyết định lâm sàng. Kết quả đánh giá đều cho thấy độ chệch của tất cả các thông số đánh giá đều nhỏ hơn ngưỡng độ chệch mong đợi và độ chệch lớn nhất là 7.2% từ thông số Free PSA. Mỗi tương quan

giữa kết quả của 2 loại mẫu là vô cùng chặt chẽ, tất cả các xét nghiệm đều có hệ số tương quan lớn hơn 0.99. Phân tích hồi quy tuyến tính, hệ số góc của tất cả các xét nghiệm đều nằm trong khoảng 0.9-1.1, biểu đồ phân tích được thể hiện ở trong hình 1.

Đánh giá độ chụm

Kết quả đánh giá độ chụm sử dụng phân tích ANOVA (bảng 2). Mỗi xét nghiệm được đánh giá ở 3 mức nồng độ gần ngưỡng quyết định lâm sàng. Mỗi mức được chọn đánh giá chạy lặp lại 3 lần một ngày và trong 5 ngày liên tiếp. Các thông số về độ lặp lại của các xét nghiệm và ở các mức nồng độ đều rất tốt và đều nhỏ hơn ngưỡng độ chụm mong đợi. Đồng thời với dữ liệu phân tích độ tái lập nằm trong giới hạn của độ chụm mong đợi cũng cho thấy khi sử dụng ống huyết tương, bảo quản ở nhiệt độ -20°C nồng độ các chất phân tích hầu như không thay đổi.

Đánh giá độ tuyến tính

Kết quả phân tích hồi quy tuyến tính và tương quan của các xét nghiệm được thể hiện qua hình 2. Kết quả cho thấy mức độ tương quan trong đánh giá tuyến tính của các xét nghiệm đều có R lớn hơn 0.99 và hệ số góc nằm trong giới hạn 0.9– 1.1.

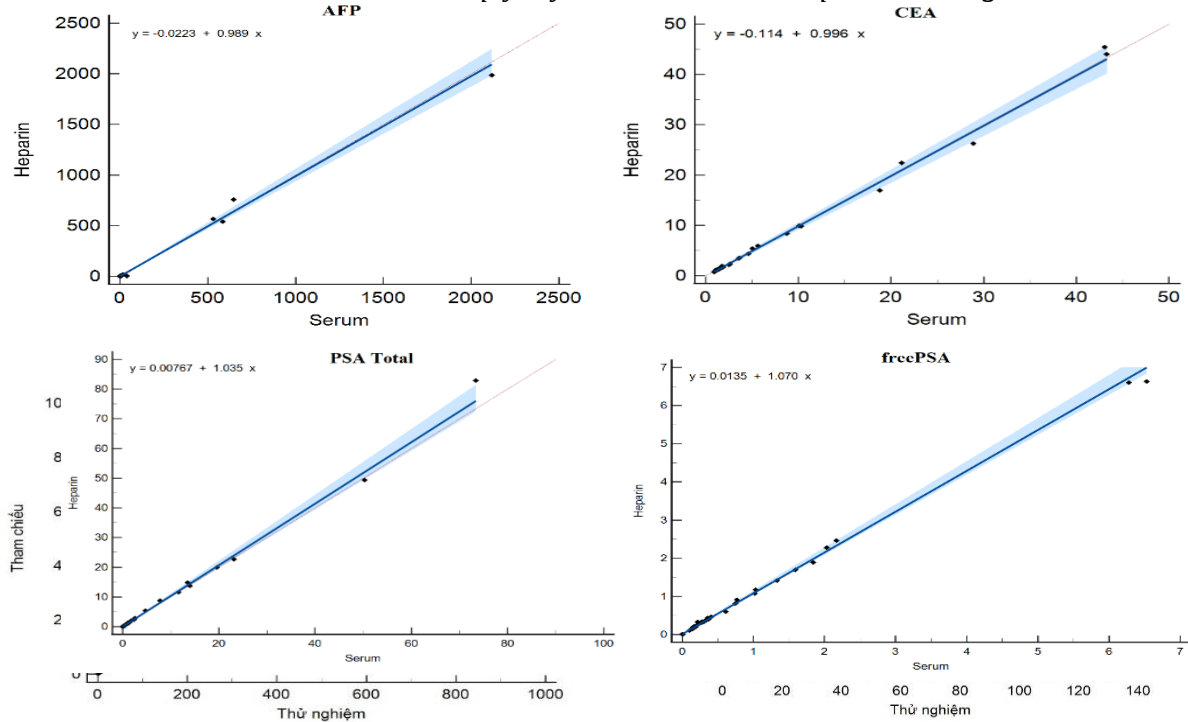
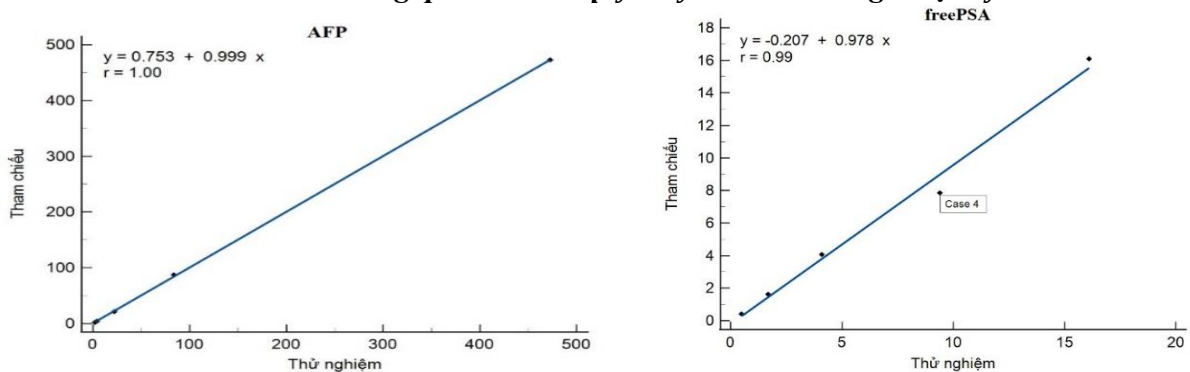
Bảng 1: Bảng tổng hợp dữ liệu phân tích so sánh kết quả ống huyết thanh và huyết tương chống đông Heparin

Xét nghiệm	Dải giá trị đánh giá	Hệ số góc (95% CI)	Hệ số chặn (95% CI)	Hệ số tương quan R	Độ chệch trung bình (%)	Ngưỡng độ chệch mong đợi ^a (%)	Sai số tổng cho phép ^a (%)
AFP (ng/mL)	1.4 - 2117.1	0.989 (0.9375, 1.0613)	-0.0223 (-0.2806, 0.2406)	0.997	3.3	11.8	21.9
CEA (ng/mL)	0.9- 43.3	0.996 (0.9321, 1.0545)	-0.114 (-0.1940, 0.01244)	0.998	4.8	14.3	24.7

Xét nghiệm	Dải giá trị đánh giá	Hệ số góc (95% CI)	Hệ số chặn (95% CI)	Hệ số tương quan R	Độ chệch trung bình (%)	Ngưỡng độ chệch mong đợi ^a (%)	Sai số tổng cho phép ^a (%)
PSA (ng/mL)	0.0 – 73.4	1.035 (0.9879, 1.1089)	0.00767 (-0.01842, 0.03520)	0.998	5.1	18.7	33.6
Free PSA (ng/mL)	0.01 – 6.53	1.070 (1.0467, 1.1290)	0.0135 (0.0009599, 0.02936)	0.999	7.2	18.7	33.6
^a Tiêu chuẩn về ngưỡng độ chệch mong đợi và Sai số tổng cho phép lấy theo tiêu chuẩn biến thiên sinh học							

Bảng 2: Bảng tổng hợp dữ liệu phân tích độ chụm sử dụng mẫu huyết thanh

Xét nghiệm	Mức nồng độ	Độ lặp lại	Độ tái lập	Độ chụm mong đợi ^a (%)	Sai số tổng cho phép ^a (%)
AFP (ng/mL)	12.84	2.73	3.03	6.2	21.9
	86.68	4.73	4.57	6.2	21.9
	378	5.09	6.2	6.2	21.9
CEA (ng/mL)	8.18	5.39	6.01	6.4	24.7
	44.62	3.37	3.37	6.4	24.7
	670.3	4.69	6.35	6.4	24.7
PSA (ng/mL)	1.27	3.12	5.2	9.1	33.6
	14	2.78	5.29	9.1	33.6
	38.65	1.91	2.87	9.1	33.6
Free PSA (ng/mL)	1.35	3.18	5.2	9.1	33.6
	8.39	4.43	4.82	9.1	33.6
	18.44	4.23	4.29	9.1	33.6
^a Tiêu chuẩn về ngưỡng độ chệch mong đợi và Sai số tổng cho phép lấy theo tiêu chuẩn biến thiên sinh học					

Hình 1: Biểu đồ hồi quy tuyến tính so sánh kết quả 2 loại ống**Hình 2: Biểu đồ tương quan và hồi quy tuyến tính đánh giá độ tuyến tính**

IV. BÀN LUẬN

Sự khác biệt giữa kết quả sử dụng ống huyết tương và ống huyết thanh của các xét nghiệm đều nằm trong giới hạn độ ngưỡng độ chệch mong đợi (khác biệt không có ý nghĩa về mặt lâm sàng) lần lượt là 11.8, 14.3, 18.7 và 18.7% tương ứng với các xét nghiệm AFP, CEA, PSA và Free PSA; kết quả này cũng tương đương với kết quả nghiên cứu của Piere-Oliver Hétu và cộng sự [10]. Hệ số

tương quan kết quả giữa hai loại bệnh phẩm rất tốt, đều lớn hơn 0.99 và hệ số góc trong phân tích hồi quy tuyến tính đều nằm trong ngưỡng từ 0.9 đến 1.1 điều này cho thấy hai loại bệnh phẩm này có kết quả hoàn toàn có thể thay thế lẫn nhau mà không ảnh hưởng đến việc chẩn đoán hay theo dõi điều trị cho bệnh nhân.

Kết quả đánh giá độ chụm sử dụng mẫu huyết tương cao hơn nhưng không có ý nghĩa

thống kê so với khảo sát của nhà sản xuất thực hiện bằng mẫu huyết thanh [11]. Tất cả các thông số độ chum đều đạt yêu cầu về ngưỡng độ chum mong đợi là 6.2, 6.4, 9.1 và 9.1% tương ứng với các xét nghiệm AFP, CEA, PSA và Free PSA. Điều này cũng chỉ ra rằng độ ổn định của chất phân tích trong ống huyết tương chống đông bằng Heparin hoàn toàn tương đương với ống huyết thanh.

Việc sử dụng ống huyết tương cũng hoàn toàn không ảnh hưởng đến giới hạn phân tích của xét nghiệm, độ tuyến tính của mẫu huyết tương là tương đương với mẫu huyết thanh. Đánh giá chỉ ra rằng hệ số tương quan thấp nhất là 0.99 và hệ số góc đều nằm trong giới hạn 0.9- 1.1.

V. KẾT LUẬN

Việc sử dụng ống huyết tương chống đông Heparin thay cho ống huyết thanh sự khác biệt kết quả không có ý nghĩa về mặt lâm sàng. Đồng thời sử dụng ống huyết tương chống đông Heparin không gây ảnh hưởng đến sự ổn định của chất phân tích trong mẫu và cũng không bị tác động bởi giới hạn phân tích.

Ống huyết tương chống đông bằng Heparin có thể sử dụng thay thế cho ống huyết thanh đối với các xét nghiệm AFP, CEA, hybritech PSA và Free PSA.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Forsman RW.** Why is the laboratory an afterthought for managed care organizations?. Clin Chem 1996;42:813–6.
2. **McCall SJ, Souers RJ, Blond B, Massie L.** Physician satisfaction with clinical laboratory

services: A College of American Pathologists Q-Probes study of 81 institutions. Arch Pathol Lab Med 2016;140: 1098–103.

3. **Arslan FD, Karakoyun I, Basok BI, Aksit MZ, Baysoy A, Ozturk YK, et al.** The local clinical validation of a new lithium heparin tube with a barrier: BD Vacutainer® Barricor LH Plasma tube.
4. **Banfi G, Bauer K, Brand W, Buchberger M, Deom A, Ehret W, et al.** Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. Geneva: WHO/DIL/LAB/99.1
5. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** CLSI GP44-A4 document: procedures for the handling and processing of blood specimens
6. **All Common Checklist.** CAP Accreditation Program
7. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** CLSI EP09-A3 document: measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples
8. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** CLSI EP15-A3 document: User Verification of Precision & Bias Estimation
9. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** CLSI EP06-A3 document: Evaluation of Linearity of Quantitative Measurement Procedures
10. **Hétu et al.,** “Improved Sample Quality and Decreased Turnaround Time When Using Plasma Blood Collection Tubes with a Mechanical Separator in a Large University Hospital.”
11. Beckman Coulter instruction for use.

ÁP DỤNG THANG SIGMA TRONG ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG XÉT NGHIỆM HÓA SINH TẠI BỆNH VIỆN NHI TRUNG ƯƠNG

Vũ Thị Minh Hiền¹, Nguyễn Anh Mỹ¹,
Nguyễn Thị Lan¹, Trần Thị Trang¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: (1) Đánh giá hiệu năng phân tích của các xét nghiệm hoá sinh lâm sàng bằng thang Sigma. (2) Lựa chọn quy trình nội kiểm hóa sinh phù hợp dựa trên hiệu năng phương pháp.

Phương pháp: Dựa trên dữ liệu nội kiểm, ngoại kiểm trong 6 tháng (1/2020-6/2020), của 26 xét nghiệm hóa sinh thường quy trên hai máy tự động Beckman Coulter AU5800 và AU400, tại phòng Xét nghiệm khoa Khám bệnh Đa khoa, Bệnh viện Nhi Trung ương. Đánh giá độ chụm, độ xác thực, tính giá trị sigma của các xét nghiệm theo công thức $(TEa\% - Bias\%)/CV\%$.

Kết quả: 24/26 xét nghiệm có sigma > 3, số xét nghiệm có sigma ≥ 6 ở hai máy AU5800 và AU400 chiếm 51,9% và 60,9%. Dựa vào hiệu năng phương pháp, lựa chọn quy trình nội kiểm phù hợp với từng xét nghiệm.

Kết luận: Áp dụng thang sigma đánh giá hiệu năng phương pháp, lựa chọn quy trình nội kiểm phù hợp giúp nâng cao chất lượng xét nghiệm và tiết kiệm chi phí thực hiện nội kiểm.

Từ khóa: Thang sigma, sai số toàn bộ cho phép, kiểm tra chất lượng.

SUMMARY

APPLICATION OF SIGMA METRICS IN QUALITY ASSESSMENT OF

¹Khoa Hóa sinh Bệnh viện Nhi Trung ương
Chịu trách nhiệm chính: Vũ Thị Minh Hiền
Email: vuthiminh.hien@yahoo.com

Ngày nhận bài: 25.11.2021

Ngày phản biện khoa học: 27.11.2021

Ngày duyệt bài: 30.11.2021

BIOCHEMICAL TESTS AT NATIONAL CHILDREN'S HOSPITAL

Background: Quality controls are very important and essential for a clinical laboratory for assuring the reliable test results. Six sigma is a quality management strategy that evaluation of the process. Six sigma provides a quantitative frame work for evaluating process performance, with criterion of 3 sigma as the minimum allowable sigma for routine performance, and a sigma of 6 being the goal for world-class quality.

Objectives: (1) To evaluate the analytical process performance of routine tests in our laboratory with six sigma metrics; (2) To choose internal quality control procedures based on analytical process performance.

Method: Internal quality control and external quality control data was analyzed retrospectively over a period of 6 months for 26 analyses on two automated chemistry analyzers Beckman Coulter AU5800 and AU400, in laboratory of Out-Patient department, National Children's Hospital. The precision, accuracy and sigma values were estimated. Process sigma was calculated using the formula "Total allowable Error (TEa) % - Bias%/CV%". TEa values were determined according to CLIA.

Results: Most of analyses (24/26) had sigma value more than 3 for both levels of internal QC. Sigma values more than 6 were 51,9% and 60,9% analyses on AU5800 and AU400. Based on method performance, select the appropriate internal quality control procedure for each assay.

Conclusions: Applying the sigma metrics to evaluate the performance of methods, selecting internal quality control procedures suitable to method performance helps to improve test quality and save costs of performing and reviewing internal quality controls.

Keywords: Six sigma, total allowable error, quality control.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Quản lý chất lượng xét nghiệm vô vùng quan trọng và cần thiết để đảm bảo sự tin cậy của kết quả xét nghiệm. Six sigma là một cuộc cách mạng trong quản lý chất lượng, được áp dụng rộng rãi trong lĩnh vực thương mại và công nghiệp của thiên niên kỷ mới [3]. Trên thế giới, thang sigma (Sigma quality metrics) được áp dụng vào đánh giá hiệu năng phương pháp các xét nghiệm hoá sinh từ những năm 2000, bằng cách sử dụng các thông tin về độ chính xác (CV) và độ xác thực hay độ lệch (Bias) mà phòng xét nghiệm có được trong bước ban đầu thẩm định phương pháp xét nghiệm, tiếp theo là trên các dữ liệu nội, ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm [6]. Mục tiêu đề ra là đạt được 6 Sigma và 3 Sigma là mức tối thiểu chấp nhận được [7]. Thang Sigma là một chỉ điểm về hiệu năng phương pháp xét nghiệm, cho phép phòng xét nghiệm thực hiện nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm theo một cách thức mềm dẻo tùy theo hiệu năng phương pháp [4],[8]. Ở Việt Nam, việc áp dụng thang Sigma trong quản lý chất lượng xét nghiệm chưa được nhiều phòng xét nghiệm thực hiện. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: Đánh giá hiệu năng phân tích (analytical performance) của các xét nghiệm hoá sinh lâm sàng bằng thang Sigma, và lựa chọn quy trình nội kiểm

phù hợp với từng xét nghiệm dựa trên hiệu năng đánh giá theo thang Sigma.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Vật liệu nghiên cứu: Mẫu chứng đông khô thương mại mức bình thường (L2), mức bệnh lý (L3) của Randox (Anh). Vật liệu ngoại kiểm hóa sinh thường quy của Randox (Anh). Chất chuẩn, thuốc thử của hãng Beckman Coulter(Mỹ) và Dialab(Áo) (p-amylase). Máy xét nghiệm hóa sinh Beckman Coulter AU5800 và AU400 (Nhật).

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng Xét nghiệm.

Mẫu nghiên cứu: Dữ liệu nội kiểm, ngoại kiểm từ tháng 1/2020 đến 6/2020 của 26 xét nghiệm hóa sinh thường quy: Albumin, ALP, ALT, P-Amylase, Amylase, AST, Bilirubin trực tiếp, Bilirubin toàn phần, Canxi, Clo, Cholesterol toàn phần, CK, Creatinin, GGT, Glucose, Sắt, Lactate, LDH, Lipase, Magie, phosphat vô cơ, Kali, Protein toàn phần, Natri, Triglycerid, Urê.

Các biến số và chỉ số trong nghiên cứu:

- Độ chụm (SD, CV) của các xét nghiệm tính từ dữ liệu nội kiểm (xét nghiệm CK, Phosphat vô cơ, Lactat chỉ chạy trên AU5800 vì số lượng mẫu nhỏ).

$$CV(\%) = (SD \times 100) / TB_{pxn}$$

- Độ lệch (Bias) của các xét nghiệm tính từ kết quả ngoại kiểm trong 6 tháng. Bias(%) = $(TB \text{ phòng xn cùng thiết bị và phương pháp} - TB_{pxn}) / TB \text{ phòng xét nghiệm cùng thiết bị và phương pháp} \times 100$.

- Tính giá trị Sigma cho các phương pháp xét nghiệm dựa trên Sai số toàn bộ cho phép TEa(%), CV(%) và Bias(%): Sigma = $(TEa - Bias) / CV$.

TEa xác định theo nguồn CLIA, trừ xét nghiệm P-Amylase, Bilirubin trực tiếp,

GGT, Lactat, Lipase theo nguồn Biến thiên sinh học của Ricos vì nguồn CLIA không có TEa của những xét nghiệm này.

- Căn cứ vào quy tắc Westgard-Sigma, lựa chọn quy trình nội kiểm phù hợp với từng

xét nghiệm dựa trên hiệu năng đánh giá theo thang Sigma [8].

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 mẫu bệnh phẩm.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đánh giá hiệu năng phân tích của các xét nghiệm hoá sinh lâm sàng bằng thang Sigma.

Bảng 1. Giá trị sigma của các xét nghiệm trên máy AU5800, AU400

Xét nghiệm	TEa (%)	Bias (%)	AU5800				AU400			
			CV(%)		Sigma		CV(%)		Sigma	
			L2	L3	L2	L3	L2	L3	L2	L3
ALB (g/l)	10	1,86	1,7	1,9	4,8	4,2	1,5	1,5	5,9	5,6
ALP (U/L)	30	7,54	4,0	4,0	5,6	5,6	2,5	2,5	8,9	8,9
ALT (U/L)	20	3,07	3,3	2,5	5,2	6,9	3,3	1,8	5,4	9,6
P-AMY (U/L)	17,7	2,76	1,6	1,8	9,4	8,1	1,5	1,3	9,4	10,9
AMY (U/L)	30	2,3	3,0	2,0	9,2	13,9	2,4	1,8	12,0	16,2
AST (U/L)	20	3,92	3,3	2,0	4,9	8,0	2,0	1,6	9,0	11,2
D-BIL (µmol/L)	44,5	4,14	3,1	4,2	12,9	9,7	3,0	5,6	13,0	7,1
T-BIL (µmol/L)	20	2,65	2,1	2,1	8,4	8,2	2,0	1,8	8,7	10,1
Ca (mmol/L)	11,7/8,1	1,79	1,4	1,3	7,0	5,0	1,4	1,6	6,7	3,8
Cl (mmol/L)	5	0,60	0,9	1,0	4,7	4,6	1,0	1,0	4,2	4,1
TC (mmol/L)	10	1,64	2,1	1,5	4,0	5,6	1,6	1,4	4,8	5,7
CK (U/L)	30	3,17	2,1	1,6	12,9	16,7				
Cre (µmol/L)	15	2,57	3,3	1,7	3,7	7,4	2,3	1,4	5,4	8,7
GGT (U/L)	22,11	4,90	2,3	2,0	7,4	8,5	1,2	1,0	15,0	17,8
Glu (mmol/L)	10	1,74	1,6	1,5	5,2	5,4	1,6	1,8	5,3	4,8
Fe (µmol/L)	20	1,37	2,6	1,8	7,1	10,2	2,4	1,5	7,2	11,5
LACT (mmol/L)	30,4	1,35	2,6	2,3	11,0	12,8				
LDH (U/l)	20	2,50	3,1	3,2	5,7	5,5	2,4	2,3	7,4	7,9
Lipase (U/L)	37,9	5,18	5,0	3,8	6,5	8,6	3,9	2,9	8,6	11,3
Mg (mmol/L)	25	0,58	2,2	2,4	11,0	10,3	1,9	2,3	12,2	9,8

Xét nghiệm	TEa (%)	Bias (%)	AU5800				AU400			
			CV(%)		Sigma		CV(%)		Sigma	
			L2	L3	L2	L3	L2	L3	L2	L3
IP (mmol/L)	10.1	1,52	2,1	1,8	4,1	4,8				
K (mmol/L)	12,5/8,2	0,64	1,0	1,6	11,9	4,6	1,0	1,6	11,5	4,4
TP (g/L)	10	1,41	2,4	2,4	3,5	3,5	2,3	2,5	3,7	3,4
Na (mmol/L)	2,8/2,5	0,48	0,7	0,9	3,4	2,2	0,7	0,8	3,1	2,3
TG (mmol/L)	25	4,51	2,6	2,3	7,9	8,8	1,8	1,7	13,4	14,0
Ure (mmol/L)	9.0	3,31	3,0	2,8	1,9	2,0	2,3	2,1	3,1	3,4

TEa (%) lấy từ trang web <http://westgard.com/clia.htm> trừ TEa của P-amy, Bilirubin trực tiếp, GGT, Lactat, lipase lấy từ trang web <http://westgard.com/biodatabase.htm>.

Theo mức sigma, hiệu năng phương pháp được chia thành 6 mức: Đẳng cấp thế giới ($\sigma \geq 6$), tuyệt vời ($6 > \sigma \geq 5$), tốt ($5 > \sigma \geq 4$), chấp nhận được ($4 > \sigma \geq 3$), kém ($3 > \sigma \geq 2$), không thể chấp nhận được ($\sigma < 2$).

Máy AU5800: Xét nghiệm đạt $\sigma \geq 6$: 27/52 (51,9%) gồm P-amylase, Amylase, Bilirubin toàn phần, Bilirubin trực tiếp, CK, GGT, Sắt, lipase, lactate, Mg, Triglycerid; Canxi, Kali (L2) và ALT, AST, Creatinin (L3). Xét nghiệm đạt $6 > \sigma \geq 5$: 8/52 (15,4%) gồm ALP, Glucose, LDH; ALT (L2) và Canxi, Cholesterol toàn phần (L3). Xét nghiệm đạt $5 > \sigma \geq 4$: 10/52 (19,2%) gồm Albumin, Cl^- , phosphate vô cơ; AST, Cholesterol toàn phần (L2) và K^+ (L3). Xét nghiệm đạt $4 > \sigma \geq 3$: 4/52 (7,7%) gồm Protein toàn phần; Creatinin, Na^+ (L2). Xét nghiệm Urê và Na^+ (L3) có $\sigma > 2$, ở mức kém, chiếm 5,8%.

Máy AU 400: 28/46 (60,9%) xét nghiệm đạt $\sigma \geq 6$: ALP, P- Amylase, Amylase, AST, Bilirubin toàn phần. Bilirubin trực tiếp, GGT, Sắt, LDH, Lipase, Mg, Triglycerid;

Canxi, Kali (L2); ALT, Creatinine (L3). 6/46 (13,4%) xét nghiệm đạt $6 > \sigma \geq 5$: Albumin, Creatinine, Glucose (L2) và Cholesterol toàn phần (L3). 5/46 (10,9%) xét nghiệm đạt $5 > \sigma \geq 4$: Cl^- ; Cholesterol toàn phần (L2); và Glucose và Kali (L3). 6/46 (13,4%) xét nghiệm đạt $4 > \sigma \geq 3$: Protein toàn phần, urê; Na^+ (L2) và Canxi (L3). Natri có $\sigma < 3$ ở L3 chiếm 2,2%.

2. Lựa chọn quy trình nội kiểm hóa sinh phù hợp dựa trên hiệu năng phương pháp.

Căn cứ vào giá trị sigma thu được, trên cả hai mức nồng độ, áp dụng quy tắc Westgard – Sigma với N: Số lượng mẫu QC trong một lần đo; R: Số lần đo QC, các quy trình nội kiểm các xét nghiệm trên AU5800 và AU 400 được lựa chọn như sau:

- Các xét nghiệm đạt sigma ≥ 6 áp dụng đơn quy tắc 1_{3s} với N=2 và R=1

AU 5800: P-AMY, AMY, D-BIL, T-BIL, CK, GGT, Fe, lactat, lipase, Mg và Triglycerid; AU400: ALP, AST, LDH, P-AMY, AMY, D-BIL, T-BIL, GGT, Fe, lipase, Mg và Triglycerid.

- Xét nghiệm đạt sigma ≥ 5 áp dụng quy tắc $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}$ với N=2 và R=1

AU5800: ALP, ALT, Ca^{2+} , Glu, LDH; Trên AU400: Albumin, ALT và Creatinin.

- Xét nghiệm đạt $\sigma \geq 4$ áp dụng đa quy tắc $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}$ với $N=2$, $R=2$.

AU5800: Kali, Albumin, AST, Clo, Cholesterol toàn phần và phospho; AU400: Kali, Cholesterol toàn phần, Clo và Glucose.

- Các xét nghiệm đạt $\sigma \geq 3$ phải áp dụng đa quy tắc $1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/8_x$ với $N=4$, $R=2$ hoặc $N=2$, $R=4$ và tìm hiểu nguyên nhân gốc rễ để cải thiện phương pháp: Creatinin và Protein toàn phần trên AU5800; Canxi và Protein toàn phần trên AU400.

- Xét nghiệm đạt σ nhỏ hơn 3 trên cả hai máy là Natri, và trên AU5800 là Urê thì cần cải thiện phương pháp vì không có quy tắc nội kiểm nào đảm bảo sự tin cậy của kết quả.

IV. BÀN LUẬN

Để sử dụng hiệu quả thang σ thì cần xác định chính xác độ lệch (Bias), độ chụm (CV) và lựa chọn mục tiêu sai số toàn bộ cho phép (TEa) phù hợp. Nghiên cứu của Koen Hens và cộng sự năm 2014 cho thấy TEa dựa trên biến thiên sinh học có thể xem là tiêu chuẩn nghiêm ngặt nhất, tuy nhiên tính thích đáng của chúng vẫn là vấn đề tranh cãi. 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 [4]. Một số nghiên cứu đánh giá hiệu năng phương pháp dựa trên thang σ sử dụng tiêu chuẩn TEa của CLIA cho thấy phần lớn các xét nghiệm có $\sigma > 3$ và thực tế chứng minh các xét nghiệm này đáp ứng nhu cầu thực hành lâm sàng [2], [5]. Vì vậy, chúng tôi lựa chọn TEa của hầu hết các xét nghiệm theo nguồn CLIA. Kết quả ở bảng 1 cho thấy hầu hết phương pháp đạt $\sigma > 3$ và khá tương đồng giữa hai mức nồng độ trên cùng một

máy và giữa hai máy. Các xét nghiệm P-Amylase, Amylase, Bilirubin trực tiếp, Bilirubin toàn phần, GGT, Sắt, Lipase, Magie và Triglycerid đạt $\sigma > 6$ trên cả hai máy. Xét nghiệm Urê trên AU5800, Natri QC mức 2 trên cả hai máy có $\sigma < 3$, phòng xét nghiệm cần phải tiến hành phân tích nguyên nhân gốc rễ, thực hiện biện pháp cải tiến chất lượng để cải thiện hiệu năng phương pháp. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Bingfei Zhou và Yiwu (2019)[1], áp dụng thang σ trong đánh giá hiệu năng phương pháp xét nghiệm sinh hóa.

Hiện tại, phòng xét nghiệm đang áp dụng đa quy tắc Westgard $1_{2s}/1_{3s}/2_{2s}/R_{4s}/4_{1s}/8_x/10_x/7_t$ với hai mức nội kiểm cho mỗi lần chạy và thực hiện 2 lần chạy nội kiểm một ngày. Lựa chọn quy trình nội kiểm theo kết quả nghiên cứu thu được, 51,9% xét nghiệm trên máy AU5800, và 60,9% xét nghiệm trên máy AU400 có hiệu năng phương pháp tốt với $\sigma \geq 6$, chỉ cần áp dụng đơn quy tắc $1:3s$ với $N=2$. Các xét nghiệm có $\sigma > 5$, chiếm 15,4% xét nghiệm trên AU 5800 và 13,4% xét nghiệm trên AU400, cũng có quy trình nội kiểm đa quy tắc đơn giản hơn với $1:3s/2:2s/R:4s$ với $N=2$. Như vậy, phòng xét nghiệm sẽ tiết kiệm được đáng kể thời gian, nhân lực và chi phí QC, thuốc thử khi thực hiện quy trình nội kiểm. Tuy nhiên, với những xét nghiệm có $\sigma < 4$, phòng xét nghiệm cần thực hiện nội kiểm nhiều lần hơn, còn những xét nghiệm có $\sigma < 3$ thì cần cải thiện phương pháp kịp thời để đảm bảo sự tin cậy của kết quả.

Kết quả đánh giá theo thang σ phản ánh hiệu năng phương pháp xét nghiệm tại giai đoạn đánh giá. Cần đánh giá thường xuyên để có thể thực hiện xem xét kịp thời.

Như vậy, cần bổ sung áp dụng tính sigma định kỳ vào quy trình nội kiểm và hướng dẫn, đào tạo nhân viên thực hiện.

V. KẾT LUẬN

Hiệu năng phương pháp đánh giá theo thang sigma đạt mức chất lượng tốt với hầu hết các xét nghiệm hóa sinh (24/26 xét nghiệm) của phòng xét nghiệm có giá trị sigma lớn hơn 3, số xét nghiệm có sigma ≥ 6 ở hai máy AU5800 và AU400 chiếm 51,9% và 60,9%. Áp dụng thang sigma định kỳ đánh giá hiệu năng phương pháp xét nghiệm giúp kịp thời xem xét và lựa chọn quy trình thống kê nội kiểm phù hợp với từng xét nghiệm, nâng cao chất lượng xét nghiệm, đồng thời giúp tiết kiệm vật liệu nội kiểm, hóa chất và nhân lực thực hiện nội kiểm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bingfei Zhou, Yi WU, Hanlin He và cs (2019)**. Practical application of Six Sigma management in analytical biochemistry processes in clinical settings. *J Clin Lab Anal*: 2019;00:e23126.
[Http://doi.org/10.1002/jcla.23126](http://doi.org/10.1002/jcla.23126).
2. **Dilek Iren Emekli, Nergiz Zorbozan, Zubeyde Erbayrakta (2019)**, Evaluation of Analytical process performance by Six Sigma method. *J Basic Clin Health Sci* 2019; 3;177-183. <http://doi.org/10.30621/jbachs.2019.732>
3. **Harry M, Schroeder R (2000)**. Six sigma: The breakthrough management strategy revolutionizing the world's top corporations. New York: Currency.
4. **Koen Hens, Mario Berth, Dave Armbruster và cộng sự,(2013)**.Sigma metrics used to assess analytical quality of clinical chemistry assays: importance of the allowable total error (TEa) target. *Clin Chem Lab Med* 2014;52(7);973–980.
5. **Sunil Kumar Nanda, Lopamudra Ray, (2013)**. Quantitative application of sigma metrics in medical biochemistry. *Jounal ofclinical and Diagnostics Research*;2013 Dec;Vol -7(12);2689-2691.
6. **Westgard JO, Klee GG (2006)**.Quality management. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, editors. *Tietz textbook of clinical chemistry*,4th ed. Philadelphia: Saunders.
7. **Westgard JO (2006)**. Six sigma quality design & control: Desirable precision and requisite QC for laboratory measurement process. Madison, WI: Westgard QC.
8. **Westgard JO (2018)**, Kiểm soát chất lượng xét nghiệm, Nhà xuất bản khoa học và kỹ thuật.