

(8%) từ R→S và 1 chủng (2%) từ R→I.

IV. KẾT LUẬN

1. Các vi khuẩn APK-CR đều có MIC đề kháng cao với ME và CIP đơn lẻ với tỷ lệ từ 92-100%; có 6% chủng *P. aeruginosa* và 10% chủng *K. pneumoniae* là có MIC kháng COL, chưa ghi nhận trường hợp nào có MIC kháng với COL ở *A. baumannii*.

2. Việc phối hợp ME-COL cho hiệu quả hiệp đồng và cộng hợp cao trên VK *A. baumannii* với tỷ lệ là 58,8% và 41,2%. Còn đối với VK *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* cho hiệu quả hiệp đồng và cộng hợp thấp hơn với tỷ lệ lần lượt là 32% và 60%, 20% và 60%. Phối hợp ME-COL thực hiện trên APK-CR cho kết quả tăng tỷ lệ nhạy cảm và trung gian từ 2-27% so với khi sử dụng kháng sinh đơn lẻ.

3. Việc phối hợp ME-CIP trên VK *K. pneumoniae* cho tỷ lệ hiệp đồng và cộng hợp với tỷ lệ là 42% và 44%. Còn với VK *A. baumannii*, *P. aeruginosa* có tỷ lệ hiệp đồng và cộng hợp với tỷ lệ lần lượt là 33,3% và 45,1%, 30% và 60%. Phối hợp ME-CIP thực hiện trên APK-CR cũng cho kết quả tăng tỷ lệ nhạy cảm và trung gian từ 2-8% so với khi sử dụng kháng sinh đơn lẻ.

V. KIẾN NGHỊ

Hiệu quả phối hợp KS trên các chủng APK-CR có khác nhau theo thời gian, khi có điều kiện, nên cho chỉ định xét nghiệm phối hợp kháng sinh in vitro trước để có quyết định chính xác trong chọn lựa kháng sinh.

Cần có nghiên cứu đánh giá hiệu quả trên lâm sàng của việc phối hợp KS đối với cặp kháng

sinh ME-COL và ME-CIP trong điều trị APK-CR.

Nên tiến hành mở rộng nghiên cứu hiệu quả phối hợp hai cặp kháng sinh ME-COL và ME-CIP trên các loại vi khuẩn khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Ngọc Lâm, Cao Minh Nga, Nguyễn Thị Thiên Kiều (2018), "Sự kháng thuốc của các vi khuẩn gây bệnh thường gặp trong bệnh phẩm đường hô hấp dưới tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP. HCM trong một năm (01/5/2016-30/4/2017)", Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 22 (4), tr. 385-386.
2. Lương Hồng Loan, Huỳnh Minh Tuấn (2020), "Trực khuẩn Gram âm tiết ESBL, AMPC, carbapenemase và phổ đề kháng kháng sinh tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh", Y học Tp Hồ Chí Minh, 24 (2), tr. 223-225.
3. Cao Minh Nga, Lê Thị Anh Phúc Nhi và cộng sự (2014), "Sự đề kháng kháng sinh của vi khuẩn gây bệnh thường gặp tại Bệnh viện Đại học Y Dược 6 tháng đầu năm 2011-2012-2013", Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 18 (1), tr. 307-309.
4. Cao Minh Nga, Nguyễn Thanh Bảo, Vũ Thị Kim Cương (2008), "Nhiễm khuẩn do *Acinetobacter* và tính kháng thuốc", Y học Thành phố Hồ Chí Minh, 12 (1), tr. 188-193.
5. Agency European Medicines (2017), "Antimicrobial resistance", Retrieved from <https://www.ema.europa.eu/en/human-regulatory/overview/public-health-threats/antimicrobial-resistance>
6. Clinical and Laboratory Standards Institute (2020), Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, M100, 30th ed, pp. 33-49, 174-177.
7. Tacconelli E, Magrini N, et al. (2017), "Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics", World Health Organization, 27, pp. 318-327.

BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ FOLAT Ở BỆNH NHÂN SẴY THAI LIÊN TIẾP MANG GEN MTHFR ĐỘT BIẾN

Lê Thị Anh Đào¹, Lưu Thị Anh²

TÓM TẮT

Sảy thai liên tiếp và đột biến gen MTHFR được ghi nhận có liên quan rõ rệt ở chủng tộc da vàng. Điều trị folat có thể làm giảm nồng độ homocystein trong máu cải thiện kết cục thai kỳ. **Mục tiêu:** của nghiên cứu đánh giá kết quả điều trị bằng folate đối với bệnh

nhân mang gen đột biến MTHFR C677T tại bệnh viện Phụ Sản Hà Nội. Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 30 bệnh nhân có tiền sử sảy thai liên tiếp mang gen đột biến MTHFR được điều trị 5 mg Folat/ ngày trong 3 tháng. Kết quả 100% bệnh nhân mang gen MTHFR dạng dị hợp tử CT. Nồng độ trung bình của homocystein trước và sau điều trị lần lượt là 10,3±3,47; 6,8±2,48μmol/l, (p=0,000). **Kết luận:** điều trị folat trong 3 tháng liên tục làm giảm nồng độ homocystein trong máu.

Từ khóa: sảy thai liên tiếp, đột biến MTHFR 677, homocystein

SUMMARY

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện phụ sản Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Lê Thị Anh Đào

Email: leanhdao1610@gmail.com

Ngày nhận bài: 18.6.2021

Ngày phản biện khoa học: 11.10.2021

Ngày duyệt bài: 20.10.2021

INITIAL STEP OF ASSESSING THE RESULT OF FOLATE TREATMENT IN RECURRENT PREGNANCY LOSS PATIENTS CARRYING THE MTHFR MUTATED GENE

Recurrent pregnancy loss (RPL) and gene MTHFR polymorphism have been found to be strongly associated in Asian people. Folate treatment is believed to reduce blood homocysteine levels and improve pregnancy outcomes. **Objective:** the study aims to evaluate the results of folate treatment in patients carrying the MTHFR C677T polymorphism at Hanoi Obstetrics and Gynecology Hospital. A cross-sectional study of 30 patients with a history of RPL and MTHFR mutation was treated with 5 mg folate/day during 3 months. Results 100% of patients carried the CT heterozygous MTHFR gene. The average concentration of homocysteine before and after treatment was 10.3 ± 3.47 ; 6.8 ± 2.48 $\mu\text{mol/l}$ respectively, ($p=0,000$). **Conclusion:** Folate treatment during 3 months reduces homocysteine levels in the blood.

Key words: recurrent pregnancy loss, MTHFR, methyl folat.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sảy thai liên tiếp (STLT) là một bệnh lý thai sản hay gặp ảnh hưởng đến 1-3% thai kỳ. Các nguyên nhân dẫn đến sảy thai liên tiếp liên quan đến các rối loạn đông máu, miễn dịch, nội tiết và bất thường giải phẫu, gen và nhiễm sắc thể. Tỷ lệ sảy thai liên tiếp không rõ nguyên nhân trên thế giới chiếm khoảng 50%^[1], nhưng ở nước ta con số này lên tới khoảng 66%^[2].

Một nguyên nhân gây sảy thai liên tiếp đang được quan tâm tại Việt Nam là các rối loạn về quá trình đông máu liên quan đến đa hình đơn gen MTHFR. Đột biến gen MTHFR gây giảm hoạt động của gen MTHFR, dẫn đến hoạt động của enzyme MTHFR trong máu giảm hoặc mất hoàn toàn, làm giảm quá trình chuyển hóa từ homocysteine thành methionine, dẫn đến hậu quả tăng nồng độ homocysteine trong máu^[4]. Nồng độ homocysteine trong máu cao sẽ kích thích và đẩy nhanh quá trình hình thành các cục máu đông trong lòng mạch, đặc biệt là trong các mạch máu của rau thai, dẫn đến tắc các mạch máu này, làm giảm sự cung cấp oxy và các chất dinh dưỡng cho thai nhi, từ đó dẫn đến sảy thai, tiền sản giật, hoặc là sinh con bị dị tật bẩm sinh. Trong số các đột biến của gen MTHFR gây sảy thai liên tiếp thì đột biến MTHFR tại vị trí 677 (C677T) là thường gặp nhất, được nghiên cứu nhiều nhất trên thế giới và đã được chứng minh có ý nghĩa trong quần thể sảy thai liên tiếp ở người da vàng.

Tại Việt Nam, các nghiên cứu về điều trị thai phụ sảy thai liên tiếp do đột biến gen MTHFR

C677T chưa nhiều. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: Đánh giá kết quả điều trị bằng folate đối với bệnh nhân mang gen đột biến MTHFR C677T tại bệnh viện Phụ Sản Hà Nội.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu. Tuổi ≥ 18 tuổi; tiền sử sảy thai liên tiếp (có ít nhất hai lần sảy thai liên tiếp trở lên)

Mang gen đột biến MTHFR

Không có thai trong thời gian tham gia nghiên cứu

Tiêu chuẩn loại trừ đối tượng

- Bệnh nhân có nguyên nhân khác dẫn tới sảy thai liên tiếp

- Bệnh nhân mắc các bệnh lý mạn tính

2. Phương pháp nghiên cứu. Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện Phụ sản Hà Nội, trong thời gian từ tháng 01/01/2019 đến tháng 31/6/2020

Phương pháp mô tả cắt ngang tiền cứu

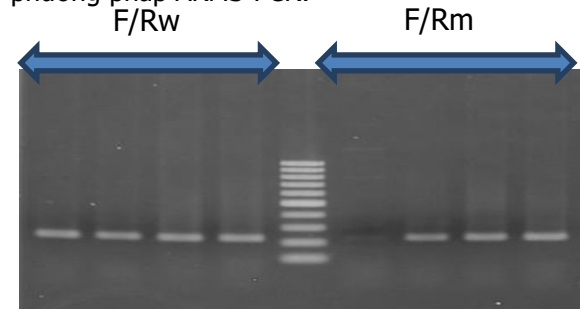
Nghiên cứu được thực hiện với cách chọn cỡ mẫu thuận tiện.

Các bước tiến hành nghiên cứu

- **Bước 1:** Xác định nhóm bệnh nhân có tiền sử sảy thai liên tiếp

Bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội đáp ứng đúng tiêu chuẩn lựa chọn sẽ được hỏi khám bệnh và làm các xét nghiệm xác định nguyên nhân, nếu tìm được nguyên nhân sẽ loại khỏi nghiên cứu.

- **Bước 2:** Xác định kiểu gen tại khoa xét nghiệm Sinh hóa bệnh viện Phụ Sản Hà Nội bằng phương pháp ARMS-PCR:



Hình Đột biến MTHFR C677T (mẫu 1: CC, mẫu 2-4: CT)

Bước 3 Những bệnh nhân STLT có mang gen đột biến MTHFR đủ tiêu chuẩn lựa chọn ở mục tiêu 1 được xét nghiệm nồng độ homocysteine lần một, sau đó điều trị bằng 5mg L-methylfolate/ngày (thuốc dạng viên nang và bệnh nhân không sử dụng bất kỳ loại thuốc hay thực phẩm chức năng khác); điều trị liên tục 12 tuần. Nhóm đối tượng nghiên cứu sẽ được định

lượng homocystein lần 2 ở mốc 12 tuần sau điều trị (quá trình điều trị này tiến hành ngoài thai kỳ). Tiến hành so sánh nồng độ homocystein trước và sau điều trị.

Xử lý số liệu. Kiểm định T test để xác định sự khác nhau khi so sánh tỷ lệ giữa các biến số có từ 2 nhóm trở lên. Sự so sánh có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu. Nghiên cứu được thông qua và nghiệm thu tại hội đồng khoa học trường Đại học Y Hà Nội số 5974/ QĐ- ĐHYHN.

Mọi thông tin của người bệnh đều được giữ

Bảng 1. Nồng độ homocysteine trước và sau điều trị (n=30)

Nồng độ Homocystein	n	Giá trị TB ($\mu\text{mol/L}$)	Min ($\mu\text{mol/L}$)	Max ($\mu\text{mol/L}$)	P (Paired T-Test)
Trước điều trị	30	10,3 \pm 3,47	5,67	23,6	0.000
Sau điều trị	30	6,8 \pm 2,48	0,96	15,02	

Bảng 2. Nồng độ Homocystein trước điều trị và kiểu đột biến gen MTHFR (n=30)

Đột biến gen MTHFR	N	Nồng độ Homocystein trước điều trị			P (T-Test)
		Trung bình ($\mu\text{mol/L}$)	Min ($\mu\text{mol/L}$)	Max ($\mu\text{mol/L}$)	
Đột biến C677T(CT)	15	9,0 \pm 2,36	5,67	13,60	0,044
Đột biến C677T(CT) + A1298C	15	11,5 \pm 3,99	7,89	23,60	
Tổng số	30	10,3\pm3,47	5,67	23,6	

Bảng 3. Sự thay đổi của nồng độ Homocystein sau điều trị và kiểu đột biến gen MTHFR (n=30)

Đột biến gen MTHFR	N	Sự thay đổi nồng độ Homocystein sau điều trị			P (T-Test)
		Trung bình ($\mu\text{mol/L}$)	Min ($\mu\text{mol/L}$)	Max ($\mu\text{mol/L}$)	
Đột biến C677T(CT)	15	3,2 \pm 2,70	0,07	10,34	0,465
Đột biến C677T(CT) + A1298C	15	3,8 \pm 2,12	0,26	8,58	
Tổng số	30	3,5\pm2,41	0,07	10,34	

Bảng 4. Môi tương quan giữa sự thay đổi nồng độ Homocystein sau điều trị và một số yếu tố liên quan (n=30).

Yếu tố	n	R(Spearman's Rho)	P
Tuổi	30	-0,082	0,668
Số lần sảy thai	30	-0,143	0,450
Tuổi thai sảy TB	30	0,021	0,913
BMI	30	-0,056	0,768
PT(%)	30	0,095	0,616
APTT(bệnh/chứng)	30	0,073	0,700
Fibrinogen	30	-0,314	0,091
INR	30	0,124	0,514
Nồng độ Homocystein trước điều trị	30	0,718	0,000

IV. BÀN LUẬN

So sánh nồng độ Hcy trước và sau điều trị, chúng tôi nhận thấy có sự thay đổi rõ rệt, giảm 3,5 \pm 2,41($\mu\text{mol/L}$), từ 10,3 \pm 3,47 ($\mu\text{mol/L}$) xuống 6,8 \pm 2,48 ($\mu\text{mol/L}$), tức hơn 1/3 so với nồng độ

kín và chỉ dùng vào mục đích nghiên cứu khoa học.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Có 30 phụ nữ đủ tiêu chuẩn nghiên cứu, đồng ý tham gia nghiên cứu. Trong đó không có trường hợp nào đồng hợp tử TT, cả 30 bệnh nhân đều có kiểu gen dị hợp tử CT tại vị trí 677.

Tỷ lệ bệnh nhân có có kiểu gen MTHFR đột biến C677T ở dạng dị hợp tử (CT) kết hợp bất thường gen MTHFR A1298C chiếm 50% tổng số bệnh nhân.

ban đầu, sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Trong đó nhóm mang đột biến gen MTHFR C677T đơn thuần giảm 3,2 \pm 2,70 ($\mu\text{mol/L}$), nhóm phối hợp giữa đột biến C677T và A1298C giảm nhiều hơn, 3,8 \pm 2,12 ($\mu\text{mol/L}$), tuy nhiên sự khác biệt là không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương tự kết quả của Serapinas và cs (2017) tiến hành nghiên cứu trên 16 BN có tiền sử sảy thai liên tiếp từ 3 lần trở lên mà đã được xác định nguyên nhân là đột biến gen MTHFR. Những BN này được điều trị bằng methylfolate 5 mg/ngày, vitamin B6 50 mg/ngày và vitamin B12 1 mg/tuần. Kết quả thu được có sự giảm nồng độ Hcy trong máu của những BN này từ 19,4 \pm 5,3 $\mu\text{mol/l}$ trước điều trị xuống còn 6,9 \pm 2,2 $\mu\text{mol/l}$ sau điều trị ($p < 0,05$). Trong vòng 1 năm, 7 phụ nữ trong số này có thai và sinh con sống. 2 phụ nữ sinh con sống thuộc nhóm đột biến C677T (7 BN), 2 phụ nữ thuộc nhóm đột biến C677T/A1298C (5 BN) và 3 phụ

nữ thuộc nhóm đột biến A1298C (4 BN). Việc điều trị bằng methylfolate, vitamin B6 và B12 là có lợi đối với kết cục của thai kỳ ở những phụ nữ sảy thai liên tiếp do đột biến gen MTHFR [3]. Từ đây, có thể đưa ra nhận định rằng việc điều trị bằng folate cho những trường hợp sảy thai liên tiếp do đột biến gen MTHFR đem lại kết cục có lợi hơn cho thai kỳ thông qua việc làm giảm nồng độ Hcy trong máu. Tuy nhiên, cần tiến hành mở rộng nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để khẳng định nhận định này.

Sau khi điều trị folate, nồng độ Hcy giảm rõ rệt, có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, một câu hỏi được đặt ra là có những yếu tố nào ảnh hưởng đến sự giảm nồng độ Hcy này. Trong một bài báo được đăng trên Tạp chí Dinh dưỡng năm 2009, Vijay Ganji và cộng sự tiến hành nghiên cứu các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ Hcy toàn phần trong huyết thanh sau bổ sung acid folic, bao gồm đặc điểm nhân khẩu học, lối sống, tình trạng sức khỏe và nồng độ Vitamin B1 trong huyết thanh. Nghiên cứu được thực hiện trong vòng 5 năm, từ 1999 đến 2004, đánh giá mối liên hệ giữa nồng độ Hcy toàn phần trong huyết tương với giới tính, chủng tộc / dân tộc, tuổi, BMI, huyết áp (BP), creatinine huyết thanh, cotinine huyết thanh và tình trạng folate và cobalamin ở 16.254 người (8329 nam, 7925 nữ). Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong giai đoạn sau bổ sung axit folic, các yếu tố giới tính, chủng tộc / dân tộc, tuổi, huyết áp tâm thu, folate RBC và creatinine, cotinine, folate và cobalamin huyết thanh là yếu tố quyết định đáng kể đến nồng độ Hcy toàn phần huyết tương [4].

Khi phân tích các yếu tố liên quan đến giảm nồng độ Hcy sau điều trị 5mg L-methylfolate/ngày, chúng tôi thu được kết quả như bảng 4. Nghiên cứu của chúng tôi không cho thấy có mối liên hệ giữa sự giảm nồng độ Hcy huyết thanh sau điều trị so với trước điều trị với các yếu tố tuổi, BMI, tiền sử sảy thai, các chỉ số đông máu. Sự khác biệt này có thể là do nghiên cứu của chúng tôi chỉ tập trung vào phụ nữ Việt Nam trong độ tuổi sinh đẻ từ 20 đến 47 tuổi, chỉ số BMI hầu hết nhỏ hơn 25. Đồng thời, cỡ mẫu nghiên cứu nhỏ, thời gian nghiên cứu ngắn hơn rất nhiều so với nghiên cứu của tác giả Vijay Ganji.

Một yếu tố duy nhất liên quan đến sự giảm Hcy sau khi bổ sung folate trong nghiên cứu của chúng tôi là nồng độ Hcy trước điều trị. Kết quả cho thấy, nồng độ Hcy trước điều trị càng cao thì sự giảm nồng độ Hcy sau điều trị càng lớn, và

điều này là có ý nghĩa thống kê với $p < 0.05$. Nghiên cứu của Nelen và cộng sự năm 1998 trên 49 phụ nữ sảy thai liên tiếp được bổ sung 0,5 mg acid folic mỗi ngày trong vòng 2 tháng cũng cho kết quả tương tự. Điều này góp phần giải thích cho kết quả nghiên cứu về sự khác biệt về mức độ giảm nồng độ Hcy trước và sau điều trị giữa 2 nhóm mang gen đột biến MTHFR C677T đơn thuần và nhóm mang gen đột biến MTHFR C677T phối hợp với A1298C, được trình bày ở bảng 3. Như bảng 2 cho thấy, nồng độ Hcy trước điều trị của nhóm mang gen đột biến MTHFR phối hợp cao hơn so với nhóm mang gen đột biến MTHFR 677CT đơn thuần. Do đó, sự giảm của nồng độ Hcy ở nhóm mang gen đột biến MTHFR phối hợp cao hơn ở nhóm mang gen đột biến MTHFR đơn thuần là phù hợp (3.8 so với 3.2 $\mu\text{mol/L}$), mặc dù sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Do cỡ mẫu còn nhỏ, chúng tôi vẫn chưa đưa ra được câu trả lời cho câu hỏi liệu thực sự yếu tố nào có thể ảnh hưởng đến sự giảm nồng độ Hcy sau điều trị bằng folate. Cần thêm các nghiên cứu lớn hơn, cỡ mẫu nhiều hơn, thời gian nghiên cứu dài hơn để làm rõ vấn đề này.

V. KẾT LUẬN

Sảy thai liên tiếp do nguyên nhân đột biến gen MTHFR là một hướng nghiên cứu mới đang được triển khai tại Việt Nam trong vài năm gần đây. Kết quả của nghiên cứu bước đầu tìm thấy việc sử dụng folat liều 5mg/ ngày trong 3 tháng liên tục có thể giảm đáng kể lượng homocysteine trong máu. Cần một nghiên cứu dài hơn và cỡ mẫu lớn hơn để đánh giá chính xác vai trò của folat trong kết cục thai kỳ của các bà mẹ sảy thai liên tiếp có gen MTHFR đột biến.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Hui Chen, Xiaorong Yang, Ming Lu,** Methylene tetrahydrofolate reductase gene polymorphisms and recurrent pregnancy loss in China: a systematic review and meta-analysis. Archives of Gynecology and Obstetrics, 2016. 293(2): p.283-290.
- Lê Thị Anh Đào,** Nghiên cứu hội chứng kháng phospholipid ở thai phụ có tiền sử sảy thai liên tiếp đến 12 tuần. 2016, Đại học Y Hà Nội.
- Serapinas D; Boreikaite E; Bartkeviciute A; et al,** The importance of folate, vitamins B6 and B12 for the lowering of homocysteine concentrations for patients with recurrent.
- Ganji, V. and M.R. Kafai, Demographic, life:** and health characteristics and serum B vitamin status are determinants of plasma total homocysteine concentration in the post-folic acid fortification period, 1999-2004. J Nutr, 2009. 139(2); p.345-52.