

CÁC CON ĐƯỜNG TÍN HIỆU, CÁC THAY ĐỔI PHÂN TỬ VÀ ĐIỀU TRỊ ĐÍCH TRONG UNG THƯ

Nguyễn Nghiêm Luật*

TÓM TẮT

1) Điều trị đích là một kiểu điều trị ung thư sử dụng các thuốc được thiết kế để "nhắm đích" vào các gen và protein cụ thể vốn giúp tế bào ung thư tồn tại và phát triển, cũng có thể tác động đến môi trường mô mà tế bào ung thư phát triển hoặc các tế bào đích liên quan đến sự phát triển ung thư như các tế bào mạch máu, trong khi nó ít độc hơn đối với các tế bào khỏe mạnh so với hóa trị liệu.

2) Các cơ chế tác động của điều trị đích ung thư gồm: khóa hoặc tắt các tín hiệu giúp tế bào ung thư phát triển và phân chia, làm dừng sự sinh mạch máu nuôi tế bào ung thư, mang chất độc đến các tế bào ung thư để giết chúng, kích hoạt hệ thống miễn dịch để giết các tế bào ung thư, kích thích sự chết tế bào ung thư theo chương trình và bỏ đói khối u với các hormon mà khối u cần để phát triển.

3) Các con đường tín hiệu chính trong ung thư gồm: chu kỳ tế bào, Hippo, Myc, Notch, NRF2, PI3K/AKT/mTOR, RTK-Ras/MAPK, TGF β báo hiệu, P53 và β -catenin/Wnt. Các thay đổi phân tử trong gen ung thư gồm: tín hiệu của thụ thể hormon, các thụ thể tyrosine kinase, con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR, con đường Ras/MAPK, kinase phụ thuộc cyclin và sự bất ổn định của hệ gen.

4) Các kiểu điều trị đích bao gồm: các kháng thể đơn dòng, các chất ức chế dẫn truyền tín hiệu, các chất điều biến sự biểu hiện gen, các chất ức chế sự sinh mạch máu và các chất cảm ứng quá trình chết tế bào theo chương trình.

5) Các điều trị đích được sử dụng trong một số ung thư chính, bao gồm: ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC), ung thư dạ dày, ung thư đại trực tràng, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư nội mạc tử cung, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp (AML), bệnh bạch cầu dòng tủy mạn (CML), u lympho không Hodgkin, ung thư da hắc tố, ung thư thận và ung thư biểu mô tế bào gan (HCC).

SUMMARY

SIGNALING PATHWAYS, MOLECULAR CHANGES AND TARGETED THERAPY IN CANCER

1) Targeted therapy is a type of cancer treatment that uses drugs designed to "target" specific genes and proteins that help cancer cells survive and grow, can also affect the tissue environment that cancer cells grow in or target cells related to cancer growth like blood vessel cells, while it is less toxic to healthy cells than chemotherapy.

2) The mechanism of action of targeted therapies include: block or turn off signals that tell cancer cells to grow and divide, stop making new blood vessels to feed the cancer cells, carry toxins to the cancer cells to kill them, trigger the immune system to kill the cancer cells, stimulate apoptosis, and starve cancer of the hormones it needs to grow.

3) Main signaling pathways in cancer include:

*Hội hóa sinh Y học Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nghiêm Luật

Email: luatnn@gmail.com

Ngày nhận bài: 24.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

cell cycle, Hippo, Myc, Notch, NRF2, PI3K/AKT/mTOR, RTK-Ras/MAPK, TGF β signaling, P53 and β -catenin/Wnt. Molecular alterations in cancer genes include: Hormone receptor signaling, Tyrosine kinases receptor, the PI3K/AKT/mTOR signaling pathway, the Ras/MAPK pathway, cyclin-dependent kinases, and genomic instability.

4) Types of targeted therapies include: monoclonal antibodies, signal transduction inhibitors, gene expression modulators, angiogenesis inhibitors, and apoptosis inducers.

5) Targeted therapies are used in some main cancers, include: non-small cell lung cancer (NSLC), gastric cancer, colorectal cancer, breast cancer, ovarian cancer, endometrian cancer, acute myeloid leukemia (AML), chronic myeloid leukemia (CML), non-Hodgkin lymphoma, melanoma skin cancer, kidney cancer and hepatocellular carcinoma (HCC).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo dữ liệu của Globocan 2020, trên toàn Thế giới trong năm 2020, số ca ung thư mắc mới là 19.292.789 ca, trong đó số ca mới mắc ở nam là 100.065.305 ca, ở nữ là 9.227.484 ca và số ca tử vong là 9,958.133 ca. Ở Việt Nam, trong năm 2020, số ca mắc ung thư mới là 182.563 ca mắc mới, trong đó số ca mắc ung thư mới ở nam là 98.916 ca và ở nữ là 83.647 ca. Mặc dù có nhiều tiến bộ trong phòng ngừa, sàng lọc, phẫu thuật, xạ trị, hóa trị, điều trị đích và chăm sóc ung thư, việc chẩn đoán sớm và điều trị khỏi ung thư vẫn còn là thách thức đối với Y học.

Trong bài tổng quan này, định nghĩa điều trị đích, các cơ chế tác động của điều trị đích, các con đường tín hiệu, các thay đổi phân tử, các kiểu điều trị đích và một số điều trị đích chính trong ung thư.

I. ĐỊNH NGHĨA ĐIỀU TRỊ ĐÍCH

Điều trị đích (targeted therapy) là một kiểu điều trị ung thư sử dụng các thuốc được thiết kế để "nhắm đích" vào các gen và protein cụ thể vốn giúp tế bào ung thư tồn tại và phát triển, cũng có thể tác động đến môi trường mô mà tế bào ung thư phát triển hoặc các tế bào đích liên quan đến sự phát triển ung thư như các tế bào mạch máu, trong khi nó ít độc hại hơn đối với các tế bào khỏe mạnh so với hóa trị liệu. Điều trị đích là nền tảng của y học chính xác (precision medicine), còn gọi là y học cá thể hóa (personalized medicine) [1, 4, 8].

Điều trị đích khác với hóa trị liệu (chemotherapy) ở một số điểm sau:

1) Điều trị đích chỉ tác động trên các đích phân tử cụ thể của tế bào ung thư, trong khi hóa trị liệu tác động trên cả tế bào ung thư và tế bào bình thường.

2) Điều trị đích được lựa chọn có chủ ý hoặc được thiết kế để chỉ tác động trên các đích của chúng, trong khi hóa trị liệu tiêu diệt tất cả các loại tế bào.

3) Các điều trị đích thường là các thuốc có tác dụng ức chế sự phát triển của tế bào (ngăn chặn sự tăng sinh của tế bào khối u), trong khi các thuốc hóa trị liệu là các chất gây độc tế bào (nghĩa là chúng tiêu diệt tất cả các loại tế bào).

II. CƠ CHẾ TÁC ĐỘNG CỦA ĐIỀU TRỊ ĐÍCH

Các cơ chế tác động của điều trị đích ung thư có thể bao gồm:

1) Khóa hoặc tắt các tín hiệu giúp tế bào ung thư phát triển và phân chia,

2) Làm ngừng sự sinh mạch máu (angiogenesis) nuôi tế bào ung thư,

3) Mang các chất độc (toxins) đến các tế bào ung thư để giết chúng,

4) Kích hoạt hệ thống miễn dịch để giết các tế bào ung thư,

5) Kích thích sự chết các tế bào ung thư theo chương trình (apoptosis),

6) Bỏ đối khối u với các hormon mà khối u cần để phát triển [1, 4].

III. CÁC CON ĐƯỜNG TÍN HIỆU VÀ CÁC THAY ĐỔI PHÂN TỬ TRONG UNG THƯ

3.1. Các con đường tín hiệu trong ung thư

Kể từ khi phát hiện các gen sinh ung thư (oncogenes) như MYC, RAS, BRAF và KIT, và các gen áp chế khối u (tumor suppressor genes) như TP53, BRCA1 và PTEN, các tổn thương di truyền (genetic lesions) liên quan đến ung thư đã được ghi nhận rộng rãi. Các con đường tín hiệu (signaling pathways) liên quan đến ung thư có thể gồm: 1) Con đường tín hiệu chu kỳ tế bào (cell cycle signaling pathway); 2) Con đường tín hiệu Hippo (Hippo signaling pathway); 3) Con đường tín hiệu Myc (Myc signaling pathway); 4) Tín hiệu Notch (Notch signaling pathway); 5) Con đường tín hiệu đáp ứng stress oxy hóa/Nrf2 (oxidative stress response/Nrf2 signaling pathway); 6) Con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR (PI3K/AKT/mTOR signaling pathway); 7) Con đường tín hiệu thụ thể tyrosine kinase (RTK)/tín hiệu Ras/MAPK (receptor-tyrosine kinase RTK/RAS/MAP-Kinase signaling pathway); 8) Con đường tín hiệu TGF β (TGF β signaling pathway); 9) Con đường tín hiệu P53 (P53 signaling pathway) và 10) Con đường tín hiệu β -catenin/Wnt (β -catenin/WNT signaling pathway) [5]. Trong số các con đường đó, hai con đường tín hiệu chủ yếu thường được kích hoạt hoặc đột biến

trong nhiều ung thư là con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR và Ras/MAPK [8].

3.2. Các thay đổi phân tử trong ung thư

Các thay đổi phân tử (molecular alterations) trong các gen ung thư được sử dụng để hướng dẫn các điều trị đích (targeted therapies) có thể gồm: 1) Các tín hiệu của thụ thể hormon đích; 2) Thụ thể của các tyrosine kinase; 3) Con đường tín hiệu PI3K/AKT/mTOR; 4) Con đường Ras/MAPK; 5) Các kinase phụ thuộc cyclin và 6) Sự không ổn định của bộ gen (genomic instability).

IV. CÁC KIỂU ĐIỀU TRỊ ĐÍCH

Có nhiều loại thuốc điều trị đích khác nhau, được xếp vào các nhóm dựa trên cách hoạt động chúng chúng. Hai nhóm thuốc điều trị đích chủ yếu (targeted therapy drugs) là các kháng thể đơn dòng (monoclonal antibodies), có tận cùng bằng "-mab", nói chung không có khả năng đi vào tế bào, tác động bằng cách làm suy yếu hoặc phá hủy các protein hoặc enzym đích trên bề mặt tế bào ung thư và các chất ức chế phân tử nhỏ (small molecule inhibitors), có tận cùng bằng "-ib", có kích thước đủ nhỏ để đi vào tế bào, tác động bằng cách nhắm đích vào các phân tử đích bên trong tế bào ung thư và ức chế chúng.

Các kiểu điều trị đích (types of targeted therapies) được phân theo loại protein mà chúng nhắm đích [1, 4], bao gồm 5 kiểu cơ bản:

4.1. Các kháng thể đơn dòng

Các kháng thể đơn dòng có bản chất là protein, có tác dụng ngăn chặn một đích cụ thể ở bên ngoài tế bào ung thư, cũng có thể mang các chất độc tế bào đến các tế bào ung thư. Ví dụ: trastuzumab, bevacizumab, ...

4.2. Các chất ức chế dẫn truyền tín hiệu

Các chất ức chế dẫn truyền tín hiệu (signal transduction inhibitors) có tác dụng ngăn chặn các tín hiệu sai mà tế bào ung thư vốn nhận được để phân chia liên tục, quá nhiều và quá nhanh. Ví dụ: trastuzumab sử dụng để điều trị ung thư vú có HER2 dương tính, imatinib sử dụng để điều trị bệnh bạch cầu mạn.

4.3. Các chất điều biến sự thể hiện gen

Các chất điều biến sự biểu hiện gen (gene expression modulators) có tác dụng sửa đổi chức năng của các protein có vai trò kiểm soát sự biểu hiện gen vốn bị mất kiểm soát ở tế bào ung thư bằng cách tắt (hoặc bật) các gen có vấn đề. Ví dụ: 5-azacitidine là thuốc ức chế sự methyl hóa DNA, sử dụng để điều trị hội chứng loạn sản tủy (myelodysplastic syndromes: MDSs).

4.4. Các chất ức chế sự tạo mạch máu

Các chất ức chế sự tạo mạch máu (angiogenesis inhibitors) có tác dụng cắt nguồn cung cấp máu nuôi khối u, ngăn khối u phát triển các mạch máu mới. Ví dụ: bevacizumab, sunitinib, ...

4.5. Các thuốc cảm ứng sự chết tế bào theo chương trình

Quá trình chết tự nhiên của một tế bào bình thường gồm một chuỗi các sự kiện được lập trình sẵn gọi là sự chết tế bào theo chương trình (apoptosis). Các tế bào ung thư thường tìm cách thoát khỏi sự chết theo chương trình. Các thuốc cảm ứng sự chết theo chương trình (apoptosis-inducing drugs) làm các tế bào ung thư chết theo chương trình. Ví dụ: bortezomib, oblimersen và olaparib.

Ngoài 5 loại điều trị đích trên, điều trị miễn dịch (immunotherapy), điều trị hormon (hormone therapies), vaccin ung thư (cancer vaccines) và điều trị gen (gene therapy) đôi khi cũng được xem như điều trị đích vì

chúng cũng ngăn cản sự phát triển của một số tế bào ung thư đặc biệt [4].

V. NHỮNG THAY ĐỔI PHÂN TỬ VÀ ĐIỀU TRỊ ĐÍCH TRONG MỘT SỐ UNG THƯ

Đến nay, FDA đã phê chuẩn nhiều loại thuốc điều trị đích để điều trị hơn 40 loại ung thư khác nhau. Điều trị đích 12 loại ung thư thường gặp gồm:

5.1. Điều trị đích ung thư phổi tế bào không nhỏ

Các điều trị đích ung thư phổi tế bào không nhỏ (non-small cell lung cancer: NSCLC) tiến triển và di căn gồm: 1) Các thuốc ức chế sự sinh mạch máu là bevacizumab và ramucirumab; 2) Các thuốc nhắm đích vào đột biến gen KRAS (G12C) là sotorasib; 3) Các thuốc nhắm đích vào đột biến gài ở exon 20 của gen EGFR là erlotinib, afatinib, gefitinib, osimertinib và dacomitinib; 4) Các thuốc nhắm đích vào sự dung hợp gen (fusion) ALK là crizotinib, ceritinib, alectinib, brigatinib và lorlatinib; 5) Các thuốc nhắm đích vào sự dung hợp gen ROS1 là crizotinib, ceritinib, lorlatinib và entrectinib; 6) Các thuốc nhắm đích vào đột biến gen BRAF (V600E) là dabrafenib; 7) Các thuốc nhắm đích vào sự dung hợp gen RET là selpercatinib và pralsetinib; 8) Các thuốc nhắm đích vào sự xóa exon 14 của gen MET là capmatinib và tepotinib; 9) Các thuốc nhắm đích vào sự dung hợp gen NTRK là larotrectinib và entrectinib [1, 2, 3].

5.2. Điều trị đích ung thư dạ dày

Các điều trị đích ung thư dạ dày (stomach cancer) gồm: 1) Các thuốc nhắm đích vào HER2 là trastuzumab và fam-trastuzumab deruxtecan; 2) Thuốc nhắm đích vào VEGF là ramucirumab; 3) Các chất ức chế TRK là

larotrectinib và entrectinib; 4) Một số thuốc khác nhắm đích vào protein HER2 hoặc nhắm vào các đích khác đang thử nghiệm [1, 6, 7].

5.3. Điều trị đích ung thư đại trực tràng

Các điều trị đích ung thư đại trực tràng (colorectal cancer) gồm: 1) Các thuốc chống yếu tố sinh mạch máu VEGF (vascular endothelial growth factor) gồm bevacizumab, ramucirumab and ziv-aflibercept; 2) Các thuốc nhắm đích vào sự thay đổi thụ thể của yếu tố sinh trưởng biểu mô EGFR (epidermal growth factor receptor) gồm cetuximab và panitumumab; 3) Thuốc nhắm đích vào các đột biến gen BRAF (mã hóa cho protein B-Raf) là encorafenib; 4) Thuốc ức chế kinase là regorafenib [1].

5.4. Điều trị đích ung thư vú

Các thuốc điều trị đích ung thư vú (breast cancer) gồm: 1) Các thuốc điều trị đích các ung thư vú có HER2 (+) tính gồm các kháng thể đơn dòng là trastuzumab và pertuzumab, các chất liên hợp kháng thể - thuốc (antibody-drug conjugates) là ado-trastuzumab emtansine và fam-trastuzumab deruxtecan, các chất ức chế kinase gồm lapatinib, neratinib và tucatinib; 2) Các thuốc điều trị đích các ung thư vú có thụ thể hormone (+) tính (hormone receptor-positive) là các chất ức chế CDK4/6 như palbociclib, ribociclib và abemaciclib; 3) Chất ức chế mTOR là everolimus; 4) Các thuốc điều trị đích các ung thư vú có các đột biến gen BRCA là olaparib và talazoparib; 5) Thuốc điều trị đích các ung thư vú có ba (-) tính (triple-negative) là sacituzumab govitecan [1, 6].

5.5. Điều trị đích ung thư buồng trứng

Các điều trị đích ung thư buồng trứng (ovarian cancer) gồm: 1) Chất ức chế hình thành mạch là bevacizumab; 2) Các chất ức chế enzym poly ADP ribose polymerase (PARP) vốn có vai trò trong phát triển, điều hòa và sửa chữa DNA (DNA repair) tế bào là niraparib, olaparib và rucaparib; 3) Các chất ức chế enzym neurotrophic tyrosine receptor kinase (NTRK) thay đổi do sự dung hợp gen NTRK là entrectinib và larotrectinib [1].

5.6. Điều trị đích ung thư nội mạc tử cung

Các thuốc điều trị đích ung thư nội mạc tử cung (endometrial cancer) gồm: 1) Thuốc ức chế kinase (kinase inhibitor) là lenvatinib, có thể sử dụng một mình hoặc kết hợp với pembrolizumab; 2) Thuốc ức chế sự sinh mạch máu (angiogenesis inhibitors) là bevacizumab; 3) Các thuốc ức chế protein mTOR (mTOR inhibitors) là everolimus và temsirolimus [1].

5.7. Điều trị đích bệnh bạch cầu dòng tủy cấp

Điều trị đích bệnh bạch cầu dòng tủy cấp (acute myeloid leukemia: AML) có thể bao gồm: 1) Các chất ức chế FLT3 (FLT3 inhibitors) là midostaurin, gilteritinib, có tác dụng ức chế gen FLT3 bị đột biến, ngăn chặn sự phát triển của tế bào ung thư; 2) Các chất ức chế enzym isocitrate dehydrogenase (IDH inhibitors) là ivosidenib và enasidenib gây bất hoạt protein IDH bị đột biến, làm dừng sự phát triển của tế bào ung thư; 3) Kháng thể đơn dòng gemtuzumab ozogamicin gắn vào protein CD33, một protein có ở phần lớn các tế bào ung thư máu dòng tủy cấp, có tác dụng ức chế sự phân chia của tế bào ung thư; 4) Chất ức chế protein BCL-2 (BCL-2

inhibitor) là venetoclax có tác dụng ức chế protein BCL-2, làm giảm thời gian sống của tế bào ung thư [1].

5.8. Điều trị đích bệnh bạch cầu dòng tủy mạn

Các tế bào bệnh bạch cầu dòng tủy mạn (chronic myeloid leukemia: CML) chứa một gen bất thường là BCR-ABL, gen này làm cho các tế bào ung thư máu dòng tủy mạn phát triển và sinh sôi mất kiểm soát. Protein BCR-ABL thuộc loại tyrosine kinase. Các chất ức chế tyrosine kinase (tyrosine kinase inhibitors: TKIs) nhắm đích vào protein BCR-ABL, là các thuốc điều trị đích tiêu chuẩn đối với bệnh bạch cầu dòng tủy mạn, gồm: 1) Imatinib; 2) Dasatinib; 3) Nilotinib; 4) Bosutinib; 5) Ponatinib và 6) Asciminib [1].

5.9. Điều trị đích ung thư hạch không Hodgkin

Các thuốc điều trị đích ung thư hạch không Hodgkin (Non-Hodgkin lymphoma) bao gồm: 1) Chất ức chế proteasome (proteasome inhibitor) là bortezomib; 2) Chất ức chế histone deacetylase (HDAC inhibitor) là belinostat; 3) Các chất ức chế Bruton's tyrosine kinase (BTK inhibitors) là ibrutinib và acalabrutinib; 4) Các chất ức chế gen PI3K (PI3K inhibitors) là copanlisib và duvelisib; 5) Chất ức chế gen EZH2 (EZH2 inhibitor) là tazemetostat, và 6) Chất ức chế sự xuất nhân (nuclear export inhibitor) là selinexor [1].

5.10. Điều trị đích ung thư da hắc tố

Các thuốc điều trị đích ung thư da hắc tố (melanoma) bao gồm: 1) Các thuốc nhắm đích vào các tế bào có các thay đổi ở gen BRAF (BRAF gene changes) là các thuốc ức chế BRAF như vemurafenib, dabrafenib và

encorafenib, và các thuốc ức chế MEK (MEK inhibitors) như trametinib, cobimetinib và binimetinib, là các thuốc nhắm đích vào các protein BRAF hoặc MEK, có tác dụng thu nhỏ hoặc làm chậm sự phát triển của khối u; 2) Các thuốc nhắm đích vào các tế bào có sự thay đổi của gen C-KIT (C-KIT gene changes) là imatinib và nilotinib, ức chế sự phát triển của tế bào ung thư [1].

5.11. Điều trị đích ung thư thận

Các thuốc điều trị đích ung thư thận (kidney cancer) bao gồm: 1) Các thuốc nhắm đích vào sự sinh mạch máu khối u (angiogenesis) là sunitinib, sorafenib, pazopanib, cabozantinib, lenvatinib, axitinib, tivozanib, belzutifan và bevacizumab; 2) Các thuốc nhắm đích vào protein mTOR là temsirolimus và everolimus [1].

5.12. Điều trị đích ung thư biểu mô tế bào gan

Các thuốc điều trị đích ung thư biểu mô tế bào gan (HCC) có thể gồm: 1) Các thuốc ức chế kinase (kinase inhibitors) là sorafenib, lenvatinib, regorafenib và cabozantinib, có tác dụng ức chế một số kinase, làm tế bào ung thư ngừng phát triển và sinh mạch máu; 2) Các kháng thể đơn dòng (monoclonal antibodies) là bevacizumab và ramucirumab, nhắm đích vào thụ thể của yếu tố phát triển nội mạc mạch máu (vascular endothelial growth factor receptor: VEGFR), ngăn chặn sự sinh mạch máu; 3) Sự kết hợp thuốc điều trị đích với các chất ức chế điểm kiểm tra miễn dịch (immune checkpoint inhibitors: ICIs) là các chất nhắm đích vào protein PD-1 (programmed death 1) như pembrolizumab và nivolumab hoặc nhắm đích vào kháng

nguyên CTLA-4 lymphocyte T độc của người (human cytotoxic T-lymphocyte antigen 4) như ipilimumab, làm khả năng miễn dịch chống khối u mạnh hơn so với việc sử dụng thuốc điều trị đích một mình [1].

Tóm lại, điều trị đích là một kiểu điều trị ung thư sử dụng các thuốc được thiết kế để "nhắm đích" vào các gen và protein cụ thể vốn giúp tế bào ung thư tồn tại và phát triển, cũng có thể tác động đến môi trường mô hoặc đến các tế bào mạch máu, ít độc hơn đối với các tế bào khỏe mạnh. Cơ chế tác động của điều trị đích gồm: khóa hoặc tắt các tín hiệu giúp tế bào ung thư phát triển và phân chia, làm dừng sự sinh mạch máu nuôi tế bào ung thư, mang chất độc đến giết tế bào ung thư, kích hoạt hệ thống miễn dịch để giết tế bào ung thư, kích thích sự chết tế bào theo chương trình và bỏ đói khối u với các hormon mà khối u cần để phát triển. Các con đường tín hiệu chính trong ung thư có thể gồm chu kỳ tế bào, Hippo, Myc, Notch, NRF2, PI3K/AKT/mTOR, RTK-Ras/MAPK, TGF β , P53 và β -catenin/Wnt. Các thay đổi phân tử trong ung thư có thể gồm: tín hiệu thụ thể hormon, thụ thể tyrosine kinase, con đường PI3K/AKT/mTOR, Ras/MAPK, kinase phụ thuộc cyclin và sự bất ổn định của hệ gen. Các kiểu điều trị đích gồm: các kháng thể đơn dòng, các chất ức chế dẫn truyền tín hiệu, các chất điều biến sự biểu hiện gen, các chất ức chế sự sinh mạch máu và các chất cảm ứng quá trình chết tế bào theo chương trình. Các điều trị đích trong một số ung thư chính gồm: ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư dạ dày, ung thư đại

trực tràng, ung thư vú, ung thư buồng trứng, ung thư nội mạc tử cung, bệnh bạch cầu dòng tủy cấp, bệnh bạch cầu dòng tủy mạn, u lympho không Hodgkin, ung thư da hắc tố, ung thư thận và ung thư biểu mô tế bào gan.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **American Cancer Society (ACS).** Targeted Therapy 2022.
2. **Chang YS, Tu SJ, Chen YC, et al.** Mutation profile of non-small cell lung cancer revealed by next generation sequencing. *Respir Res* 2021; **22**(1): 3.
3. **König D, Prince SS and Rothschild SI.** Targeted Therapy in Advanced and Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. An Update on Treatment of the Most Important Actionable Oncogenic Driver Alterations. *Cancers* 2021, **13**(4): 804.
4. **National Cancer Institute (NCI).** Targeted Cancer Therapies Fact Sheet. Updated: April 20, 2021.
5. **Sanchez-Vega F, Mina M, Armenia J, et al.** Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell* 2018 Apr 5; **173**(2): 321-337.
6. **Seebacher NA, Stacy AE, et al.** Clinical development of targeted and immune based anti-cancer therapies. *J Exp Clin Cancer Res* 2019 Apr 11; **38**(1): 156.
7. **Wadhwa R, Song S, Lee JS, et al.** Gastric Cancer: Molecular and Clinical Dimensions. *Nat Rev Clin Oncol* 2013 Nov; **10**(11): 643-655.
8. **Yip HYK and Papa A.** Signaling Pathways in Cancer: Therapeutic Targets, Combinatorial Treatments, and New Developments. *Cells* 2021; **10**(3): 659.

NGHIÊN CỨU TẠO PHỨC HỢP CỦA ARTEMISININ-2-HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN ĐỂ HỖ TRỢ ĐIỀU TRỊ UNG THƯ

Lê Quang Huấn¹, Hà Thị Thanh Hương^{2,3}, Vũ Dương Thanh²,
Phạm Thị Quỳnh Trang², Đái duy Ban¹

TÓM TẮT

Thuốc trị sốt rét Artemisinin (Art) và các dẫn xuất của nó đã được khám phá như là chất chống ung thư tiềm năng. Các hợp chất Art có thể khiến tế bào ung thư nhạy cảm với quá trình ferroptosis, một dạng chết tế bào theo chương trình mới do quá trình peroxy hóa lipid phụ thuộc vào sắt. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã xây dựng quy trình tách chiết kết hợp với việc tạo phức hệ với 2-hydroxypropyl- β -Cyclodextrin (HPbCD) để thu chế phẩm Art-HPbCD trực tiếp từ cây Thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua* L.). Phức hệ Art-HPbCD thu được có kích thước 162 nm chứa 36,496 $\mu\text{g/mL}$ Art. Phức hệ Art-HPbCD được xác định IC₅₀ là 3,0 $\mu\text{g/mL}$ khi thử nghiệm trên tế bào ung thư vú MCF7 và 2,4 $\mu\text{g/mL}$ khi thử nghiệm trên tế bào ung thư gan HTCC116. Thử nghiệm độc tính trên chuột đã xác định LD₅₀ là 4,2 g/kg theo đường uống và theo đường tiêm là 3,2 g/kg. Phức hệ với liều 20 mg/mL sử dụng liên tục 28 ngày không gây tổn thương gan, thận, phổi của động vật thí nghiệm và Khối u nhân tạo trên chuột tiêu biến hoàn toàn sau 25 ngày với 5 liều điều trị (một liều 20 mg/mL).

¹*Viện Công nghệ sinh học, VAST;*

²*AQP-Phenikaa;*

³*Viện hóa học các hợp chất thiên nhiên, VAST;*

Chịu trách nhiệm chính: Lê Quang Huấn

Email: huanlequang@gmail.com

Ngày nhận bài: 31.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 13.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

SUMMARY

RESEARCH FOR CREATION OF ARTEMISININ-2-HYDROXYPROPYL- β -CYCLODEXTRIN COMPLEX TO SUPPORT CANCER TREATMENT

The antimalarial drug Artemisinin (Art) and its derivatives have been explored as potential anticancer agents. Art compounds can sensitize cancer cells to ferroptosis, a new form of programmed cell death caused by iron-dependent lipid peroxidation.

In this study, we developed an extraction procedure using a 10% solution of 2-hydroxypropyl- β -Cyclodextrin to obtain the Art-HPbCD complex directly from *Artemisia annua* L. The obtained Art-HPbCD complex having size 162 nm contains 36.496 $\mu\text{g/mL}$ Art. The Art-HPbCD complex have an IC₅₀ of 3.0 $\mu\text{g/mL}$ when test on MCF7 breast cancer cells and 2.4 $\mu\text{g/mL}$ when test on HTCC116 liver cancer cells. Toxicity testing in rats determined an LD₅₀ of 4.2 g/kg orally and an injection of 3.2 g/kg. Using the Art-HPbCD complex at a dose of 20 mg/mL continuously for 28 days there was no damage to the liver, kidneys, lungs of experiment animals and the artificial tumor was completely destroyed after 25 days with 5 doses (one dose is 20 mg/mL).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo ước tính của tổ chức Y tế thế giới (WHO) đến năm 2032 có khoảng 22 triệu trường hợp ung thư mới và 13 triệu người chết mỗi năm. Trong số 172 quốc gia và

vùng lãnh thổ được khảo sát (WHO công bố tháng 5/2014), Việt Nam đứng ở vị trí 78, cụ thể, tỷ lệ chết vì ung thư ở Việt Nam là 110 ca/100.000 người. Mỗi năm Việt Nam có khoảng 200.000 ca ung thư mới, trong đó có 75.000 ca tử vong.

Ferroptosis là một dạng chết tế bào phụ thuộc vào sắt mới được phát hiện, khác với các dạng chết khác. Ferroptosis đóng một vai trò quan trọng trong việc ức chế khối u, một cơ hội mới cho liệu pháp điều trị ung thư [Li et al., 2020].

Art được Tu Youyou phát hiện tác dụng điều trị sốt rét [Kannan et al., 2005]. Sau đó, Art đã được chứng minh có tác dụng chống viêm, trị tiểu đường, gây hoại tử và apoptosis ở nhiều tế bào ung thư [Zhou et al., 2012]. Art hoạt động theo cơ chế: Làm ngưng chu kỳ tế bào, ức chế hình thành mạch, ức chế sự di căn và gây ferroptosis [Wang et al., 2015, Hu et al., 2022]. Art không tan trong nước nên khả dụng sinh học thấp, nhiều nghiên cứu tăng hiệu quả điều trị của Art như tạo liposome, hệ dẫn nano. Để tăng hiệu quả điều trị của Art, Zhu và cs, (2022) đã tạo phức hệ Art-HPbCD và bọc chúng bởi tinh bột xốp. Tuy nhiên, quy trình khá phức tạp. Trong nghiên cứu của chúng tôi phức hệ Art-HPbCD được tạo trực tiếp từ nguyên liệu trong quá trình tách chiết. Phức hệ thu được là nguyên liệu chính để tạo chế phẩm an toàn và có khả năng tiêu biến khối u trên động vật thí nghiệm.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nguyên liệu

Artemisinin (Art) và 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HPbCD) được mua của Hãng Sigma-Aldrich; Chuột nhắt trắng chủng Swiss 5 tuần tuổi nặng 20-24g, trưởng thành và khỏe mạnh được cung cấp từ Viện Vệ

sinh dịch tễ Trung ương. Chuột được nuôi ở điều kiện bình thường (12 giờ sáng, 12 giờ tối, nhiệt độ nuôi duy trì ở 25-30 oC) trong 7 ngày để thích nghi với môi trường thí nghiệm; Hóa chất gây khối u: methylcholanthrene; dầu Oliu; và các dung môi hóa chất cần thiết khác có độ tinh sạch cần thiết đáp ứng yêu cầu của phòng thí nghiệm.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Tách chiết Art sử dụng HPbCD

Cân 2g bột cây thanh hao hoa vàng khô để hoà trong dung dịch 10% HPbCD. Hỗ hợp được khuấy đều 20 phút ở 40 oC, sau đó siêu âm trong 30 phút với cường độ 20 kHz, 300 W, nhiệt độ 40-50 oC. Lọc qua vải và màng lọc 0,45 μ m để thu dịch. Loại dung môi bằng máy cô quay chân không ở 60 oC (hoặc đông khô ở -50 oC) để thu mẫu nguyên liệu. Phân tích kích thước và hàm lượng Art trong mẫu. Mẫu đối chứng sử dụng H₂O thay cho dung dịch 10% HPbCD.

2.2.2. Xác định hàm lượng Artemisinin và kích thước sản phẩm

Hàm lượng Art trong mẫu được xác định bằng phương pháp HPLC (theo quy trình của Mwangi et al., 2020). Xác định kích thước phức hệ theo phương pháp của Peerzade et al., (2020).

2.2.3. Xác định độc tính cấp của chế phẩm Art/HPbCD

Khảo sát độc tính cấp của Art/HPbCD theo phương pháp Litchfield–Wilcoxon 40 chuột nhắt đối 12h qua đêm được chia ngẫu nhiên thành 4 lô (N=10), mỗi lô chuột được cho uống 3 lần trong vòng 24 giờ, mỗi lần cách nhau 3 giờ của dung dịch Art/HPbCD khác nhau với bước nhảy liều là 25%. Theo

dõi số chuột chết, sống trong vòng 72 giờ sau thử nghiệm và quan sát các dấu hiệu sau trong vòng 7 ngày về: Hành vi, cân nặng cơ thể, hệ tiêu hóa, hệ bài tiết, hệ hô hấp và chuột sẽ được mổ để quan sát đại thể những động vật bị chết trong thời gian theo dõi. Xác định liều LD50, liều an toàn và liều dung nạp tối đa dung dịch Art/HPbCD trên chuột nhắt.

2.2.4. Xác định độc tính bán trường diễn của Art/HPbCD

Từ liều an toàn của dung dịch Art/HPbCD khi dùng nhiều lần không gây thay đổi đáng kể tới chức năng, cơ quan hoặc hoạt động sinh lý chuột thí nghiệm. Chuột được thử nghiệm ở 3 mức liều thấp, liều trung bình và liều cao của dung dịch Art/HPbCD với 8 tuần, theo dõi các hành vi, cân nặng, các chỉ số huyết học và sinh hóa, phân tích mô bệnh học. Các tiêu bản mô gan thận được xét nghiệm bằng phương pháp hóa mô miễn dịch. Sử dụng phần mềm thống kê SPSS 20.0 để xử lý số liệu. So sánh sự khác biệt thống kê giữa các nhóm bằng t-test và Anova-test với độ tin cậy 95%. Các kết quả được biểu diễn dạng giá trị trung bình \pm SD.

2.2.5. Gây khối u thực nghiệm trên chuột

Các chuột bạch dòng Swiss (4-6 chuột) được tiêm dưới da với 1 mL dung dịch hóa chất (methylcholanthrene pha trong dầu oliu với nồng độ 0,1 mg/mL) để tạo khối u. Mô khối u được sinh thiết để kiểm tra các tế bào ung thư.

Xác định tế bào ung thư trong khối u tạo ra trong động vật thí nghiệm

Xác định các tế bào ung thư trong mô khối u được lấy ra từ khối u trên chuột thí nghiệm bằng phương pháp nhuộm với hemotoxylink.

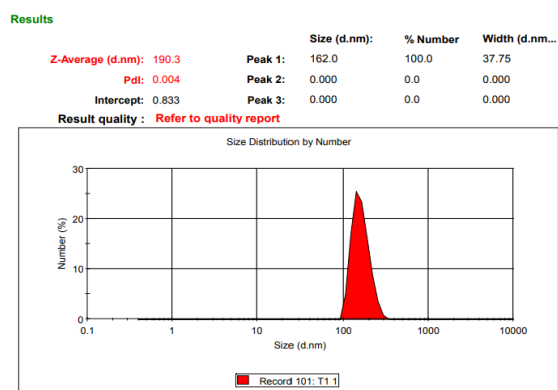
2.2.6. Xác định tác dụng tiêu u của phức hệ Art/HPbCD

Sử dụng Art/HPbCD theo đường uống hoặc tiêm tiêm bắp với 1 mL dung dịch phức hệ Art/HPbCD (nồng độ 20 mg/mL) cho 3-5 chuột Swiss có trọng lượng 18-20 gram có khối u xuất hiện rõ. Theo dõi tình trạng tiêu biến khối u theo thời gian từ khi tiêm cho đến khi khối u tiêu biến hoàn toàn.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Tạo phức hệ Art-HPbCD

Bột Thanh hao hoa vàng (500g) được hòa trong 10% dung dịch HPbCD. Khuấy đều, sau đó siêu âm trong 15 phút với cường độ 20 kHz, 300 w. Kích thước phức hệ tạo ra được xác định trên thiết bị Malvern là 162 nm (Hình 1) và hàm lượng Art được xác định bằng sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC-Shimadzu với hệ dung môi ở pha động là methanol-nước (MeCN:H₂O tỉ lệ 45:55), bước sóng 205 nm; tốc độ dòng chảy: 1,2 mL/phút) là 36,496 μ g/mL. Mẫu chiết và tạo phức hệ sau đó được đông khô để tiến hành các thử nghiệm tiếp theo.



Hình 1. Kích thước phức hệ Art-HPbCD được xác định trên thiết bị MALVERN.

Đánh giá độc tính trên các dòng tế bào ung thư ung thư vú MCF7 và ung thư gan

HCT116 theo phương pháp MTT. Kết quả đối với dòng tế bào ung thư gan HTC116 thì với nồng độ 0,1 μ g/mL, phần trăm tế bào sống thấp hơn so với đối chứng là 12,5%, với nồng độ 25 μ g/mL, phần trăm tế bào sống thấp hơn so với đối chứng là 90,1%, IC50 = 2,4 μ g/mL. Với dòng tế bào ung thư vú: nồng độ 0,1 μ g/mL thuốc có tác động lên sức sống dòng tế bào MCF7, phần trăm tế bào sống thấp hơn đối chứng 10,9%. Tại nồng độ 25

μ g/mL, phần trăm tế bào sống thấp hơn so với đối chứng là 89,1%, IC50 = 3,0 μ g/mL.

3.2. Kết quả gây khối u trên chuột

Các chuột bạch dòng Swiss được tiêm dưới da với 1mL dung dịch hóa chất (methylcholanthrene pha trong dầu oliu với nồng độ 0,1 mg/mL) để tạo khối u. Mô khối u được sinh thiết để kiểm tra các tế bào ung thư. Kết quả tạo khối u được biểu lộ trên hình 2.



Hình 2. Kích thước khối u của chuột tạo được khi tiêm methylcholanthrene pha trong dầu oliu với nồng độ 0,1 mg/mL.

3.3. Kết quả xác định độc tính của chế phẩm ArtHPbCD

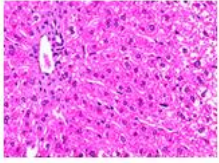
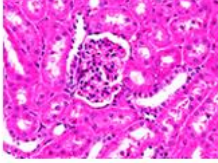
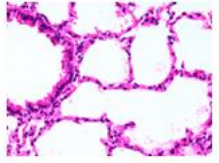
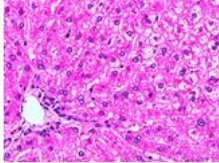
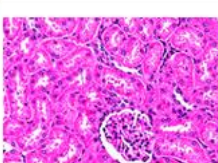
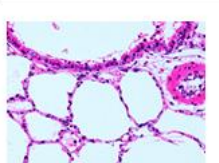
Kết quả cho thấy tất cả các lô chuột thử nghiệm với các liều Art/HPbCD đều khỏe mạnh, di chuyển và ăn uống bình thường, da, lông, mắt cũng như các chức năng tiêu hóa, hô hấp, vận động, thần kinh đều bình thường và không có chuột nào chết trong vòng 72 giờ hay có tiên lượng chết sau 7 ngày. Đồng thời, cân nặng chuột của các lô thí nghiệm sau 7 ngày đều tăng bình thường và không có sự khác biệt có ý nghĩa về cân nặng giữa các liều thử nghiệm ($p > 0,05$). Kết quả thử nghiệm cho thấy Art có độc tính cấp thấp. Kết quả thử nghiệm cho thấy theo đường uống LD50 là lớn hơn 4,2 g/kg và theo đường tiêm là lớn hơn 3,2 g/kg. Ở liều cao, thử nghiệm trên động vật, Art/HPbCD và dẫn chất có độc tính trên thần kinh. Tuy

nhiên, độc tính này hiếm khi xảy ra trên người khi dung mức liều 10-25 mg/kg/ngày.

3.4. Kết quả xác định độc tính bán trường diễn của phức hệ Art/HPbCD

Thử nghiệm được tiến hành trên chuột nhắt trắng trọng lượng 18 – 20 g/con. Chuột được chia ngẫu nhiên thành 10 lô, mỗi lô 10 con. Chuột được cho uống dung dịch Art/HPbCD với liều suy diễn từ liều dự kiến sử dụng trên người là 20 mg/kg/ngày, một lô được sử dụng làm đối chứng chỉ tiêm nước cùng thể tích tương đương trọng lượng như lô điều trị liên tục trong 28 ngày.

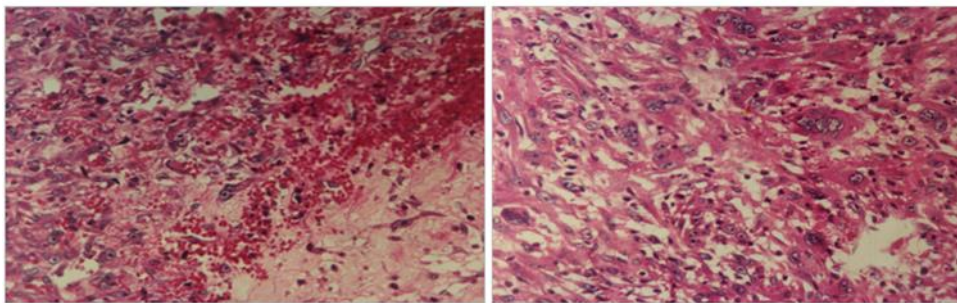
Kết quả: Thể trạng và tình trạng chung của chuột được theo dõi trước và sau khi thử nghiệm đều tốt, không có biểu hiện bất thường nào. Sau thời gian 28 ngày sử dụng Art/HPbCD tế bào gan và thận đều bình thường (hình 3).

Nhóm	Hình ảnh mô gan	Hình ảnh mô thận	Hình ảnh mô phổi
Nhóm chứn			
Nhóm thử			

Hình 3. Hình ảnh giải phẫu mô bệnh học gan, thận và phổi (Hình ảnh nhuộm HE, Độ phóng đại 400 lần)

3.5. Kết quả xác định tế bào ung thư ở động vật thí nghiệm

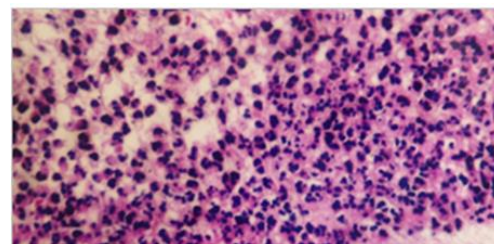
Xác định các tế bào ung thư trong mô khối u được lấy ra từ khối u trên chuột thí nghiệm bằng phương pháp nhuộm với hemotoxylink. Kết quả (được thể hiện trên hình 4) cho thấy xuất hiện các tế bào nhân quái, nhân chia (tế bào ung thư) trong các mô.



Hình 4. Ảnh chụp giải phẫu mô của khối u đã tạo được trên chuột: Nhiều tế bào ung thư dạng Fibrosarcoma với các kích thước to, nhỏ khác nhau, nhân kiềm tính, nằm trong tổ chức liên kết. (Hình ảnh nhuộm HE, Độ phóng đại 400 lần).

3.6. Kết quả xác định tác dụng tiêu u của phức hệ Art/HPbCD

Xác định khả năng tiêu u của phức hệ Art/HPbCD cũng được xác định qua hình ảnh giải phẫu bệnh lý tế bào nhân quái-nhân chia (tế bào ung thư) không còn nữa, các tế bào trở về bình thường (hình 5)

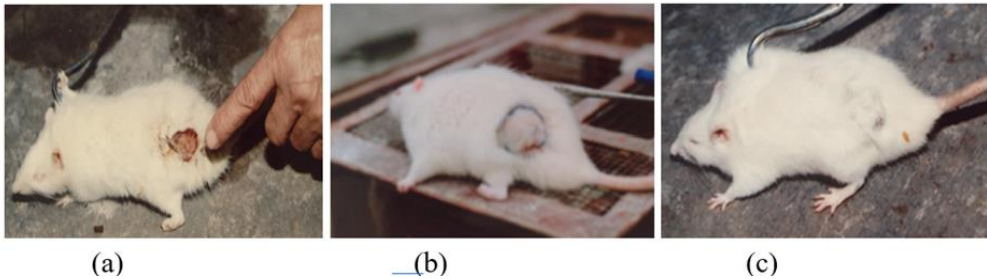


Hình 5. Ảnh chụp giải phẫu mô sau khi điều trị bằng phức hệ Art/HPbCD. Kết quả cho thấy không còn tế bào nhân quái, nhân chia (tế bào ung thư) (Hình ảnh nhuộm HE, Độ phóng đại 400 lần).

3.7. Kết quả gây tiêu biến khối u

Về mặt hình thái khối u sau khi sử dụng phức hệ Art/HPbCD cho thấy khối u trên thực

nghiệm trên chuột đã được tiêu biến sau thời gian 25 ngày (hình 6).



Hình 6. Ảnh chụp sự tiêu biến khối u sau khi sử dụng phức hệ Art/HPbCD sau 15 ngày (a), sau 20 ngày (b) và sau 25 ngày (c).

Đối với các chuột đã gây khối u mà không sử dụng phức hệ Art/HPbCD thì khối u vẫn phát triển và chuột chết sau 40 ngày.

VI. BÀN LUẬN

Artemisinin (Art) được dùng trong điều trị sốt rét do tác dụng diệt ký sinh trùng sốt rét thể vô tính trong hồng cầu. Gần đây, các công dụng khác cũng đã được xác định, đặc biệt là khả năng tiêu diệt tế bào ung thư nhanh và hiệu quả. Các cơ chế chống ung thư của Art bao gồm ức chế chu kỳ tế bào, ức chế hình thành mạch khối u, tổn thương DNA và tạo ferroptosis. Ferroptosis là một loại chết tế bào theo chương trình không phổ biến, bao gồm điều hòa chuyển hóa sắt, tạo ra các loại oxy phản ứng (ROS) và kích hoạt căng thẳng lưới nội chất (ERS). Thí nghiệm của Waseem et al., (2018) đã chứng minh rằng việc bổ sung axit aminlevulinic (ALA) làm tăng các đặc tính chống ung thư đại trực tràng của Art.

Zhou et al., (2022) đã đưa ra giả thuyết về cơ chế tác động của artemisinin: (I) Art tạo ra ROS (Reactive Oxygen Species), dẫn đến tăng biểu hiện của các thụ thể chết, và phân cắt caspase-3 và caspase-8, đồng thời giảm biểu hiện c-FLIP, dẫn đến kích thích con đường apoptosis bên ngoài. Trong khi đó,

bản thân ROS cũng kích hoạt con đường apoptosis nội tại bằng cách điều chỉnh sự biểu hiện của tBID, BAX/BAK, gây ra sự giải phóng Cytochrome C để kích hoạt caspase-9. (II) Sự tích tụ ROS từ các loại thuốc loại Art dẫn đến quá trình peroxy hóa lipid để tạo ra quá trình ferroptosis. Bên cạnh đó, sự phá vỡ hệ thống duy trì cân bằng nội môi oxy hóa bởi các loại thuốc loại Art dẫn đến sự điều hòa biểu hiện GPX4. (III) Stress oxy hóa từ các loại thuốc loại ART bắt đầu hình thành phagophore thông qua việc kích hoạt con đường AMPK và tập hợp phức hợp VPS34, dẫn đến hiện tượng autophagy. Thuốc Art cũng gây ra hoại tử (IV), hoặc gây ra pyroptosis (V). Các nghiên cứu đã chứng minh rằng 80% liều dùng đường uống được thải qua phân và nước tiểu trong 24 giờ, 68% liều tiêm tĩnh mạch được tìm thấy trong nước tiểu trong 24 giờ đầu và 95% được tìm thấy trong 72 giờ. Thời gian bán thải của Art rất ngắn, với đường uống là gần 4 giờ và tiêm bắp từ 3,85 – 5,38 giờ.

Một trong các sản phẩm được sử dụng để hỗ trợ điều trị ung thư là ARFeMAX của

Hungary là sản phẩm chứa Art kết hợp với viên sắt. Kết quả là chỉ sau 8 tiếng $\frac{3}{4}$ tế bào ung thư bị tiêu diệt và sau 16 tiếng thì nó tiêu diệt hoàn toàn 100% tế bào ung thư còn lại. Trong khi đó các tế bào lành vì không có nhiều sắt nên không bị ảnh hưởng [<https://navita.hu/en/product/arfemax/>].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy phức hệ Art/HPbCD có mức độ độc tính thấp nên sau thời gian sử dụng liều 20 mg/kg/ngày ở chuột với thời gian 28 ngày không gây tổn thương các cơ quan nội tạng của chuột, giải phẫu gan, thận và phổi của chuột đều cho thấy các mô này không có sự khác biệt với các mô tương ứng ở chuột của lô đối chứng. Điều quan trọng nhất là khối u của chuột được tiêu biến hoàn toàn sau 25 ngày sau khi sử dụng 5 liều điều trị cách nhau 5 ngày (mỗi liều 20 mg/kg/ngày) theo đường uống hoặc tiêm. Sự khác nhau khi sử dụng theo đường uống và đường tiêm là không rõ ràng.

Hiệu quả tác động của phức hệ Art/HPbCD đối với việc tiêu biến khối u, theo chúng tôi, ngoài tác động của Art còn có sự cộng hưởng tác động của HPbCD.

V. KẾT LUẬN

1) Đã xây dựng được quy trình tạo phức hệ Artemisinin -2 – Hydroxypropyl – β - Cyclodextrin theo quy trình tách trực tiếp từ cây thanh hao hoa vàng (*Artemisia annua* L.) với hàm lượng Art là 36,496 $\mu\text{g/mL}$, kích thước phức hệ là 162 nm.

2) Thử nghiệm độc tính theo phương pháp MTT trên các dòng tế bào ung thư vú MCF7 và ung thư gan HTCC116 đã xác định được IC50 tương ứng là 3,0 $\mu\text{g/mL}$ và 2,4 $\mu\text{g/mL}$. Liều độc theo đường uống xác định theo LD50 là lớn hơn 4,2 g/kg và theo đường tiêm là lớn hơn 3,2 g/kg.

3) Sử dụng phức hệ Art-HPbCD sau 28 ngày với liều 20 mg/mL không gây tổn thương các cơ quan nội tạng như gan, thận, phổi của động vật thí nghiệm.

4) Khối u nhân tạo trên chuột được tiêu biến hoàn toàn sau 25 ngày với 5 liều sử dụng (một liều là 20 mg/mL).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hu Y, Guo N, Yang T, Yan J, Wang W, Li X.** The Potential Mechanisms by which Artemisinin and Its Derivatives Induce Ferroptosis in the Treatment of Cancer. *Oxid Med Cell Longev* 2022 Jan 4; 2022:1458143.
2. **Kannan R, Kumar K, Sahal D, Kukreti S, Chauhan VS.** Reaction of artemisinin with haemoglobin: implications for antimalarial activity. *Biochem J* 2005 Jan 15; 385(Pt 2): 409-418.
3. **Li J, Cao F, Yin H, et al.** Ferroptosis: past, present and future. *Cell Death Dis* 2020; 11: 88.
4. **Mwangi S, Abuga K, Mungai N, Mwangi J.** A High-Performance Liquid Chromatography Method for Determination of Artemisinin in *Artemisia annua* L. Leaf Extracts. *East Cent Afr J Pharm Sci* 2020; 23(2): 48-53.
5. **Peerzade SAMA, Makarova N, Sokolov I.** Ultrabright Fluorescent Silica Nanoparticles for Multiplexed Detection. *Nanomaterials (Basel)* 2020 May 8; 10(5): 905.
6. **Wang B, Hou D, Liu Q, Wu T, et al.** Artesunate sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin by downregulating RAD51. *Cancer Biol Ther* 2015; 16(10): 1548-56.
7. **Waseem Y, Hasan CA, Ahmed F.** Artemisinin: A Promising Adjunct for Cancer Therapy. *Cureus* 2018 Nov 23; 10(11): e3628.
8. **Zhou C, Pan W, Xiao PW, and Tong SC.** Artesunate induces apoptosis via a Bak-mediated caspase-independent intrinsic pathway in human lung adenocarcinoma cells. *J Cell Physiol* 2012 Dec; 227(12): 3778-3786.

KHẢO SÁT TỶ LỆ ĐỘT BIẾN GEN EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS VÀ NRAS Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI TẾ BÀO KHÔNG NHỎ TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH BẰNG KỸ THUẬT GIẢI TRÌNH TỰ THỂ HỆ MỚI

Lê Minh Khôi^{*/**}, Nguyễn Hữu Huy*, Mai Thị Bích Chi*,
Nguyễn Thị Băng Suong^{*/**}, Nguyễn Hoàng Bắc^{*/**}

TÓM TẮT

Mở đầu: Ung thư phổi vẫn là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong liên quan đến ung thư trên toàn thế giới. Ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN) chiếm khoảng 80–85% các trường hợp. Giải trình tự thế hệ mới (NGS) là một công nghệ mới được sử dụng để giải trình tự DNA và phát hiện biến thể/đột biến. Các xét nghiệm phân tử của EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS và NRAS được sử dụng rộng rãi để định hướng điều trị cá thể hóa ở bệnh nhân UTPKTBN.

Mục tiêu: Khảo sát tỷ lệ đột biến gen EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS và NRAS ở bệnh nhân UTPKTBN tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: DNA được tách chiết từ 111 mẫu mô FFPE thu thập từ các bệnh nhân UTPKTBN. Thư viện DNA được giải trình tự trên thiết bị NextSeq (Illumina).

Kết quả: Theo kết quả NGS, các đột biến được phát hiện ở gen EGFR (52/111, 46,8% bệnh nhân), KRAS (16/111, 14,4%), BRAF (5/111, 4,5%), ALK (3 / 111, 2,7%), ROS1 (2/111,

1,8%), BRAF-NRAS (1/111, 0,9%) và ALK-BRAF (1/111, 0,9%)

Kết luận: NGS cho phép xác định cụ thể và chính xác các đột biến gen ở bệnh nhân UTPKTBN.

Từ khóa: UTPKTBN, giải trình tự thế hệ mới

SUMMARY

SURVEY OF THE PREVALENCE OF EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS AND NRAS MUTATIONS IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG IN UNIVERSITY MEDICAL CENTER HCMC BY NEXT GENERATION SEQUENCING

Introduction: Lung cancer remains the first cause of cancer-related deaths worldwide. Non-small cell lung cancer (NSCLC) accounts for approximately 80–85% of cases. Next-generation sequencing (NGS) is a new technology used for DNA sequencing and variant/mutation detection. Molecular assays of EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS and NRAS are widely used to guide individualized treatment in NSCLC patients.

Objective: To investigate the prevalence of EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS and NRAS mutations in patients with Non-small cell lung in University medical center HCMC

Materials and Methods: DNA was isolated from 111 FFPE samples collected from NSCLC patients. DNA libraries were sequenced on NextSeq instrument (Illumina).

*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 Suong

Email: suong.ntb@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 6.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 18.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

Results: According to NGS results, mutations were detected in EGFR (52/111, 46,8% of patients), KRAS (16/111, 14,4%), BRAF (5/111, 4,5%), ALK (3/111, 2,7%), ROS1 (2/111, 1,8%), BRAF-NRAS (1/111, 0,9%) and ALK-BRAF (1/111, 0,9%)

Conclusions: NGS allows for specific detection and precise identification of gene mutations in NSCLC patients.

Keywords: Non-small cell lung cancer, Next-generation sequencing

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo số liệu từ Tổ chức Ung thư toàn cầu (GLOBOCAN), ung thư phổi là bệnh ung thư phổ biến đứng thứ 2 trên thế giới (chiếm 11,4%) với khoảng 2,2 triệu ca mắc mới năm 2020. Cũng theo GLOBOCAN, Việt Nam ghi nhận hơn 26.000 ca mắc ung thư phổi, gần 24.000 ca tử vong vào năm 2020 [6]. Ung thư phổi không tế bào nhỏ (non-small-cell carcinoma: NSCLC-UTPKTBN) chiếm khoảng 80-85% các trường hợp ung thư phổi. Nhờ sự phát triển của khoa học kỹ thuật, chúng ta có thể xác định các đột biến gen nhất định để sử dụng thuốc điều trị trúng đích đặc hiệu. Các đột biến gen liên quan có khả năng định hướng cho điều trị đích là EGFR, ALK, BRAF và ROS1, trong khi các đột biến điểm ở gen KRAS làm giảm độ nhạy của các thuốc EGFR TKIs [7]. Trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng phương pháp giải trình tự mới cho 6 gen mục tiêu bao gồm EGFR, ALK, BRAF, ROS1, KRAS, NRAS trên bệnh nhân UTPKTBN đến khám tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM để lựa chọn phương pháp điều trị hợp lý cho bệnh nhân.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Ước tính cỡ mẫu

Áp dụng công thức ước tính cỡ mẫu cho độ nhạy

$$TP+FN = \frac{Z_{\alpha}^2 x p_{se} x (1 - p_{se})}{w^2}$$

$$n_{se} = \frac{TP + FN}{p_{dis}}$$

và

Lựa chọn độ nhạy p_{se} là 0,9, chấp nhận sai số là 0,1, p_{dis} là 0,35 thì cỡ mẫu của nghiên cứu là 98 bệnh nhân.

Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng trong nghiên cứu này gồm 111 bệnh nhân được chẩn đoán mắc UTPKTBN tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM từ tháng 01/2019 – 07/2022.

Tiêu chuẩn chọn vào

Bệnh nhân UTPKTBN thuộc một trong các loại mô học: carcinôm tuyến; carcinôm gai tuyến; carcinôm tế bào gai; và carcinôm tế bào lớn, trên 18 tuổi, có kết quả giải phẫu bệnh, không phân biệt giới tính, giai đoạn bệnh.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Người bệnh có kèm ung thư cơ quan khác

- Mẫu mô tách chiết không đạt chất lượng

Thiết kế và phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu hồi cứu cắt ngang mô tả. Xác định đột biến gen 6 gen EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, ALK, ROS1 bằng kỹ thuật giải trình tự thế hệ mới trên hệ thống máy giải trình tự gene thế hệ mới NextSeq (Illumina) sử dụng bộ hóa chất NextSeq Mid Output kit (150 cycles).

Xử lý và phân tích số liệu

Dữ liệu từ nghiên cứu được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 20. Các đặc điểm về lâm sàng - giải phẫu bệnh, bao gồm cả giới tính và loại mô học được thống kê theo tình trạng (có hay không có) đột biến 6 gene EGFR, KRAS, BRAF, NRAS, ALK, ROS1.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong khoảng thời gian tháng 01 năm 2019 đến tháng 7/2022, chúng tôi thu thập số liệu của 111 bệnh nhân thỏa tiêu chuẩn chọn bệnh và không có tiêu chuẩn loại trừ điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM

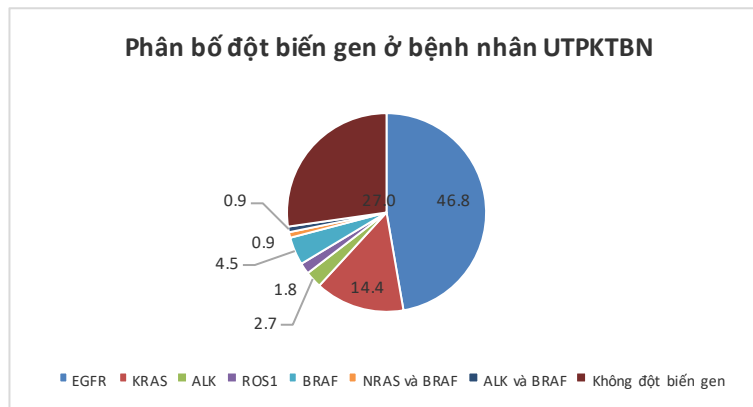
Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân UTPKTBN tham gia nghiên cứu

Bảng 1: Đặc điểm bệnh nhân

Đặc điểm	N=111 (%)
Tuổi	
Độ tuổi	33-97
Trung bình	63,7 ± 11,8
Giới tính	
Nam	63 (56,8%)
Nữ	48 (43,2%)
Đặc điểm giải phẫu bệnh	
Carcinôm tế bào tuyến	105 (94,6%)
Carcinôm tế bào gai	6 (5,4%)

Nhận xét: Chúng tôi ghi nhận độ tuổi trung bình của bệnh nhân UTPKTBN là 63,7 ± 11,8; giới tính nam chiếm ưu thế (56,8%) và chủ yếu là Carcinôm tế bào tuyến (94,6%).

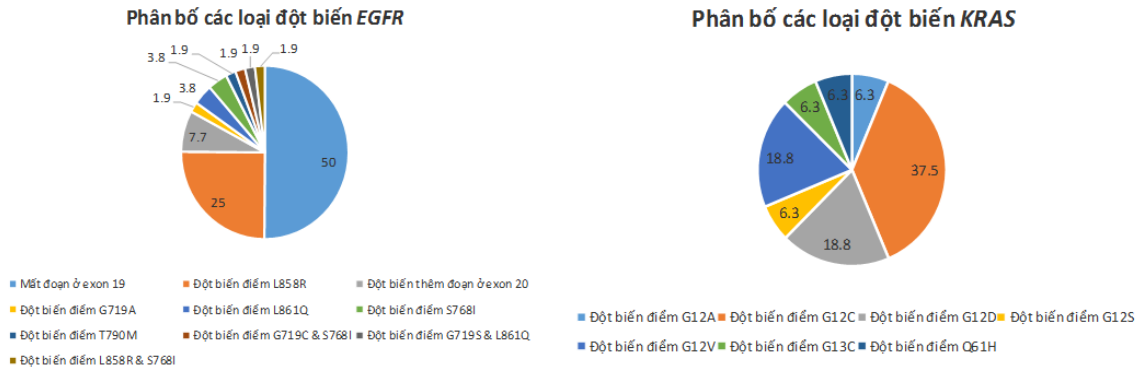
Kết quả phát hiện đột biến gen ở bệnh nhân UTPKTBN



Hình 1: Phân bố các loại đột biến ở bệnh nhân UTPKTBN

Nhận xét: Trong 111 bệnh nhân, có 81 bệnh nhân (73%) có ít nhất một đột biến gen liên quan. Đột biến EGFR được tìm thấy ở 52 bệnh nhân (46,8%). Đột biến KRAS được tìm thấy ở 16 bệnh nhân (14,4%). Đột biến BRAF được tìm thấy ở 5 bệnh nhân (4,5%).

Đột biến ALK và ROS1 lần lượt được tìm thấy ở 3 bệnh nhân (2,7%) và 2 bệnh nhân (1,8%). Trường hợp đột biến đồng thời giữa BRAF và NRAS; ALK và BRAF đều chỉ xuất hiện ở 1 bệnh nhân (chiếm 0,9%).



Hình 2. Phân bố các loại đột biến EGFR và KRAS

Nhận xét: Trong nhóm 52 bệnh nhân có đột biến EGFR, có 26 bệnh nhân (50%) có đột biến mất đoạn ở exon 19. Đột biến điểm L858R được tìm thấy ở 13 bệnh nhân (25%). Đột biến thêm đoạn ở exon 20 được tìm thấy ở 4 bệnh nhân (7,7%). Các đột biến điểm

khác chiếm tỷ lệ thấp. Trong nhóm 16 bệnh nhân có đột biến KRAS, có 6 bệnh nhân (37,5%) có đột biến điểm G12C. Mỗi đột biến điểm G12D và G12V được tìm thấy ở 3 bệnh nhân (18,8%). Các đột biến điểm khác chiếm tỷ lệ thấp chỉ tìm thấy ở 1 bệnh nhân.

Bảng 2. Phân bố các loại đột biến ALK, ROS1, BRAF, NRAF

Loại đột biến	n	%
Đột biến BRAF và NRAS		
Đột biến điểm BRAF V600E	4	33,3%
Đột biến điểm BRAF G464V	1	8,3%
Đột biến điểm BRAF G464A và NRAS G12D	1	8,3%
Đột biến điểm BRAF W531L và dung hợp gen ALK-EML4: Intron 19-Intron 13	1	8,3%
Đột biến ALK		
Đột biến dung hợp gen ALK-EML4: Intron 19-Intron 6	1	8,3%
Đột biến dung hợp gen ALK-EML4: Intron 19-Intron 20	1	8,3%
Đột biến điểm dung hợp gen ALK-EML4: Intron 19-Intron 13	1	8,3%
Đột biến ROS1		
Đột biến điểm dung hợp gen ROS1-CD74: Intron 34-Intron 4	1	8,3%
Đột biến điểm dung hợp gen ROS1-CD74: Intron 33-Intron 6	1	8,3%
Tổng	12	100%

Nhận xét: Trong 12 bệnh nhân có đột biến ALK, ROS1, BRAF, NRAF, có 4 bệnh nhân (chiếm 33,3%) có đột biến điểm BRAF V600E. Các đột biến khác chiếm tỷ lệ thấp chỉ tìm thấy ở 1 bệnh nhân.

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân UTPKTBN tham gia nghiên cứu

Trong 111 BN nghiên cứu thì có 63 BN nam (56,8%) và 48 BN nữ (43,2%), tỷ lệ nam so với nữ là 1,3/1. Nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy BN trẻ tuổi nhất là 33 và cao tuổi nhất là 97, tuổi trung bình là $63,7 \pm 11,8$. Về đặc điểm mô bệnh học, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận lệ carcinôm tế bào tuyến chiếm đa số (94,6%), sau đó là carcinôm tế bào gai (7,2%). Kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu khác đều cho thấy carcinôm tế bào tuyến là dạng tổn thương hay gặp nhất [2], [7].

Kết quả phát hiện đột biến gen ở bệnh nhân UTPKTBN

Những bệnh nhân ung thư phổi tế bào không nhỏ ở giai đoạn tiến xa có đột biến gen EGFR được điều trị bằng các thuốc ức chế tyrosin kinase [3]. Trong các trường hợp đột biến gen EGFR chúng tôi ghi nhận chủ yếu là đột biến mất đoạn exon 19 và L858R trên exon 21 đều liên quan đến khả năng đáp ứng tốt với TKIs. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trong các trường hợp đột biến KRAS thì đột biến điểm G12C chiếm tỷ lệ cao nhất (37,5%). Thuốc Sotorasib đã được Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ - FDA cấp phép điều trị với người bệnh mắc UTPKTBN giai đoạn tiến xa và di căn và có đột biến KRAS G12C và đã thất bại với ít nhất một phác đồ hoá chất [5]. Trong UTPKTBN, tỷ lệ các bệnh nhân có đột biến ALK là khoảng 3-7%. Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có 3 bệnh nhân có đột

biến ALK riêng lẻ (2,7%) và 1 bệnh nhân có đột biến phối hợp với BRAF (0,9%) có cơ hội điều trị bằng các thuốc kháng ALK. Theo nghiên cứu của Nguyễn Hoài Nghĩa và cs (2021) trên 55 BN UTPKTBN ghi nhận đột biến gen EGFR thống kê là 25,1%, đột biến KRAS chiếm 10,9% và đột biến ALK chiếm 1,8%. Tỷ lệ đột biến trong nghiên cứu chúng tôi cao hơn có thể vì do quần thể nghiên cứu có sự khác biệt về số lượng cỡ mẫu [2]. Sự dung hợp gen ROS1 gặp khoảng 1-2% trong ung thư phổi. Crizotinib và Entrectinib, Loratinib là những TKIs đã được chứng minh hiệu quả trong điều trị UTPKTB có đột biến dung hợp ROS1. Repotrectinib đang được nghiên cứu và sẽ là 1 triển vọng mới trong tương lai [7]. Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 2 trường hợp có dung hợp gen ROS1 (1,8%). Theo nghiên cứu của Lê Xuân Trường và cs (2020) trên 35 BN UTPKTBN chỉ phát hiện có 1 trường hợp đảo đoạn AKL, chiếm tỉ lệ 2,85% và không ghi nhận đột biến gen ROS1[1]. Người bệnh mang đột biến BRAF V600E có khả năng đáp ứng với các thuốc mới Dabrafenib/Trametinib. Chúng tôi ghi nhận 4 trường hợp có đột biến BRAF V600E và 3 trường hợp không phải V600E. Đối với các đột biến BRAF không phải V600E có thể điều trị bằng liệu pháp miễn dịch, hóa trị hoặc thuốc ức chế BRAF/MEK tùy vị trí đột biến [4]. Đối với những bệnh nhân có đột biến gen NRAS sẽ không có đáp ứng với thuốc điều trị TKIs [8]. Trong nghiên cứu này chúng tôi ghi nhận có một trường hợp

mang đột biến điểm BRAF G464A và NRAS G12D chiếm tỷ lệ rất thấp (0,9%).

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 111 bệnh nhân UTPKTBN cho thấy: các đột biến chủ yếu được phát hiện ở gen EGFR (52/111, 46,8% bệnh nhân) và KRAS (16/111, 14,4%), các đột biến khác được ghi nhận bao gồm BRAF (5/111, 4,5%), ALK (3/111, 2,7%), ROS1 (2/111, 1,8%), BRAF-NRAS (1/111, 0,9%) và ALK-BRAF (1/111, 0,9%). Kết quả nghiên cứu này sẽ giúp ích cho các bác sỹ lâm sàng đưa ra phác đồ điều trị phù hợp và hiệu quả cho bệnh nhân UTPKTBN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đặng Huỳnh Anh Thư, Nguyễn Hoài Nghĩa, Lê Xuân Trường (2020)**, "Khảo sát tỉ lệ đột biến gen ALK và ROS1 trên bệnh nhân UTPKTBN", Tạp chí Y học TP.HCM. 24(2), tr. 108 - 113.
2. **Đặng Huỳnh Anh Thư, Vũ Trần Thiên Quân, Lê Xuân Trường, Nguyễn Hoài Nghĩa (2021)**, "Áp dụng sinh thiết lỏng phát hiện đột biến gen EGFR trên bệnh nhân UTPKTBN", Tạp chí Y học TP.HCM. 25(1), tr. 138-143.
3. **Kim, Edward S và các cộng sự. (2021)**, "EGFR tyrosine kinase inhibitors for EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: outcomes in Asian populations", Future Oncology. 17(18), tr. 2395-2408.
4. **O'Leary, Connor Gerard và các cộng sự. (2019)**, "Targeting BRAF mutations in non-small cell lung cancer", Translational lung cancer research. 8(6), tr. 1119.
5. **Skoulidis, Ferdinandos và các cộng sự. (2021)**, Overall survival and exploratory subgroup analyses from the phase 2 CodeBreaK 100 trial evaluating sotorasib in pretreated KRAS p. G12C mutated non-small cell lung cancer, chủ biên, Wolters Kluwer Health.
6. **Sung, Hyuna và các cộng sự. (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), tr. 209-249.
7. **Zhuang, Xibin và các cộng sự. (2019)**, "Clinical features and therapeutic options in non-small cell lung cancer patients with concomitant mutations of EGFR, ALK, ROS1, KRAS or BRAF", Cancer medicine. 8(6), tr. 2858-2866.
8. **Sasaki, Hidefumi và các cộng sự. (2007)**, "Nras and Kras mutation in Japanese lung cancer patients: Genotyping analysis using LightCycler", Oncology reports. 18(3), tr. 623-628.

KHẢO SÁT NHIỄM HPV-16/-18 VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI

Nguyễn Thị Linh Hoa¹, Đào Phương Giang², Trần Khánh Chi¹,
Đặng Thị Ngọc Dung¹, Lê Hoàn¹, Phan Quốc Hoàn²,
Quách Xuân Hinh², Lê Thị Thanh Xuân² Nghiêm Xuân Hoàn²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trên mẫu mô sinh thiết phổi ở bệnh nhân ung thư phổi (UTP) và phân tích một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân UTP dương tính với HPV-16/-18. **Đối tượng và phương pháp:** Sử dụng phương pháp Multiplex Realtime PCR nhằm phát hiện HPV-16/-18 trên mẫu bệnh phẩm lâm sàng. Nghiên cứu hồi cứu trên 273 bệnh nhân UTP được điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ 7/2021-9/2022. DNA HPV-16/-18 trong mẫu mô sinh thiết UTP được xác định bằng kỹ thuật Realtime PCR. **Kết quả:** Tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trong UTP là 5.1% trong đó HPV-16 chiếm 57.1% và HPV-18 chiếm 42.9%. Tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trên bệnh nhân UTP ở nữ cao hơn nam, ở bệnh nhân nữ có đột biến EGFR (+) cao hơn ở bệnh nhân nam có đột biến EGFR âm tính ($p < 0.05$). **Kết luận:** Tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trên mẫu mô sinh thiết UTP là 5.1%, trong các bệnh nhân UTP phụ nữ có nguy cơ nhiễm HPV cao hơn nam giới, quan sát thấy phụ nữ có đột biến EGFR (+) có thể có nguy cơ nhiễm HPV cao hơn nam giới không có đột biến EGFR.

Từ khóa: HPV, HPV-16/-18, ung thư phổi, Realtime PCR.

SUMMARY

EVALUATION OF HPV-16/-18 INFECTION AND ITS ASSOCIATION WITH CLINICAL CHARACTERISTICS IN LUNG CANCER PATIENTS

Objectives: Determine the prevalence of HPV-16/-18 infection on lung biopsy tissue samples in lung cancer patients and analyze clinical and subclinical characteristics in HPV-16/-18-positive LC patients. **Subjects and methods:** Developing a multiplex realtime PCR method to detect HPV-16/-18 on clinical specimens. This study was conducted on 273 lung cancer patients treated at the 108 Military Central Hospital from 7/2021-9/2022. HPV-16/-18 DNA in lung cancer biopsy tissue samples was determined by our inhouse developed/optimized multiplex realtime PCR technique. **Results:** The rate of HPV-16/-18 infection in lung cancer was 5.1%, of which HPV-16 accounted for 57.1% and HPV-18 accounted for 42.9%. The rate of HPV-16/-18 infection in lung cancer patients was higher in women than in men. HPV-16/-18 infection in female patients positive for EGFR mutations had significantly higher than in male patients negative for EGFR mutations ($p < 0.05$). **Conclusions:** The rate of HPV-16/-18 infection in lung cancer biopsy tissues is 5.1%. Female patients had a

¹Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Trung Ương Quân đội 108

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Linh Hoa

Email: linhhoa251@gmail.com

Ngày nhận bài: 17.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

higher rate of HPV infection than men. Female patients positive for EGFR mutations are possibly prone to HPV infection than men negative for EGFR mutations.

Keywords: HPV, HPV-16/-18, lung cancer, Realtime PCR

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

UTP là căn bệnh ác tính phổ biến thứ hai và là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong trên toàn thế giới. Năm 2020 ước tính có hơn 2 triệu trường hợp mắc mới và gần 1,8 triệu ca tử vong do UTP⁵. Nguyên nhân gây bệnh chính là hút thuốc lá, tuy nhiên UTP ở người không hút thuốc có xu hướng ngày càng tăng, đặc biệt là ở phụ nữ và người châu Á, cho thấy các yếu tố khác tác động cho quá trình sinh UTP như sự nhạy cảm di truyền và các tác nhân lây nhiễm chẳng hạn như virus... Virus gây ung thư là một yếu tố được đưa ra có liên quan đến UTP nhưng vẫn còn nhiều tranh cãi.

Thống kê cho thấy HPV là nguyên nhân của 4,5% tổng số ca ung thư trên toàn thế giới (630.000 ca ung thư mới mỗi năm)³. Dựa trên khả năng sinh ung thư HPV được chia thành hai nhóm, nhóm nguy cơ thấp (low risk) và nhóm nguy cơ cao (high risk). Những kiểu gen HPV nguy cơ cao có khả năng gây tăng sinh, loạn sản và biến đổi tế bào biểu mô dẫn đến hình thành khối u ác tính. HPV-16/-18 được chỉ ra là những genotype gây bệnh phổ biến nhất. HPV đã được biết đến là yếu tố nguy cơ cao dẫn đến ung thư cổ tử cung và các ung thư sinh dục hậu môn khác. Nghiên cứu gần đây cũng chỉ ra rằng bệnh nhân UTP có liên quan đến sự hiện diện của virus HPV đặc biệt là HPV-16/-18. Tuy nhiên có sự khác biệt về tỉ lệ

giữa các khu vực trên thế giới. Tại Việt Nam các nghiên cứu về tình trạng nhiễm HPV trong UTP còn chưa được chú ý tới nhiều. Vì vậy chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục đích xác định tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trên mẫu mô sinh thiết phổi ở bệnh nhân UTP và phân tích một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân UTP dương tính với HPV-16/-18.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại Bệnh viện TƯ Quân đội 108 từ tháng 07/2021 đến tháng 09/2022 trên 273 bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTP nguyên phát bằng kết quả mô bệnh học và được tiến hành làm xét nghiệm đột biến EGFR.

Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Bệnh nhân UTP nguyên phát, tuổi ≥ 18 , có mẫu mô sinh thiết phổi được đúc paraffin, số lượng mẫu đủ chất lượng và số lượng phục vụ cho tách chiết DNA.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh nhân UTP thứ phát. Mẫu mô của bệnh nhân không có/ không đủ lượng DNA cần thiết cho các phản ứng sinh học phân tử.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu. Bệnh nhân được thu thập các thông tin nghiên cứu trong bệnh án về tuổi, giới, giai đoạn bệnh, xét nghiệm đột biến gene EGFR.

Xác định DNA HPV-16/-18 trong mẫu mô sinh thiết UTP bằng kỹ thuật Realtime PCR. Phản ứng sử dụng bộ môi và probe thiết kế như bảng sau, với chuẩn dương là plasmid HPV-16/-18, chứng nội (IC) là gen betaglobin.

Bảng 1. Trình tự môi và probe sử dụng trong phản ứng Realtime PCR

Kiểu gen HPV	Môi / Probes	Trình tự đoạn môi chiều 5'-3'
HPV-16	Môi xuôi(F)	5'- TGA CAG CTC AGA GGA GGA GGA TG -3'
	Môi ngược(R)	5'- CGA AGC GTA GAG TCA CAC TTG CAA C -3'
	Probe	5'- /56-FAM/AGC TGG ACA AGC AGA ACC GGA CAG A/3BHQ_1/ -3'
HPV-18	Môi xuôi(F)	5'- AGA CTC TGT GTA TGG AGA CAC ATT G -3'
	Môi ngược(R)	5'- CCA GCT ATG TTG TGA AAT CGT CGT -3'
	Probe	5'- /5HEX/CGG TGC CAG AAA CCG TTG AAT CCA GCA /3BHQ_1/ -3'
IC (betaglobin)	Môi xuôi(F)	5'- AGA AGA GCC AAG GAC AGG TAC G-3'
	Môi ngược(R)	5'- TGC TCC TGG GAG TAG ATT GGC- 3'
	Probe	5'- /5HEX/ATC ACT TAG ACC TCA CCC TGT GG/3BHQ_1/-3'

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS v20.0. Các phân tích sử dụng các kiểm định thống kê phù hợp với từng loại so sánh giữa các nhóm. Phân tích có ý nghĩa thống kê khi $P < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

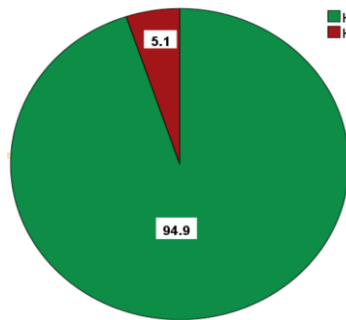
3.1. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Bảng 2. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm		n	%
Tuổi trung bình		65.25 ± 11.13	
Nhóm tuổi	<65	138	50.5
	≥65	135	49.5
Giới tính	Nữ	64	23.4
	Nam	209	76.6
Đột biến EGFR	EGFR (+)	110	59.7
	EGFR âm tính	163	40.3
Giai đoạn bệnh	I/II	10	3.7
	III/IV	263	96.3
Mô bệnh học	UTBM tuyến	266	97.4
	UTBM vảy	7	2.6

Nhận xét: Tuổi trung bình của bệnh nhân UTP là 65.25 ± 11.13. Tỷ lệ nam/nữ là 3,3/1. Bệnh nhân UTP ở giai đoạn sớm I/II chiếm 3.7% và 96,3% bệnh nhân ở giai đoạn muộn III/IV. Phân loại mô bệnh học ung thư biểu mô tuyến chiếm 97.4% và ung thư biểu mô vảy chiếm 2.6%. Tỷ lệ đột biến EGFR (-) là 40.3%, đột biến EGFR (+) là 59.7%.

Tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trên mẫu mô sinh thiết ở bệnh nhân UTP



Kiểu gen HPV	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
HPV16	8	57.1
HPV-18	6	42.9

Biểu đồ 1. Tỷ lệ và sự phân bố nhiễm HPV-16/-18 trên bệnh nhân UTP

Nhận xét: Trong số 273 bệnh nhân, 14 bệnh nhân có mẫu mô sinh thiết phổi dương tính với HPV chiếm tỷ lệ 5.1%. Trong số 14 bệnh nhân UTP nhiễm HPV, tỷ lệ bệnh nhân nhiễm HPV-16 cao hơn nhiễm HPV-18 (57.1% vs. 42.9%).

3.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân UTP dương tính với HPV-16/-18

Bảng 3. Mọi liên quan giữa đặc điểm lâm sàng của BN UTP với nhiễm HPV

Đặc điểm		Dương tính HPV		Âm tính HPV		p
		n	%	n	%	
Nhóm tuổi	<65	7	5.1	131	94.9	>0.05
	≥65	7	5.2	128	94.3	
Giới tính	Nữ	7	10.9	57	89.1	<0.05
	Nam	7	3.3	202	96.7	
Đột biến EGFR	EGFR (+)	9	8.2	101	91.8	>0.05
	EGFR (-)	5	3.1	158	96.9	
Giai đoạn bệnh	I/II	1	10	9	90	>0.05
	III/IV	13	4.9	250	95.1	
Mô bệnh học	UTBM tuyến	14	5.3	252	94.7	>0.05
	UTBM vảy	0	0	7	100	

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân nữ nhiễm HPV cao hơn nam (10.9% vs. 3.3%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0.05$. Nhóm bệnh nhân có đột biến EGFR (+) nhiễm HPV nhiều hơn nhóm đột biến EGFR (-), những bệnh nhân ở giai đoạn sớm I/II có tỷ lệ nhiễm HPV cao hơn bệnh nhân ở giai đoạn muộn III/IV. Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0.05$).

Bảng 4. Mọi liên quan giữa giới tính, đột biến EGFR với tỷ lệ nhiễm HPV

Đặc điểm	HPV dương tính (n,%)	HPV âm tính (n,%)	p
Nam - EGFR âm tính	3(2.1%)	137(97.9)	NA
Nữ - EGFR âm tính	4(5.8%)	65(94.2%)	>0.05
Nam - EGFR (+)	2(8.7%)	21(91.3%)	>0.05
Nữ - EGFR (+)	5(12.2%)	36(87.8%)	<0.05

Nhận xét: Bệnh nhân nữ có đột biến EGFR (+) có tỷ lệ nhiễm HPV cao hơn bệnh nhân nam đột biến EGFR (-) (12.2% vs. 2.1%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0.05$.

IV. BÀN LUẬN

Một số nghiên cứu trên thế giới đã báo cáo về mối liên quan giữa sự hiện diện của DNA HPV trong ung thư phổi. Chúng tôi khảo sát tình trạng nhiễm HPV đặc biệt là hai kiểu gen có nguy cơ cao và phổ biến tại Việt Nam gồm HPV-16 và 18 trong mẫu mô UTP thu thập được tại Bệnh viện TỰ QUỠN 108 từ 07/2021 đến 09/2022.

Tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18: Tỷ lệ có sự hiện diện của HPV trên mẫu mô UTP được báo cáo dao động từ 0 đến 78,3% và có sự không đồng nhất giữa các vùng địa lý khác nhau trên thế giới⁴. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 trên mẫu mô UTP là 5.1%. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Jain và cộng sự với tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 là 5%², thấp hơn tỷ lệ HPV-16/-18 ở nghiên cứu của Wang và cộng sự (44.1%)⁷ và cao hơn ở nghiên cứu của Coissard và cộng sự (1.8%)¹. Sự khác biệt về tỉ lệ UTP dương tính với HPV trong các nghiên cứu có thể là do sự khác nhau về phương pháp phát hiện HPV DNA (PCR, ISH, dotblot...) và được thực hiện trên các nhóm nghiên cứu khác nhau về môi trường hay các yếu tố hành vi nguy cơ cao như hút thuốc và tình dục. Mặt khác, sự khác biệt về tỷ lệ nhiễm HPV của chúng tôi (thấp hơn) vs. một số báo cáo có thể là do trong khảo sát này chúng tôi chỉ thiết kế phản ứng multiplex realtime PCR để phát hiện HPV kiểu gen 16 và 18 trong khi các nghiên cứu khác thiết kế phát hiện nhiều kiểu gen của HPV hơn. Nhóm nghiên cứu đang và tiếp tục xây dựng và tối ưu phản ứng multiplex realtime PCR in-house có khả năng phát hiện các kiểu gen HPV nguy cơ cao và phổ biến tại Việt Nam gồm: 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 và 68.

Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm

sàng và tình trạng nhiễm HPV. Chúng tôi nhận thấy, nữ giới mắc UTP có tỷ lệ nhiễm HPV cao hơn nam giới. Nguyên nhân có thể là do con đường lây nhiễm virus vào mô phổi liên quan đến HPV từ cổ tử cung. Nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra tỷ lệ nhiễm HPV ở bệnh nhân nữ có đột biến EGFR (+) cao hơn ở bệnh nhân nam có đột biến EGFR âm tính, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0.05$. Đột biến gene thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR) đã được chứng minh là phổ biến hơn ở phụ nữ, người không bao giờ hút thuốc và bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến của phổi. Một số nghiên cứu cũng đã chỉ ra đột biến gene EGFR có liên quan đến sự hiện diện của virus HPV trong ung thư phổi. Wu và cộng sự⁸ đã chứng minh rằng oncoprotein E6 của HPV có chức năng điều hòa chất ức chế tế bào của quá trình chết theo chương trình (cIAP2) thông qua dòng thác tín hiệu EGFR/ PI3K/AKT liên quan đến đột biến gene EGFR, do đó có thể giữ vai trò quan trọng trong quá trình sinh UTP liên quan đến HPV ở bệnh nhân có đột biến EGFR.

Mặc dù việc phát hiện DNA của HPV có thể suy ra sự tham gia của virus trong các khối u phổi, nhưng chỉ tình trạng DNA không chứng minh được vai trò gây ung thư trong các khối u phổi. Khả năng gây bệnh của HPV phụ thuộc vào sự biểu hiện của các oncoprotein E6 và E7 của HPV. Một số ít nghiên cứu đã đưa ra bằng chứng cho thấy các protein liên quan đến phát sinh ung thư HPV E6 và E7 biểu hiện trong các mô UTP, nhưng mối liên hệ căn nguyên giữa HPV và UTP vẫn chưa được hiểu biết một cách đầy đủ.

Trong nghiên cứu này, việc so sánh độ nhạy độ đặc hiệu giữa phương pháp của chúng tôi với một số kit thương mại hóa có

chúng chỉ IVD vẫn chưa được tiến hành thì một hạn chế khác của khảo sát này đó là số lượng cỡ mẫu ước tính dựa trên tỷ lệ nhiễm HPV lấy từ nghiên cứu của Jinn-Li Wang ở Đài Loan là 15.7%⁶. Tỷ lệ này cao hơn so với chúng tôi báo cáo trong khảo sát này. Do đó các nghiên cứu tiếp theo cần phải thực hiện trên một số lượng cỡ mẫu lớn hơn nữa để có thể có đưa ra tỷ lệ nhiễm HPV ở bệnh nhân UTP chính xác hơn. Hơn nữa cỡ mẫu trong khảo sát này cũng không mang tính đại diện cho quần thể bệnh nhân UTP vì chúng tôi chỉ đưa vào nghiên cứu này các bệnh nhân được làm sinh thiết phổi và là những bệnh nhân ở giai đoạn muộn cần làm đột biến EGFR cho mục đích điều trị thuốc đích. Như vậy trong khảo sát này chúng ta chưa biết được tình trạng nhiễm HPV trên mô ung thư ở các bệnh nhân UTP giai đoạn sớm và giai đoạn trung gian. Đây là những bệnh nhân mà các bác sỹ lâm sàng thường không chỉ định làm đột biến EGFR.

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ nhiễm HPV-16/-18 ở trong mô sinh thiết phổi của bệnh nhân UTP trong khảo sát này là 5.1%, trong đó 57.1% (8/14) là HPV-16 và 42.9% (6/14) là HPV-18. Bệnh nhân nữ UTP có tỷ lệ nhiễm HPV cao hơn bệnh nhân nam. Trong số bệnh nhân có đột biến EGFR (+), bệnh nhân nữ cũng có tỷ lệ nhiễm HPV cao hơn. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi, mô bệnh học và giai đoạn bệnh với tình trạng nhiễm HPV trong UTP. Cần tiến hành những nghiên cứu sâu hơn để làm sáng tỏ vai trò của nhiễm HPV trong sinh bệnh học ung thư phổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Coissard CJ, Besson G, Polette MC, Monteau M, Birembaut PL, Clavel CE.

- Prevalence of human papillomaviruses in lung carcinomas: a study of 218 cases. *Mod Pathol.* 2005;18(12):1606-1609. doi:10.1038/modpathol.3800472
2. Jain N, Singh V, Hedau S, et al. Infection of Human Papillomavirus Type 18 and p53 Codon 72 Polymorphism in Lung Cancer Patients From India*. *CHEST.* 2005;128(6):3999-4007. doi:10.1378/chest.128.6.3999
3. Martel C de, Plummer M, Vignat J, Franceschi S. Worldwide burden of cancer attributable to HPV by site, country and HPV type. *International Journal of Cancer.* 2017;141(4):664-670. doi:10.1002/ijc.30716
4. Srinivasan M, Taioli E, Ragin CC. Human papillomavirus type 16 and 18 in primary lung cancers--a meta-analysis. *Carcinogenesis.* 2009;30(10):1722-1728. doi:10.1093/carcin/bgp177
5. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians.* 2021;71(3):209-249. doi:10.3322/caac.21660
6. Wang JL, Fang CL, Wang M, et al. Human papillomavirus infections as a marker to predict overall survival in lung adenocarcinoma. *International Journal of Cancer.* 2014;134(1):65-71. doi:10.1002/ijc.28349
7. Wang Y, Wang A, Jiang R, et al. Human papillomavirus type 16 and 18 infection is associated with lung cancer patients from the central part of China. *Oncol Rep.* 2008;20(2):333-339.
8. Wu HH, Wu JY, Cheng YW, et al. cIAP2 upregulated by E6 oncoprotein via epidermal growth factor receptor/phosphatidylinositol 3-kinase/AKT pathway confers resistance to cisplatin in human papillomavirus 16/18-infected lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(21):5200-5210. doi:10.1158/1078-0432.CCR-10-0020

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ CYFRA 21-1 Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ VÚ

Nguyễn Chính Nghĩa¹, Lê Thúy Vân², Trần Thị Giang³

TÓM TẮT

Mục tiêu: 1. Khảo sát sự thay đổi nồng độ Cyfra 21-1 ở bệnh nhân ung thư vú. 2. Xác định mối tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ một số dấu ấn khối u khác ở bệnh nhân ung thư vú. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 40 bệnh nhân UTV và 30 phụ nữ khỏe mạnh làm nhóm chứng. Định lượng Cyfra 21-1, CA 15-3, CEA phân tích số liệu và rút ra kết luận. **Kết quả:** Ở bệnh nhân UTV nồng độ Cyfra 21-1 tăng cao so với nhóm chứng (3.72 ng/mL so với 2.08 ng/mL), $p < 0.001$. Có tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CA 15-3 ($r = 0.616$, $p < 0.001$). Không có tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CEA ($r=0.069$, $p > 0.05$).

SUMMARY

RESEARCH OF CYFRA 21-1 CONCENTRATIONS IN BREAST CANCER PATIENTS

Objectives: 1. Survey the change of Cyfra 21-1 concentration in breast cancer patients. 2. Determine the correlation between the concentration of Cyfra 21-1 and the concentration of some other tumor markers in breast cancer patients. **Methods:** Cross-sectional descriptive study on 40 breast cancer patients and

30 healthy women as a control group. Quantitative Cyfra 21-1, CA 15-3, CEA data analysis and draw conclusions. **Results:** In patients with breast cancer, the concentration of Cyfra 21-1 was higher than that of the control group (3.72 ng/mL versus 2.08 ng/mL), with $p < 0.001$. There was a correlation between Cyfra 21-1 concentration and CA 15-3 concentration ($r = 0.616$, $p < 0.001$). There was no correlation between Cyfra 21-1 concentration and CEA concentration ($r=0.069$, $p > 0.05$).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư vú (UTV) là ung thư thường gặp ở phụ nữ, bệnh có thể gặp ở nhiều độ tuổi, sắc tộc khác nhau. Theo Cơ quan nghiên cứu Ung thư thế giới, năm 2018, tỷ lệ mắc UTV ở nữ chiếm 24,2% tổng số các ung thư ở nữ trên toàn thế giới [5], số phụ nữ chết do UTV ước khoảng 627 000 người – gần 15% số người tử vong do ung thư [6].

Mô bệnh học là phương pháp chẩn đoán xác định UTV. Hóa mô miễn dịch cho biết tình trạng thụ thể nội tiết và mức độ bộc lộ Her-2/neu và Ki-67 giúp tiên lượng và điều trị [1]. Tuy nhiên nó đòi hỏi phải sinh thiết được chính xác khối u, thời gian chờ kết quả lâu. Hiện nay, việc tìm kiếm dấu ấn khối u đặc hiệu chẩn đoán ung thư đang được quan tâm. Trong UTV một số dấu ấn khối u như CA 15-3, CEA... đã được sử dụng trên lâm sàng.

Cyfra 21-1 là dấu ấn khối u chủ yếu sử dụng trong chẩn đoán ung thư phổi tế bào không nhỏ. Tuy nhiên, trên thế giới, từ những năm 2000 (Bunzo Nakata và CS) [4] hay gần đây (Samia A. Ebeid và CS – 2017)

¹Khoa Xét nghiệm – BV Tâm Anh Hà Nội,

²Khoa Hóa sinh – BV Bạch Mai,

³Trung tâm Giải phẫu bệnh, Viện K cơ sở Tân Triều

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Chính Nghĩa

Email: nghiabvbm@yahoo.com

Ngày nhận bài: 15.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 19.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

[9] qua những nghiên cứu đã đưa ra kết luận có thể sử dụng nồng độ Cyfra 21-1 trong chẩn đoán và theo dõi điều trị UTV. Trong nước, hiện chúng tôi chưa tìm thấy nghiên cứu nào về vấn đề này. Do vậy, nghiên cứu về Cyfra 21-1 trong UTV là có ý nghĩa khoa học và cần thiết. Nhằm tìm hiểu rõ hơn giá trị của xét nghiệm Cyfra 21-1 trong UTV, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Nghiên cứu nồng độ Cyfra 21-1 ở bệnh nhân ung thư vú” Với những mục tiêu sau:

1. Khảo sát sự thay đổi nồng độ Cyfra 21-1 ở bệnh nhân ung thư vú.

2. Xác định mối tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ một số dấu ấn khối u khác ở bệnh nhân ung thư vú.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là bệnh nhân UTV đến khám tại viện K trung ương - cơ sở Tân

Triều từ ngày 12/12/2018 đến 15/01/2019. Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Nhóm UTV: Bệnh nhân được chẩn đoán xác định UTV bằng giải phẫu bệnh, chưa được điều trị hóa chất, thuốc, phẫu thuật.

- Nhóm chứng: Phụ nữ hoàn toàn khỏe mạnh đến khám sức khỏe định kỳ.

+ Số lượng: Nhóm chứng: 30 mẫu. Nhóm bệnh: 40 mẫu, loại trừ bệnh nhân UTV thứ phát, bệnh nhân mắc kèm các ung thư khác.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: Từ tháng 12/2018 đến tháng 05/2019.

- Địa điểm: Bệnh phẩm được thu thập tại viện K cơ sở Tân triều. Định lượng các chỉ số CA 15-3, CEA, Cyfra 21-1 tại Khoa Hóa sinh – Bệnh viện Bạch Mai.

2.3. Phương pháp nghiên cứu:

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

Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 22.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Về tuổi và tỷ lệ mắc bệnh theo độ tuổi

Bảng 3. 1. Tuổi trung bình và tỷ lệ mắc bệnh theo độ tuổi của bệnh nhân UTV

Độ tuổi		<40	40-60	>60	p
Tỷ lệ mắc bệnh và tuổi TB	n	4/40 (10%)	24/40 (60%)	12/40 (30%)	< 0.001
	$\bar{X} \pm SD$	54,13 ± 1,96			

Nhận xét: Trong nhóm UTV, tuổi trung bình của bệnh nhân là 54,13 ± 1,96 (năm).

- Nhóm có độ tuổi từ 40 - 60, tỷ lệ mắc bệnh cao nhất (60%), rồi đến nhóm > 60 tuổi (30%), thấp nhất ở nhóm <40 tuổi (10%), sự khác biệt về tỷ lệ mắc bệnh ở ba nhóm tuổi là có ý nghĩa thống kê với p < 0,001.

3.1.2. Về kết quả giải phẫu bệnh

Bảng 3. 2. Tỷ lệ bệnh nhân ung thư vú theo kết quả giải phẫu bệnh

Thể bệnh	n	%
Carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu	16	53,33
Carcinoma biểu mô ống xâm nhập	9	30
Thể khác	5	16,67

Nhận xét: Trong nhóm UTV - Tỷ lệ bệnh nhân bị carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu chiếm tỷ lệ cao nhất (53,33%). Tỷ lệ bệnh nhân bị carcinoma biểu mô ống xâm nhập đứng thứ hai (30%)

- Số bệnh nhân còn lại mắc UTV thuộc thể khác như carcinoma thể nội ống, carcinoma thể nhầy chiếm tỷ lệ thấp (16,67%).

3.1.3. Tỷ lệ tăng nồng độ các dấu ấn khối u trên bệnh nhân ung thư vú

Bảng 3. 3. Tỷ lệ bệnh nhân UTV có nồng độ CA 15-3, CEA và Cyfra 21-1 tăng

Dấu ấn khối u	n	Số BN có nồng độ dấu ấn tăng	%	Giá trị tham chiếu
Cyfra 21-1 (ng/mL)	40	28	70	<3,3
CA 15-3 (U/mL)	40	13	32,5	<25
CEA (ng/mL)	40	5	12,5	<4,3

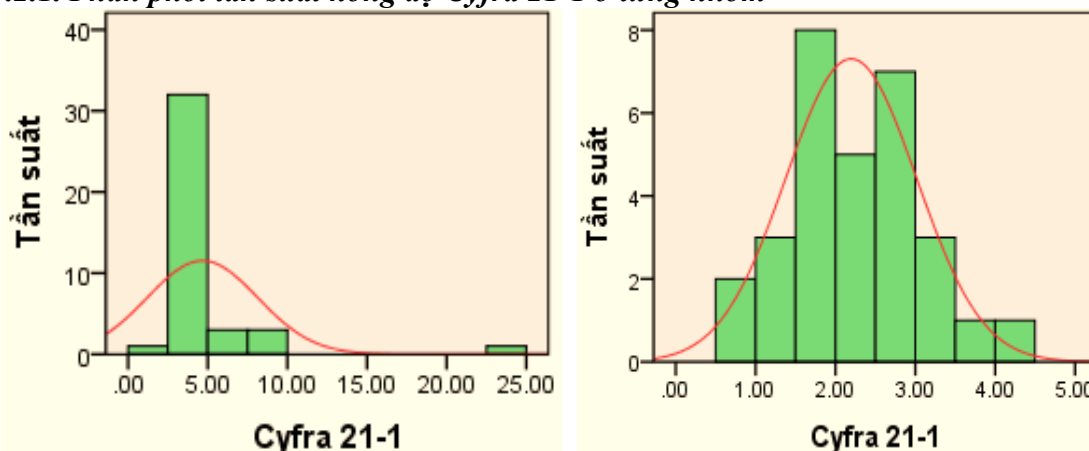
Nhận xét: Ở bệnh nhân UTV - Có 28/40 (70%) bệnh nhân có nồng độ Cyfra 21-1 tăng cao hơn giá trị tham chiếu.

- Có 13/40 (32,5%) bệnh nhân có nồng độ CA 15-3 tăng cao hơn giá trị tham chiếu.

- Có 5/40 (12,5%) bệnh nhân có nồng độ CEA tăng cao hơn giá trị tham chiếu.

3.2. Khảo sát nồng độ Cyfra 21-1 ở các nhóm nghiên cứu

3.2.1. Phân phối tần suất nồng độ Cyfra 21-1 ở từng nhóm



Biểu đồ 3. 2. Phân phối nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm bệnh (trái) và nhóm chứng (phải).

Nhận xét: - Nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm bệnh có xu hướng lệch trái tập trung ở khoảng 3÷10 ng/mL.

- Nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm chứng phân phối chuẩn tập trung từ 1,5÷3 ng/mL.

3.2.2. Nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương ở nhóm ung thư vú so với nhóm chứng

Bảng 3. 4. So sánh nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm UTV với nhóm chứng

	Nhóm UTV (n=40)	Nhóm chứng (n=30)	p
Cyfra 21-1 (ng/mL)	2,63- 3,72 -8,30	0,99- 2,08 – 3,62	< 0,001

Nhận xét: Nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm bệnh nhân UTV tăng cao so với nhóm chứng, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê (p <0,001).

3.2.3. Kết quả nồng độ Cyfra 21-1 của bệnh nhân ung thư vú theo độ tuổi

Bảng 3. 5. Nồng độ Cyfra 21-1 của bệnh nhân UTV theo độ tuổi

Độ tuổi (năm)	n	Cyfra 21-1 (ng/mL) (5% -Trung vị -95%)	p
<40	4	3,08 – 3,65 – 7,16	0,151
40-60	24	2,56 – 3,66 – 5,67	
>60	12	2,67 – 4,61 – 15,17	

Nhận xét: Ở bệnh nhân UTV, về giá trị tuyệt đối, có khác biệt về nồng độ Cyfra 21-1 giữa các độ tuổi. Tuy nhiên sự khác biệt lại không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2.4. Nồng độ Cyfra 21-1 của bệnh nhân ung thư vú theo kết quả giải phẫu bệnh

Bảng 3. 6. Nồng độ Cyfra 21-1 theo phân loại giải phẫu bệnh của bệnh nhân UTV

Kết quả giải phẫu bệnh	Cyfra 21-1 (ng/mL) (5% -Trung vị -95%)	p
Carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu độ II	2,50 – 3,73 – 6,95	0,693
Carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu độ III	2,72 – 4,29 – 20,84	
Carcinoma biểu mô ống xâm nhập độ II	2,76 – 3,4 – 7,29	
Carcinoma biểu mô ống xâm nhập độ III	3,03 – 4,28 – 8,82	
Thể khác	3,52 – 4,37 – 4,82	

Nhận xét: - Nhóm carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu độ III có nồng độ Cyfra 21-1 cao hơn so với độ II.

- Nhóm carcinoma biểu mô thể ống xâm nhập đặc hiệu độ III có nồng độ Cyfra 21-1 cao hơn so với độ II. Có khác biệt về nồng độ Cyfra 21-1 giữa các nhóm bệnh, nồng độ này tăng theo mức độ mô học từng nhóm bệnh. Tuy nhiên, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3. Tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 với nồng độ CA 15-3, CEA ở bệnh nhân ung thư vú

3.3.1. Kết quả nồng độ CA 15-3, CEA của nhóm UTV so với nhóm chứng

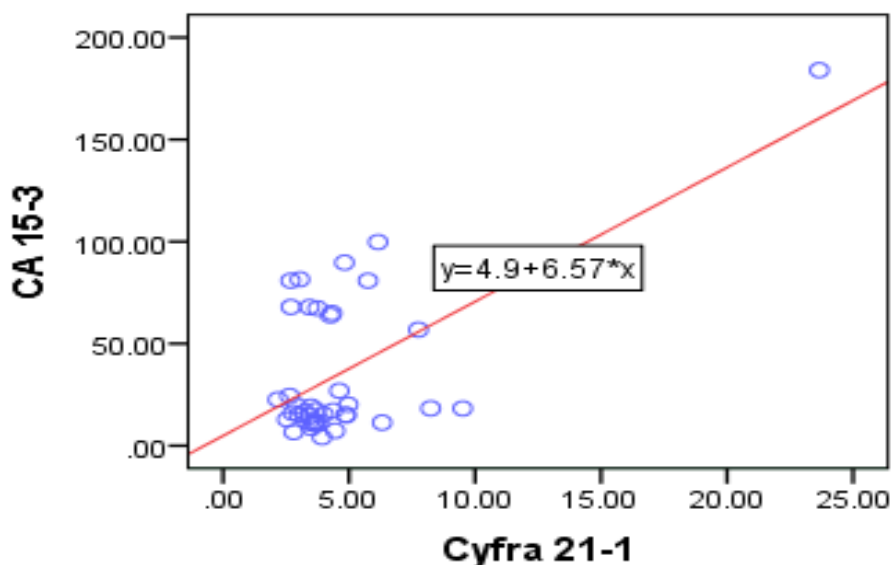
Bảng 3. 7. So sánh nồng độ CA 15-3 và CEA ở 2 nhóm nghiên cứu

Dấu ấn khối u	Nhóm UTV (40)	Nhóm chứng (30)	p
CA 15-3 (U/mL) (5% -Trung vị- 95%)	7,26 – 17,81 – 90,2	5,27 – 13,0 – 22,48	0,03
CEA (ng/mL) (5% -Trung vị- 95%)	0,79 -1,99 – 7,46	0,99 – 2,29 – 3,46	0,420

Nhận xét: - Nồng độ CA 15-3 huyết tương ở nhóm bệnh tăng cao so với nhóm chứng, sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

- Không thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ CEA giữa 2 nhóm ($p > 0,05$).

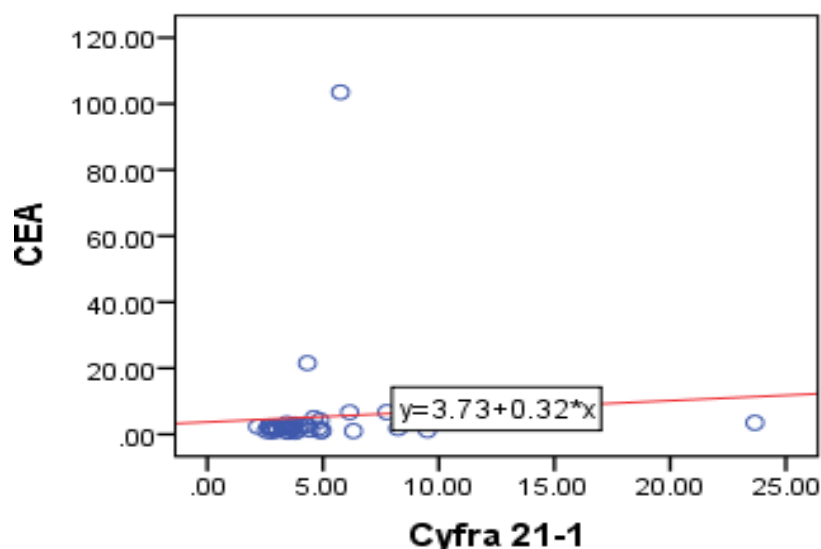
3.3.2. Tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CA 15-3 ở bệnh nhân ung thư vú



Biểu đồ 3.3. Mối tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CA 15-3

Nhận xét: Phương trình tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và CA 15-3 là $y = 4.9 + 6.57x$, $r = 0,616$. Có mối tương quan tương đối chặt giữa nồng độ Cyfra 21-1 và CA 15-3 ở bệnh nhân UTV ($p < 0,001$).

3.3.3. Mối tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CEA ở bệnh nhân ung thư vú



Biểu đồ 3.4. Mối tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CEA

Nhận xét: Phương trình tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và CEA: $y = 3.73 + 0.32x$, $r = 0,069$ ($p > 0,05$). Không có tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 và CEA ở bệnh nhân UTV.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Về đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

4.1.1. Đặc điểm tuổi ở bệnh nhân ung thư vú

Bảng 3.1 cho thấy trong số những bệnh nhân UTV, nhóm có độ tuổi 40-60 chiếm tỉ lệ cao nhất tới 60%, nhóm có độ tuổi >60 chiếm 30% và thấp nhất là nhóm có độ tuổi <40 chỉ chiếm 10%, sự khác biệt về tỷ lệ mắc bệnh giữa các nhóm tuổi là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

Tuổi trung bình của bệnh nhân UTV trong nghiên cứu của chúng tôi là $54,13 \pm 1,96$ (năm), kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Bunzo Nakata và CS (2000) nghiên cứu trên 100 bệnh nhân UTV thấy tuổi trung bình là $54,8 \pm 11,3$ (năm) [4], Luca Giovanella và CS (2002) thấy tuổi trung bình của bệnh nhân UTV là $53,6 \pm 10,6$ (năm) [7].

UTV gặp chủ yếu ở độ tuổi 40-60 và giảm dần sau độ tuổi 60 do UTV có liên quan đến tuổi mãn kinh ở phụ nữ. Sau mãn kinh chức năng buồng trứng suy giảm dẫn đến giảm sản xuất estrogen, ảnh hưởng đến tỷ lệ tăng sinh tế bào, cụ thể estrogen thúc đẩy sự phát triển của hệ thống ống làm tăng nguy cơ UTV do việc kích thích tăng sinh các tế bào chưa biệt hóa, nồng độ hormon này giảm dần làm giảm tỷ lệ UTV ở phụ nữ sau mãn kinh.

4.1.2. Về kết quả giải phẫu bệnh ở bệnh nhân ung thư vú

Bảng 3.2 cho thấy đa số bệnh nhân UTV thuộc nhóm carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu chiếm 53,33 % (16/30), tiếp theo là carcinoma biểu mô ống xâm nhập 30% (9/30), còn lại là các thể khác. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt so với nghiên cứu của Nguyễn Ngọc Trung và CS (2017) [3]: carcinoma biểu mô ống xâm nhập chiếm tỷ lệ cao nhất là 80% (41/50) và

các thể khác chiếm 20%, Trần Đức Hùng và CS (2015) [2] cũng cho thấy tỷ lệ carcinoma biểu mô ống xâm nhập chiếm tỷ lệ cao nhất là 73,3 % (55/75). Tuy nhiên, carcinoma biểu mô ống xâm nhập và carcinoma biểu mô xâm nhập không đặc hiệu vẫn là các thể hay gặp trên lâm sàng.

4.2. Bàn về nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương ở bệnh nhân ung thư vú

4.2.1. Nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương ở nhóm UTV và nhóm chứng

Bảng 3.4 cho thấy: Nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương ở nhóm UTV có trung vị là 3,72 ng/mL. cao hơn so với nghiên cứu của Giovanella và CS (2002) thấy nồng độ Cyfra 21-1 trung bình là 2,9 ng/mL [7]. Kết quả chênh lệch như vậy có thể do phương pháp định lượng nồng độ các dấu ấn khác nhau giữa các nghiên cứu, chúng tôi sử dụng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang (ECLIA- Electro ChemiLuminescence Immuno Assay) để định lượng nồng độ dấu ấn khối u, trong khi Giovanella lại sử dụng kỹ thuật miễn dịch phóng xạ (IRMA – ImmunoRadioMetric Assay).

Bảng 3.4 cũng cho biết nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm UTV cao gấp gần hai lần nhóm chứng, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Kết quả này phù hợp với kết quả của các nghiên cứu trước đều nhận thấy có sự tăng nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm bệnh so với nhóm chứng và khác biệt là có ý nghĩa thống kê. Chính vì vậy, có thể nói nồng độ Cyfra 21-1 tăng cao báo hiệu khả năng bị UTV.

Hơn nữa kết quả bảng 3.3 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân UTV có nồng độ Cyfra 21-1 tăng cao so với giá trị tham chiếu chiếm tới 70%, trong khi tỷ lệ bệnh nhân UTV có nồng độ CA 15-3 tăng là 32,5% và CEA tăng là 12,5%. Cần nghiên cứu thêm với cỡ mẫu lớn

hơn với các giai đoạn khác nhau của UTV để hiểu rõ hơn giá trị chẩn đoán UTV của Cyfra 21-1.

4.2.2. Nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương theo độ tuổi

Bảng 3.5 cho thấy ở cả hai nhóm, nồng độ Cyfra 21-1 đều khác biệt không có ý nghĩa thống kê khi đánh giá theo nhóm tuổi. Các nghiên cứu trước đây không khảo sát nồng độ Cyfra 21-1 theo đặc điểm này của bệnh nhân. Do vậy có thể đưa ra nhận xét là không cần hiệu chỉnh ngưỡng chẩn đoán Cyfra 21-1 theo độ tuổi ở bệnh nhân UTV.

4.2.3. Nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương theo kết quả giải phẫu bệnh

Bảng 3.6 cho thấy nồng độ Cyfra 21-1 khác nhau giữa các nhóm bệnh và tăng theo mức độ mô học trong từng nhóm bệnh. Độ mô học là một yếu tố tiên lượng quan trọng mặc dù nó không được sử dụng để đánh giá giai đoạn. Độ mô học dựa vào sự hình thành ống nhỏ, sự đa hình thái của nhân và hoạt động nhân chia áp dụng cho ung thư biểu mô xâm nhập. UTV được chia làm 3 độ: độ ác tính thấp, trung bình và cao, áp dụng hệ thống chia độ này cho thấy tỷ lệ sống thêm sau 5 năm với u có độ mô học 1 là 79%, độ 3 là 25%. Tỷ lệ sống thêm 10 năm giảm xuống còn 45% ở u có độ mô học 1 và 13% ở u có độ mô học 3. Như vậy, nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương tăng liên quan đến mức độ bệnh và giá trị nồng độ Cyfra 21-1 giúp tiên lượng ở bệnh nhân UTV.

4.3. Về mối tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 với nồng độ CA 15-3, CEA.

4.3.1. Kết quả nồng độ CA 15-3, CEA ở nhóm UTV và nhóm chứng

Bảng 3.9 cho thấy nồng độ CA 15-3 ở nhóm UTV có trung vị là 17,81 U/mL, thấp hơn kết quả của Samy (2010) ($35,6 \pm 0,6$) [8], Giovanella và CS (2002) (28,8 U/mL)

[7] và Nguyễn Ngọc Trung (2017) ($23,15 \pm 22,51$ U/mL) [3]. Ở các nghiên cứu trên sự khác biệt về nồng độ CA15-3 huyết tương giữa nhóm chứng và bệnh đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Nồng độ CEA ở nhóm UTV có trung vị là 1,99 ng/mL, thấp hơn kết quả của các tác giả Giovanella (2002) (4,2 ng/mL) [7], Samy (2010) ($4,3 \pm 0,7$ ng/mL) [8] và Nguyễn Ngọc Trung (2017) ($8,45 \pm 5,34$ ng/mL) [3]. Sự khác biệt về nồng độ CEA giữa nhóm chứng và nhóm bệnh trong nghiên cứu của các tác giả kể trên là có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi lại thấy không có khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Sở dĩ có khác biệt trong kết quả nghiên cứu như vậy có thể do cỡ mẫu khác nhau giữa các nghiên cứu, giai đoạn bệnh khi bệnh nhân được lựa chọn vào nghiên cứu có thể khác nhau.

4.3.2. Sự tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1, CA 15-3 và CEA ở bệnh nhân ung thư vú

Kết quả từ phần 3.3.2 cho thấy có tương quan tương đối chặt giữa nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương và nồng độ CA 15-3 huyết tương ở bệnh nhân UTV ($r=0.616$, $p < 0,001$). Kết quả này cao hơn kết quả của Nakata và CS (2000) ($r=0.255$, $p < 0,05$) [4].

Kết quả từ phần 3.3.3 cho thấy không có tương quan giữa nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương và nồng độ CEA huyết tương ở bệnh nhân UTV ($r=0,069$, $p > 0,05$). Kết quả này phù hợp với kết quả của Nakata và CS (2000) ($r=0,058$, $p > 0,05$) [4].

+ Về sự cần thiết của việc định lượng Cyfra 21-1 ở bệnh nhân ung thư vú

UTV là ung thư khá phổ biến ở phụ nữ, nó ảnh hưởng tiêu cực đến sức khỏe và thậm chí là gây tử vong cho nhiều phụ nữ. Về

phương diện hóa sinh lâm sàng, hiện nay những xét nghiệm dấu ấn khối u trong UTV còn chưa nhiều và còn có những hạn chế.

Cho tới nay, xét nghiệm Cyfra 21-1 được biết đến trên lâm sàng chủ yếu với vai trò dấu ấn khối u trong ung thư phổi tế bào không nhỏ. Tuy nhiên, gần đây, những nghiên cứu trên thế giới cũng như nghiên cứu của chúng tôi cho thấy xét nghiệm Cyfra 21-1 có giá trị nhất định trong UTV. Cyfra 21-1 với phương pháp định lượng tiên tiến, lấy mẫu và phân tích không phức tạp, có thể thực hiện dễ dàng trên các máy xét nghiệm miễn dịch phổ biến hiện nay, thêm vào đó giá xét nghiệm tương đối rẻ. Chính vì vậy việc triển khai xét nghiệm Cyfra 21-1 ở bệnh nhân UTV là cần thiết và khả thi.

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu nồng độ Cyfra 21-1 huyết tương trên 40 bệnh nhân UTV và 30 phụ nữ khỏe mạnh làm nhóm chứng, chúng tôi có kết luận sau:

1. Nồng độ Cyfra 21-1 ở nhóm UTV cao hơn so với nhóm chứng (3.72 ng/mL so với 2.08 ng/mL), khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0.001$.

2. Ở bệnh nhân ung thư vú

- Nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CA 15-3 có tương quan tương đối chặt ($r = 0,616$, $p < 0,001$).

- Nồng độ Cyfra 21-1 và nồng độ CEA không có tương quan với nhau ($r=0,069$, $p > 0,05$).

Đây mới là những nghiên cứu đầu tiên về Cyfra 21-1 ở bệnh nhân UTV tại Việt Nam, với số mẫu còn ít và chưa được nghiên cứu trên các giai đoạn của bệnh. Do vậy, cần nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và trong các

giai đoạn khác nhau của UTV nhằm tìm hiểu rõ hơn về giá trị nồng độ Cyfra 21-1 trong UTV.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] **Nguyễn Văn Hiếu**, Ung thư học. Nhà xuất bản Y học, 2015.
- [2] **Trần Đức Hùng**, “Ứng dụng kỹ thuật hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán, phân loại ung thư vú và định hướng điều trị,” Hội nghị khoa học ngành y tế Nghệ An mở rộng, 2015.
- [3] **Nguyễn Ngọc Trung**, “Nhận xét mối liên quan các chất đánh dấu khối u CEA, CA 15-3, CA 125 với một số đặc điểm lâm sàng và mô bệnh học ung thư vú.,” Tạp chí Y - Dược học quân sự, no. 4, 2017
- [4] **Bunzo Nakata et al**, “Serum CYFRA 21-1 is One of the Most Reliable Tumor Markers for Breast Carcinoma,” 2000
- [5] **International Agency for Research on Cancer**, “Graphic Inc.pdf,” 2018.
- [6] **International Agency for Research on Cancer**, “Graphic Morth .pdf.” 2018
- [7] **Luca Giovanella; et al**, “Serum Cytokeratin Fragment 21.1 (CYFRA 21.1) as Tumour Marker for Breast Cancer: Comparison with Carbohydrate Antigen 15.3 (CA 15.3) and Carcinoembryonic Antigen (CEA),” Clin. Biochem., 2002.
- [8] **Nervana Samy**, “Prognostic significance of serum Her2/neu, BCL2, CA15-3 and CEA in breast cancer patients: A short follow-up,” Cancer Biomarkers, 2010.
- [9] **Samia A. Ebied; et al**, “Alexandria University Faculty of Medicine Serum CYFRA 21-1 in Egyptian women with breast cancer,” Alexandria Journal of Medicine, vol. 53, no. 1, pp. 41–47, 2017

KHẢO SÁT TỶ LỆ NHIỄM HPV Ở PHỤ NỮ CÓ KẾT QUẢ TẾ BÀO HỌC CỔ TỬ CUNG BẤT THƯỜNG VỚI HAI PHƯƠNG PHÁP APTIMA HPV VÀ REALTIME PCR HPV

Luu Nguyễn Trung Thông*, Nguyễn Thị Băng Sương**/**,
Huỳnh Giang Châu***, Ngô Quốc Đạt**,
Lê Nguyễn Thảo Phương****, Nguyễn Hữu Huy*, Lê Minh Khôi */**

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Nguyên nhân chính gây nên nhiễm hạ UTCTC là vi rút u nhú ở người (HPV – Human Papilloma Virus), một tác nhân lây truyền qua đường tình dục. Hiện nay có rất nhiều phương pháp để phát hiện nhiễm vi rút HPV. Các xét nghiệm sinh học phân tử đã mở ra một cuộc cách mạng mới trong nghiên cứu và chẩn đoán lâm sàng, tuy nhiên việc phát hiện HPV DNA có thể chỉ cho thấy tình trạng nhiễm vi rút thoáng qua, không có nghĩa là tiền ung thư hoặc UTCTC. Vì vậy, một số phương pháp xét nghiệm dựa trên việc phát hiện mRNA từ các gen gây ung thư E6/E7 của HPV các tốp nguy cơ cao đã được phát triển, đó là xét nghiệm Atipma HPV.

Mục tiêu nghiên cứu: Xác định tỷ lệ nhiễm HPV ở phụ nữ có kết quả tế bào học cổ tử cung bất thường theo 2 phương pháp (Atipma HPV và Realtime PCR HPV).

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả trên 104 bệnh nhân nữ đến khám tại Bệnh viện Hùng Vương, từ tháng 03/2020 tới

tháng 07/2020 có kết quả tế bào học cổ tử cung Thinprep bất thường.

Kết quả: Xét nghiệm Aptima HPV phát hiện 53 ca dương tính /104 ca có kết quả tế bào học bất thường (chiếm tỷ lệ 51,0%) và Realtime PCR HPV phát hiện 64 ca dương tính /104 ca có kết quả tế bào học bất thường (chiếm tỷ lệ 61,5%).

Kết luận: Xét nghiệm Realtime PCR HPV có tỷ lệ dương tính cao hơn Aptima HPV trên nhóm phụ nữ có tế bào học cổ tử cung bất thường, tuy nhiên nguy cơ mắc tổn thương cổ tử cung trên mức ASC-US khi xét nghiệm HPV mRNA dương tính cao hơn so với khi xét nghiệm HPV DNA dương tính

Từ khóa: Ung thư cổ tử cung, Human Papilloma Virus, Atipma HPV, Realtime PCR HPV.

SUMMARY

DETERMINATION OF HPV IN WOMEN WITH ABNORMAL CERVICAL CYTOLOGY RESULTS WITH TWO METHODS APTIMA HPV AND REALTIME PCR HPV

Background: The main cause of cervical cancer is the human papilloma virus (HPV), a sexually transmitted agent. Currently, there are many methods to detect HPV infection. Molecular biology tests have ushered in a new revolution in clinical research and diagnosis, but detection of HPV DNA may indicate transient viral infection, not premalignant or cervical cancer. Therefore, a method based on the detection of mRNA from the E6/E7 oncogenes of

*Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM

**Đại học Y Dược TP.HCM

***Bệnh viện Hùng Vương

****Trường THPT chuyên Lê Hồng Phong TP.HCM

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Băng Sương

Email: suong.ntb@umc.edu.vn

Ngày nhận bài:

Ngày phản biện khoa học:

Ngày duyệt bài:

high-risk HPV types have been developed, namely the Atipma HPV test.

Objective: The aim of the study was to determine HPV infection rate in women with abnormal cervical cytology results by 2 methods (Atipma HPV and Realtime PCR HPV).

Methods: A descriptive cross-sectional study was conducted with 104 female patients who visited Hung Vuong Hospital from March 2020 to July 2020 and had abnormal Thinprep cervical cytology results.

Result: Aptima HPV test detected 53 positive cases / 104 cases with abnormal cytology results (51.0%) and Realtime PCR HPV detected 64 positive cases /104 cases with abnormal cytology results (61.5%).

Conclusion: Realtime PCR HPV test has a higher positive rate than Aptima HPV in women with abnormal cervical cytology, but the risk of cervical lesions above ASC-US level with positive HPV mRNA test result is higher than positive HPV DNA test result.

Key words: Cervical cancer, Human Papilloma Virus, Atipma HPV, Realtime PCR HPV.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Tổ chức Y tế Thế giới, Ung thư cổ tử cung (UTCTC) là loại ung thư phổ biến đứng hàng thứ tư ở nữ giới. Nguyên nhân chính gây nên hiểm họa UTCTC là vi rút u nhú ở người (HPV – Human Papilloma Virus), một tác nhân lây truyền qua đường tình dục. Việc phát hiện HPV DNA có thể chỉ cho thấy tình trạng nhiễm vi rút thoáng qua, không có nghĩa là tiền ung thư hoặc UTCTC [3], [4]. Vì vậy, xét nghiệm Aptima HPV dựa trên việc phát hiện mRNA từ các gen gây ung thư E6/E7 của HPV các týp nguy cơ cao đã được phát triển nhằm góp phần giảm gánh nặng bệnh tật và chi phí chăm sóc sức khỏe liên quan đến soi cổ tử cung [6]. Nghiên cứu tiến hành nhằm so sánh

tỷ lệ dương tính với xét nghiệm Aptima HPV và xét nghiệm Realtime PCR HPV trên nhóm phụ nữ có phát hiện bất thường tế bào học cổ tử cung.

Mục tiêu nghiên cứu: *Xác định tỷ lệ nhiễm HPV ở phụ nữ có kết quả tế bào học cổ tử cung bất thường theo 2 phương pháp (Atipma HPV và Realtime PCR HPV).*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Bệnh nhân nữ đến khám tại Bệnh viện Hùng Vương, từ tháng 03/2020 tới tháng 07/2020 có kết quả tế bào học cổ tử cung Thinprep bất thường.

Tiêu chuẩn nhận vào

- Bệnh nhân trên 18 tuổi đến khám tại bệnh viện Hùng Vương có kết quả tế bào học Thinprep bất thường.

- Bệnh nhân có chỉ định làm xét nghiệm Aptima HPV.

- Bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân mang thai.

- Bệnh nhân đã được điều trị đốt hoặc khoét chóp, hoặc cắt cổ tử cung.

- Bệnh nhân từ chối tham gia nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả

Cỡ mẫu: Cỡ mẫu được ước lượng theo công thức:

Nhiều nghiên cứu trên thế giới có sự khác biệt về tỷ lệ p (55- 75%). Ở Việt Nam, nghiên cứu năm 2016 của tác giả Nguyễn Ngọc Lâm thực hiện tại bệnh viện Đại học Y Dược cơ sở 2 trên cùng đối tượng cho tỷ lệ là 63,2% [1]. Do đó, nghiên cứu lựa chọn $p = 0,632$, $d = 0,1$. Kết quả tính được $N = 90$.

Phương pháp lấy mẫu: Thu thập thông tin từ phiếu chỉ định xét nghiệm, hồi cứu kết quả xét nghiệm HPV Aptima và tế bào học cổ tử

cung Thinprep, thực hiện xét nghiệm Realtime PCR HPV.

Thu thập và xử lý số liệu. Sau khi thu thập số liệu, chúng tôi tiến hành tổng hợp, phân tích, xử lý số liệu và viết báo cáo. Các số liệu sẽ được nhập và xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS phiên bản 20.0.

Giấy phép Y đức

Nghiên cứu này được thông qua bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học Đại học Y Dược TP.HCM, số 758/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 24/10/2020 và Chấp thuận của Ban Giám đốc BV. PSQTSG theo Quyết định số 57/11/QĐ-TCBV.20 ngày 27/11/2020.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trên 104 mẫu nghiên cứu, nhóm tế bào

học cổ tử cung ASC-US là cao nhất, gồm 67/104 ca (chiếm 64,4%), nhóm LSIL cao thứ hai gồm 29/104 ca (chiếm 27,9%) và nhóm có bất thường từ mức HSIL trở lên là thấp nhất, gồm 8/104 ca (chiếm 7,7%). Tỷ lệ các đối tượng có bất thường tế bào học cổ tử cung trên mức ASC-US là 37/104 ca (chiếm 35,6%).

Khi thực hiện hai phương pháp xét nghiệm phát hiện vi rút HPV, chúng tôi ghi nhận 53/104 ca dương tính với xét nghiệm Aptima HPV (chiếm 51,0%) và 64/104 ca dương tính với xét nghiệm Realtime PCR HPV (chiếm 61,5%). Trong đó, có 01 trường hợp xét nghiệm Aptima HPV cho kết quả dương tính nhưng Realtime PCR cho kết quả âm tính, 14 trường hợp Aptima HPV âm tính nhưng Realtime PCR dương tính.

Bảng 1: Mối liên quan giữa các bất thường TBH CTC và xét nghiệm phát hiện HPV mRNA

TBH CTC	HPV mRNA				Giá trị p	PR	KTC 95%
	Âm tính		Dương tính				
	n	%	n	%			
ASC-US	41	80,4	26	49,1	0,001	4,26	1,24 – 10,23
≥ LSIL	10	19,6	27	50,9			
Tổng cộng	51	100,0	53	100,0			

Với kết quả trên, chúng tôi nhận thấy giữa các đối tượng có và không phát hiện HPV mRNA trên mẫu bệnh phẩm, sự khác biệt về bất thường TBH CTC có ý nghĩa thống kê với kiểm định Chi bình phương $p = 0,001 < 0,05$. Nguy cơ mắc tổn thương trên mức ASC-US tăng gấp 4,26 lần khi xét nghiệm phát hiện mRNA HPV dương tính.

Bảng 2: Mối liên quan giữa các bất thường TBH CTC và xét nghiệm phát hiện HPV DNA

TBH CTC	HPV DNA				Giá trị p	PR	KTC 95%
	Âm tính		Dương tính				
	n	%	n	%			
ASC-US	32	80,4	35	54,7	0,009	3,31	1,32 – 8,30
≥ LSIL	8	19,6	29	45,3			
Tổng cộng	40	100,0	64	100,0			

Giữa các đối tượng có và không phát hiện HPV DNA trên mẫu bệnh phẩm, sự khác biệt về bất thường TBH CTC có ý nghĩa thống kê với kiểm định Chi bình phương $p = 0,009 < 0,05$. Nguy cơ mắc tổn thương trên mức ASC-US tăng gấp 3,31 lần khi xét nghiệm phát hiện HPV DNA dương tính.

IV. BÀN LUẬN

Bảng 3: Tỷ lệ dương tính với HPV DNA ở các nhóm bất thường TBH CTC khi sử dụng phương pháp Realtime PCR trong một số nghiên cứu

Tên tác giả và nơi nghiên cứu	Tỷ lệ dương tính Realtime PCR HPV DNA ở các nhóm bất thường TBH CTC (%)		
	ASC-US	LSIL	≥ HSIL
Nghiên cứu này	52,2	79,3	75,0
Nguyễn Ngọc Lâm (Việt Nam, 2016) [1].	46,3	85,7	100,0
Al-Awadhi (Kuwait, 2013) [2].	46,0	89,0	74,0
Salimovic Irma (Bosnia và Herzegovina, 2013) [7].	45,2	63,2	75,6

Trong nghiên cứu của chúng tôi, xét nghiệm Realtime PCR tìm HPV DNA với đoạn mồi GP5+/GP6+ cho kết quả dương tính 64/104 mẫu nghiên cứu. Tỷ lệ nhiễm HPV ở nhóm ASC-US chiếm 52,2%, nhóm LSIL là 79,3% và nhóm ≥ HSIL là 75%. So sánh với các nghiên cứu cùng sử dụng kỹ thuật Realtime PCR, các kết quả có sự tương đồng. Tại Việt Nam, nghiên cứu của tác giả Nguyễn Ngọc Lâm năm 2016 cho thấy tỷ lệ dương tính HPV DNA ở nhóm ASC-US, LSIL, HSIL lần lượt là 46,3%, 85,7% và 100% [1]. Nghiên cứu của Al-Awadhi năm 2013 tại Kuwait cũng có kết quả tương đồng với tỷ lệ nhiễm HPV DNA ở nhóm ASC-US là 46%. Tỷ lệ này ở nhóm LSIL là 89% và

nhóm ≥ HSIL là 74% [2]. Trong cùng năm 2013, tác giả Irma Salimovic và các cộng sự công bố tỷ lệ nhiễm HPV trên 147 đối tượng có bất thường TBH CTC bằng phương pháp Realtime PCR. Các nhóm ASC-US, LSIL, HSIL trong nghiên cứu có tỷ lệ dương tính HPV DNA lần lượt là 45,2%, 63,2% và 75,6% [7]. Đối với các nghiên cứu trên phụ nữ có bất thường TBH CTC sử dụng các phương pháp phát hiện HPV DNA khác, kết quả không có nhiều thay đổi. Mức độ bất thường TBH CTC càng cao thì tỷ lệ nhiễm HPV càng tăng. Điều này càng cho thấy rõ vai trò của HPV trong các biến đổi tiền ung thư và UTCTC.

Bảng 4: Tỷ lệ dương tính với HPV mRNA ở các nhóm bất thường TBH CTC khi sử dụng phương pháp Aptima HPV trong một số nghiên cứu

Tên tác giả và nơi nghiên cứu	Tỷ lệ dương tính Aptima HPV mRNA ở các nhóm bất thường TBH CTC (%)		
	ASC-US	LSIL	≥ HSIL
Nghiên cứu này	36,0	75,9	62,5
Ge Yimin (Hoa Kỳ, 2017) [5]	51,0	63,0	97,0
Stoler (Hoa Kỳ, 2013) [8] (chỉ trên nhóm ASC-US)	42,0		

Xét nghiệm Aptima HPV phát hiện mRNA HPV trong nghiên cứu của chúng tôi chỉ cho kết quả dương tính 53/104 mẫu nghiên cứu (51,0%). Tỷ lệ dương tính với HPV ở nhóm ASC-US là 36%, nhóm LSIL là 75,9% và nhóm ≥ HSIL là 62,5%. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Stoler năm 2013 trên đối tượng có bất thường TBH ASC-US cho tỷ lệ dương tính ở nhóm này là 42% [8]. Năm 2017, tác giả Yimin Ge phân tích xét nghiệm Aptima HPV trên 175 đối tượng. Tỷ lệ dương tính HPV mRNA ở các nhóm ASC-US, LSIL, ≥ HSIL lần lượt là 51%, 63% và 97% [5].

Ngoài ra, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nguy cơ mắc tổn thương trên mức ASC-US sẽ tăng gấp 4,26 lần khi xét nghiệm phát hiện mRNA HPV dương tính (Bảng 1). Tỷ lệ này cao hơn so với khi xét nghiệm Realtime PCR HPV là 3,31 lần (Bảng 2). Điều này là hợp lý vì xét nghiệm mRNA HPV dương tính trong giai đoạn biểu hiện gen E6/E7 của vi rút, giúp phân biệt được các trường hợp nhiễm dai dẳng có thể kèm các biến đổi về tế bào cổ tử cung.

V. KẾT LUẬN

Qua kết quả nghiên cứu cho thấy:

– Xét nghiệm Aptima HPV phát hiện 53 ca dương tính /104 ca có kết quả tế bào

học bất thường (chiếm tỷ lệ 51,0%) và Realtime PCR phát hiện 64 ca dương tính /104 ca có kết quả tế bào học bất thường (chiếm tỷ lệ 61,5%).

– Nguy cơ mắc tổn thương trên mức ASC-US khi xét nghiệm HPV mRNA dương tính cao hơn so với khi xét nghiệm HPV DNA dương tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Ngọc Lâm, (2016), "Kỹ thuật PCR trong xác định kiểu gen Human Papilloma Virus và mối tương quan với phết tế bào cổ tử cung bất thường", Tạp Chí Y học TP Hồ Chí Minh, 14 (2), tr. 45 - 47.
2. Al-Awadhi R, Chehadeh W, Jaragh M, Al-Shaheen A, et al, (2013), "Distribution of human papillomavirus among women with abnormal cervical cytology in Kuwait", Diagnostic cytopathology, 41 (2), pp. 107-114.
3. Bulkman N, Berkhof J, Rozendaal L, Van Kemenade F, et al, (2007), "Human papillomavirus DNA testing for the detection of cervical intraepithelial neoplasia grade 3 and cancer: 5-year follow-up of a randomised controlled implementation trial", The Lancet, 370 (9601), pp. 1764-1772.
4. Cuzick J, Clavel C, Petry K U, Meijer C J, et al, (2006), "Overview of the European and

- North American studies on HPV testing in primary cervical cancer screening", International journal of cancer, 119 (5), pp. 1095-1101.
5. **Ge Y, Christensen P, Luna E, Arnylagos D, et al, (2017)**, "Performance of Aptima and Cobas HPV testing platforms in detecting high-grade cervical dysplasia and cancer", Cancer Cytopathol, 125 (8), pp. 652-657.
6. **Parthiba Basu , et al, (2016)**, "Sensitivity of APTIMA HPV E6/E7 mRNA test in comparison with hybrid capture 2 HPV DNA test for detection of high risk oncogenic human papillomavirus in 396 biopsy confirmed cervical cancers", J Med Virol, 88 (7), pp. 1271-1278.
7. **Salimović-Bešić I, Tomić-Čiča A, Smailji A, Hukić M, (2013)**, "Comparison of the detection of HPV-16, 18, 31, 33, and 45 by type-specific DNA-and E6/E7 mRNA-based assays of HPV DNA positive women with abnormal Pap smears", Journal of virological methods, 194 (1-2), pp. 222-228.
8. **Stoler M H, Wright Jr T C, Cuzick J, Dockter J, et al, (2013)**, "APTIMA HPV assay performance in women with atypical squamous cells of undetermined significance cytology results", American journal of obstetrics and gynecology, 208 (2), pp. 140-144.

GIÁ TRỊ CỦA ADENOSIN DEAMINASE, IL-1 BETA, IL-2, TNF-ALPHA, INTERFERON- GAMMA TRONG DỊCH CHỌC DÒ GÓP PHẦN PHÁT HIỆN LAO NGOÀI PHỔI

Nguyễn Minh Hiền¹, Nguyễn Thị Thu Lê¹,
Lê Vũ Huyền Trang², Lê Thị Minh Hiền³

TÓM TẮT

Bệnh lao là vấn đề sức khỏe cộng đồng nghiêm trọng toàn cầu. Chẩn đoán lao ngoài phổi còn gặp nhiều khó khăn do tỷ lệ phát hiện vi khuẩn lao rất thấp. Phát hiện sự biến đổi Adenosin Desaminase (ADA), IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ (ở dịch chọc dò ổ bụng, khoang màng

phổi, dịch não tủy) được giải phóng từ các đại thực bào và bạch cầu đơn nhân có giá trị trong chẩn đoán bệnh lao. **Mục tiêu:** Xác định điểm cắt tối ưu của ADA, IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ ở các dịch chọc dò nhằm góp phần chẩn đoán lao màng phổi, màng bụng, màng não. **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu mô tả trên 386 bệnh nhân bị tràn dịch màng phổi (TDMP), 47 bệnh nhân tràn dịch màng bụng (TDMB), 134 bệnh nhân viêm não, màng não (VNMN) nghi do lao. ADA được xác định theo phương pháp động học enzym, Xét nghiệm định lượng nồng độ cytokine ở các dịch dựa trên nguyên lý Elisa cạnh tranh. **Kết quả:** Trong dịch chọc dò, hoạt độ ADA là 37,5 u/L; 30,5 u/L; 8,1 u/L có giá trị phân biệt

¹Bệnh viện Thanh Nhàn,

²Đại học Y Hà Nội,

³Đại Học Y Dược Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Minh Hiền

Email: hienshbvtn@gmail.com

Ngày nhận bài: 21.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 19.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

tương ứng LMP, LMB, LMN với độ nhạy và độ đặc hiệu là 87,7% và 83,4%; 100% và 88,9%; 97,3% và 98,6%. Nồng độ IFN- γ là 120 pg/mL, 200 pg/mL, 30 pg/mL có giá trị phân biệt tương ứng LMP, LMB, LMN có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 80,3 và 80,9; 80,0 và 92,6; 98,6 và 61,7. **Kết luận:** Xác định ADA và IFN- γ trong các dịch chọc dò là xét nghiệm có độ nhạy và độ đặc hiệu cao để phân biệt lao màng phổi, lao màng bụng, lao màng não.

Từ khóa: ADA, IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ , cytokine, lao màng phổi, màng bụng, màng não.

SUMMARY

VALUE OF ADENOSIN DEAMINASE, IL-1 BETA, IL-2, TNF-ALPHA, INTERFERON- GAMMA IN THE ASPIRATED FLUIDS CONTRIBUTES TO THE DETECTING EXTRAPULMONARY TUBERCULOSIS

Tuberculosis is a serious global public health problem. The diagnosis of extrapulmonary tuberculosis is difficult due to the very low rate of microbiological detection. Detecting of ADA, IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ changes in aspirated fluids released from macrophages and monocytes are valuable tests in the diagnosis of tuberculosis.

Objectives: determined the optimal ADA, IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ cut-off value for differentiating pleural tuberculosis, peritoneal tuberculosis, meningococcal tuberculosis.

Subject & methods: cross-sectional descriptive study on 386 patients with pleural effusion, 47 peritoneal effusion, 134 encephalitis, meningoencephalitis suspected of tuberculosis. ADA is determined by enzyme kinetic method. The cytokine concentration in the aspirated fluids is based on competitive Elisa principle. **Results:** In the aspirated fluids, the ADA activity of 37.5 u/L; 30.5 u/L; 8.1 u/L has the differential value of TB pleural tuberculosis, peritoneal

tuberculosis, meningococcal tuberculosis with sensitivity and specificity of 87.7% and 83.4%; 100% and 88.9%; 97.3% and 98.6%, respectively. The IFN- γ concentrations of 120 pg/mL, 200 pg/mL, 30 pg/mL has different values for pleural tuberculosis, peritoneal tuberculosis, meningococcal tuberculosis with sensitivity and specificity of 80.3 and 80.9, 80.0 and 92.6; 98.6 and 61.7 respectively.

Conclusion: Determination of ADA and IFN- γ in aspirated fluids is a highly sensitive and specific test to differentiate pleural tuberculosis, peritoneal tuberculosis, meningococcal tuberculosis.

Key word: ADA, IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ , cytokine, pleural tuberculosis, peritoneal tuberculosis, meningococcal tuberculosis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo thống kê của WHO, năm 2016, Việt Nam có 105.733 trường hợp lao được báo cáo, trong đó 102.725 ca lao mới mắc và lao tái phát. Tại Hà Nội, theo báo cáo của bệnh viện Phổi Hà Nội, trong năm 2016 có 2.845 trường hợp mắc lao được điều trị tại bệnh viện trong đó có 2.023 trường hợp lao phổi và 822 trường hợp lao ngoài phổi chiếm tỷ lệ 28,9%. Do các triệu chứng ban đầu thường âm ỉ, bệnh nhân hay đến muộn, mặt khác các phương pháp thăm dò hiện nay vẫn có hạn chế nhất định nên chẩn đoán lao ngoài phổi vẫn còn nhiều khó khăn. Nuôi cấy vi sinh vật được coi là tiêu chuẩn vàng nhưng độ nhạy không cao và cần từ 20 ngày trở lên để có kết quả. Tuyến phòng thủ đầu tiên chống lại M. tuberculosis liên quan đến việc kích hoạt các đại thực bào, đặc biệt là các tế bào lympho T hoạt hóa. Sự phát hành các cytokine tiền viêm như IL-1 β , TNF, IL-2 hoặc IFN- γ từ các đại thực bào và bạch cầu đơn nhân đóng vai trò quan trọng cho việc tiêu diệt và loại bỏ các vi sinh vật. ADA được tìm thấy trong

bach cầu mono và đại thực bào. Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng ADA được tiết ra bởi các tế bào trình diện kháng nguyên và có vai trò như một cytokine: hoạt hóa và làm tăng số lượng bạch cầu mono, đại thực bào và tế bào lympho T-CD4+ Tìm hiểu hoạt động của cytokine và các chất tham gia đáp ứng miễn dịch bệnh lao như ADA giúp cho việc chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh lao. Trên điều kiện thực tế về cơ sở vật chất và nguồn nhân lực, hy vọng có đánh giá khoa học về giá trị của kỹ thuật mới, góp phần chẩn đoán sớm bệnh lao ngoài phổi, nhóm nghiên cứu đã thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: *Xác định điểm cắt tối ưu của ADA, IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ trong các dịch chọc dò nhằm góp phần phân biệt lao màng phổi, màng bụng, màng não*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng.

Đối tượng nghiên cứu: 386 bệnh nhân bị tràn dịch màng phổi (TDMP), 47 bệnh nhân tràn dịch màng bụng (TDMB), 134 bệnh nhân viêm não, màng não (VNMN) nghi do lao được khám và điều trị tại bệnh viện Phổi Trung Ương, bệnh viện Phổi Hà Nội, bệnh viện Bạch Mai, bệnh viện Thanh Nhàn.

+ Tiêu chuẩn lựa chọn: bệnh nhân trên 15 tuổi đồng ý tham gia nghiên cứu

Bệnh nhân được chẩn đoán lao theo “Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị và dự phòng bệnh lao”, ban hành kèm Quyết định số 3126/QĐ-BYT ngày 23/5/2018 của Bộ trưởng Bộ Y Tế

+ Tiêu chuẩn loại trừ: Phụ nữ có thai; bệnh nhân có các bệnh về máu; bệnh nhân có các bệnh tự miễn, suy giảm miễn dịch; bệnh nhân suy kiệt...

2.2. Thời gian: Từ tháng 1/2018 đến tháng 1/2021

2.3. Địa điểm: Khoa Hóa sinh bệnh viện Thanh Nhàn

2.4. Phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

- Kỹ thuật thực hiện: Xét nghiệm đo hoạt độ ADA được thực hiện trên hệ thống máy AU 5800 Beckman Coulter, hóa chất Biosystem. Xét nghiệm định lượng nồng độ IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ được thực hiện trên hệ thống Elisa Biotek, hóa chất Human IL-1 β , IL-2, TNF- α , IFN- γ SimpleStep ELISA® Kit của Abcam.

- Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 16.0

2.5. Đạo đức nghiên cứu: NC được thông qua Hội đồng đạo đức vào 31/7/2018 tại bệnh viện Thanh Nhàn (quyết định số 88/BVTN-CĐT).

2.5. Kinh phí: Nghiên cứu được sử dụng kinh phí từ ngân sách của UBND thành phố Hà Nội

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm về nhóm nghiên cứu

Trong số 386 bệnh nhân bị tràn dịch màng phổi nghiên cứu có 234 ca TDMP do lao (chiếm 60,6%), 152 bệnh nhân TDMP không do lao thì tỷ lệ cao vẫn là viêm màng phổi 73 trường hợp (chiếm 18,9%), sau đó là các trường hợp ung thư (bao gồm cả ung thư màng phổi và ung thư khác di căn màng phổi) có 49 trường hợp (chiếm 12,7%), hiếm gặp hơn là những trường hợp TDMP do nguyên nhân khác phần lớn là những bệnh nhân TDMP do suy tim, xơ gan hay không xác định rõ được nguyên nhân, những bệnh nhân này có dịch màng phổi là dịch thấm (chiếm 7,8%). Trong số 47 bệnh nhân TDMB có 20 bệnh nhân được chẩn đoán xác định là lao màng bụng (chiếm 42,6%), 27 bệnh nhân không phải do lao (chiếm 57,4%).

Trong số các nguyên nhân gây TDMB không do lao thì xơ gan có 10 trường hợp (chiếm 21,3%), 10 trường hợp là ung thư di căn phúc mạc (chiếm 21,3%), các nguyên nhân khác như suy tim, hội chứng Pick, viêm phúc mạc có 7 trường hợp (chiếm 14,9%). Trong nhóm 134 bệnh nhân có triệu chứng viêm màng não có 74 bệnh nhân chẩn đoán viêm

màng não do lao (chiếm 55,2%), 18 bệnh nhân (chiếm 13,5%) viêm màng não do vi sinh vật trong đó có 01 bệnh nhân được chẩn đoán viêm màng não do ký sinh trùng, 01 bệnh nhân viêm màng não do nấm, 16 bệnh nhân viêm màng não mủ, có 42 bệnh nhân viêm màng não vô khuẩn (31,3%).

Bảng 3.1: Đặc điểm về tuổi

	Nhóm NC	Lao	Không do lao	Cả hai nhóm
Nhóm TDMP	n (%)	234 (60,6)	152 (39,4)	386 (100)
	Mean±SD	47,4±20,3	63,7±16,6	53,4±20,6
	Min÷Max	16÷91	34÷91	16÷94
	p (T test)	0,004		
Nhóm TDMB	n (%)	20 (42,6%)	27 (57,4%)	47 (100)
	Mean±SD	50,5±16,3	54,3±13,6	52,6±14,8
	Min÷Max	21÷79	28÷78	21÷79
	p (T test)	0,2		
Nhóm màng não	n (%)	74 (55,2)	60 (44,8)	134 (100)
	Mean±SD	47,15±18,4	52,62±18,8	47,6±18,7
	Min÷Max	16÷90	16÷92	16÷92
	p (T test)	0,09		

Nhận xét: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi (với $p < 0,05$) ở hai nhóm TDMP do lao và không do lao. Không có sự khác biệt về tuổi, giữa hai nhóm TDMB do lao và không do lao ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt về tuổi, giữa hai nhóm VNMN do lao và không do lao ($p > 0,05$).

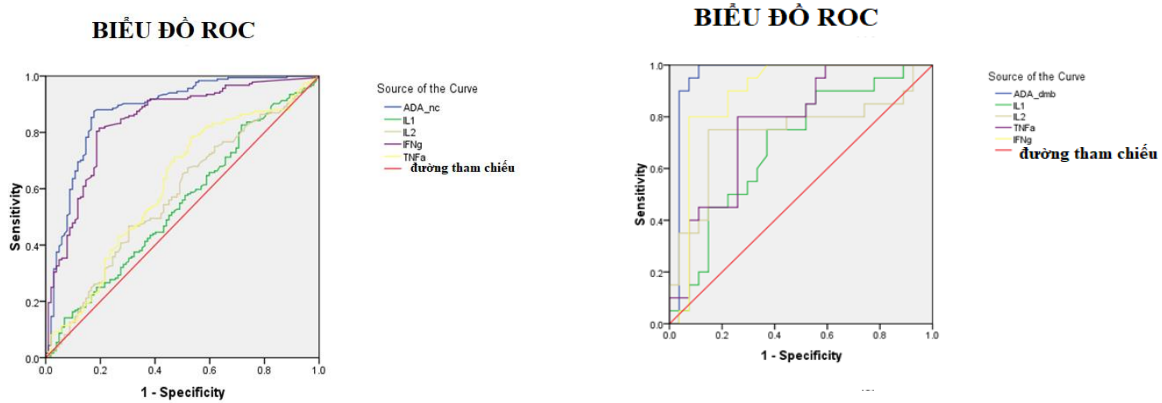
Bảng 3.2: Đặc điểm về giới

Nhóm	Giới	Lao	Không do lao	Tổng
TDMP	Nam	148 (63,2%)	98 (64,5%)	246
	Nữ	86 (36,8%)	54 (35,5%)	140
	Tổng	234 (100%)	152 (100%)	386
	p (χ^2)	0,5		
TDMB	Nam	14 (70%)	17 (62,9%)	31
	Nữ	6 (30%)	10 (37,0%)	16
	Tổng	20	27	47
	p (χ^2)	0,5		

VMN	Nam	47 (63,5%)	45 (75%)	92
	Nữ	27 (36,5%)	15 (25%)	42
	Tổng	74	60	134
	p (χ^2)	0,5		

Nhận xét: Ở cả ba nhóm nhóm tràn dịch màng phổi, TDMB, viêm não màng não do lao và không do lao, sự khác biệt về tỷ lệ nam và nữ không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.2. Giá trị ADA, IL1- β , IL-2, TNF- α , IFN- γ trong phân biệt LMP, LMB, LMN



Biểu đồ ROC đánh giá giá trị phân biệt của ADA, IL1- β , IL-2, TNF- α , IFN- γ trong chẩn đoán lao màng phổi.

Biểu đồ ROC đánh giá giá trị phân biệt của ADA, IL1- β , IL-2, TNF- α , IFN- γ trong chẩn đoán LMB

Bảng 3.3: Xác định độ nhạy, độ đặc hiệu, ngưỡng phân biệt lao của ADA, IL1- β , IL-2, TNF- α , IFN- γ trong dịch chọc dò

Xét nghiệm	Mẫu bệnh phẩm	Ngưỡng phân biệt	Se %	Sp %	PPV %	NPV %	ACC %
ADA (u/L)	DMP	>37,5	87,7	83,4	89,2	81,3	86,0
	DMB	> 30,5	100	88,9	86,9	100	93,6
	DMN	> 8,1	97,3	98,3	98,6	96,7	97,8
IL-1 β (pg/mL)	DMP	> 56,0	82,1	28,4	64,4	46,8	62,9
	DMB	>112,8	75,0	62,9	60,0	77,3	70,2
	DMN	>12,3	78,4	88,3	89,2	76,8	82,8
IL-2 (pg/mL)	DMP	> 58,0	53,4	69,7	73,1	49,3	59,8
	DMB	> 86,0	75,0	85,2	78,9	82,1	80,9
	DMN	>18	86,5	21,7	57,7	56,5	64,1
TNF- α (pg/mL)	DMP	> 78,0	77,8	47,4	69,5	58,1	65,8
	DMB	>56,8	80,0	74,1	69,6	83,3	76,6

	DMN	>77,1	85,1	93,3	94,0	83,5	88,8
IFN- γ (pg/mL)	DMP	> 120	80,3	80,9	86,6	72,8	80,6
	DMB	> 200	80,0	92,6	88,9	86,2	87,2
	DMN	>30	98,6	61,7	76,0	97,4	88,8

PPV: Positive Predictive Value (Giá trị dự đoán dương tính), NPV: Negative Predictive Value (Giá trị dự đoán âm tính)

Nhận xét: Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị chẩn đoán của xét nghiệm đo hoạt độ ADA có giá trị cao nhất sau đó là xét nghiệm đo nồng độ IFN- γ và TNF- α . Các xét nghiệm đo nồng độ IL1- β , IL-2 có độ nhạy và độ đặc hiệu còn hạn chế.

Bảng 3.4: So sánh giá trị một số phương pháp chẩn đoán lao màng phổi

Xét nghiệm	Bệnh phẩm	n	Sens %	Spec %	PPV %	NPV %	ACC %
ADA (u/L)	DMP	386	87,7	83,4	89,2	81,3	86,0
IL-1 β (pg/mL)	DMP	386	82,1	28,4	64,4	46,8	62,9
IL-2 (pg/mL)	DMP	386	53,4	69,7	73,1	49,3	59,8
TNF- α (pg/mL)	DMP	386	77,8	47,4	69,5	58,1	65,8
IFN- γ (pg/mL)	DMP	386	80,3	80,9	86,6	72,8	80,6
ADA+ INF*	DMP	386	93,5	61,8	81,5	84,0	82,2
AFB	Đờm	257	7,5	100	100	40	42,8
Nuôi cấy MGIT	DMP	386	19,7	100	100	44,7	51,3
	Tất cả	386	30,3	100	100	48,3	57,8
TRC Ready MTB	DMP	63	2,8	100	100	43,5	44,4
	Tất cả	72	13,6	100	100	42,4	47,2
PCR lao	DMP	87	39,1	81,3	75,0	48,1	56,4
	Tất cả	102	43,4	79,4	76,7	47,4	57,4
Giải phẫu bệnh	Mô sinh thiết	138	63,3	100	100	67,0	78,9

*Giá trị dương tính khi có ít nhất một trong hai test \geq giá trị cut-off, âm tính khi cả hai đều < giá trị cut-off.

Nhận xét: Các xét nghiệm xác định sự có mặt của vi khuẩn lao là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán lao. Trong nghiên cứu, các xét nghiệm này có độ đặc hiệu và PPV rất cao (100%), tuy nhiên độ nhạy lại rất thấp. Xét nghiệm ADA và IFN- γ có độ nhạy và giá trị dự đoán âm tính cao.

IV. BÀN LUẬN

Tuổi trung bình của các bệnh nhân trong nhóm TDMP do lao là $47,4 \pm 20,3$ thấp hơn nhóm không do lao là $63,7 \pm 16,6$, ($p < 0,05$). Theo nghiên cứu dịch tễ học của Hoa Kỳ, tuổi trung bình lao màng phổi là 49 trong đó 50% dưới 45 tuổi và 30% trên 65 tuổi. Ở những nước có tỷ lệ mắc lao cao, độ tuổi trung bình thấp hơn (khoảng 34 tuổi). Tuổi trung bình mắc lao màng phổi trong nghiên cứu này là 47,4, tương đương với tuổi mắc

lao màng phổi đã được Hoa Kỳ công bố. Trong nhóm TDMB: Tuổi trung bình của nhóm bị cổ trướng nói chung đều khá cao $52,6 \pm 14,8$. Bệnh nhân bị cổ trướng thường là hậu quả của những bệnh mạn tính được điều trị sau một thời gian. Kết quả này phù hợp với nhiều nghiên cứu, theo Kang S.J. độ tuổi mắc lao phúc mạc là $58,04 \pm 12,61$, không khác biệt với ung thư biểu mô phúc mạc [1]. Không có sự khác biệt về tuổi giữa viêm màng não do lao và không lao ($p > 0,05$). Theo nghiên cứu của tác giả Bello-López J.M, lao màng não hay gặp ở những bệnh nhân có độ tuổi từ 55-64 [2]. Tuổi mắc lao nằm trong độ tuổi lao động gây ảnh hưởng đến bản thân, gia đình và xã hội.

Trong nhóm LMP: Có 246 bệnh nhân nam chiếm tỷ lệ 63,7%, 140 bệnh nhân nữ (chiếm tỷ lệ 36,3%). Theo công bố của Kan Zhai (2016), tràn dịch màng phổi do lao nam chiếm ưu thế với tỷ lệ nam:nữ là 2:1 [3]. Tóm lại, cả ba nhóm lao ngoài phổi đều có tuổi mắc lao trung bình xấp xỉ 50 tuổi, tỷ lệ nam nhiều hơn nữ.

❖ Giá trị của ADA:

Có thể xét nghiệm ADA trong các dịch của cơ thể để phát hiện lao ngoài phổi. Ở các vị trí khác nhau, hoạt độ ADA cũng khác nhau. (1) trong LMP, điểm cut-off tối ưu của ADA dịch màng phổi là 37,5u/L; cho độ nhạy 87,7% và độ đặc hiệu 83,4%, giá trị chẩn đoán dương tính: 89,2%, giá trị chẩn đoán âm tính 81,3%. Điều này chứng tỏ ADA có giá trị cao trong chẩn đoán lao màng phổi. Nghiên cứu tại Anh (2015) trên 345 bệnh nhân tràn dịch màng phổi với tỷ lệ lao màng phổi 2%; cũng sử dụng ngưỡng cut-off 35u/L mang lại độ nhạy, độ đặc hiệu và NPV cao (85,7%; 90,9% và 99,7%), tuy nhiên PPV rất thấp (16,7%). Các tác giả đưa ra kết luận, ADA dịch màng phổi rất có giá trị

trong chẩn đoán lao màng phổi tại các nước có dịch tễ lao cao. Với các nước có tỷ lệ mắc lao thấp, việc sử dụng ADA vào chẩn đoán cần được xem xét thêm, tuy nhiên giá trị dự đoán âm tính của xét nghiệm này vẫn rất cao, tức là khi ADA dịch màng phổi < 35 u/L, nguy cơ bệnh nhân đó mắc lao gần như không có [4]. (2) trong lao màng bụng: Ngưỡng ADA 30,5u/l, độ nhạy là 100%; độ đặc hiệu là 88,9%, PPV là 86,9%, NPV là 100%. Theo kết quả của Tao Lin (2014), tổng hợp trên 17 nghiên cứu và 1.797 đối tượng cho thấy AUC của ADA dịch màng bụng trong chẩn đoán lao là 0,977. Một phân tích gộp dựa trên 16 nghiên cứu đã được công bố có liên quan đến ADA trong chẩn đoán lao màng bụng đã được thực hiện. Ngưỡng cut-off của ADA dịch màng bụng ≥ 30 (30-40) u/L được sử dụng trong 14 nghiên cứu và < 30 u/L được sử dụng trong 2 nghiên cứu. Độ nhạy và độ đặc hiệu được xác định là 93% (95%CI: 89-95%) và 96% (95%CI: 94-97%) [5]. Tuy nhiên nghiên cứu của Mỹ cho rằng hoạt độ ADA dịch cổ trướng có độ nhạy kém và độ đặc hiệu hạn chế ở khu vực không lưu hành lao và phổ biến là xơ gan tiềm ẩn. (3) trong lao màng não: chúng tôi sử dụng ngưỡng cut off là 8,1u/L cho độ nhạy và độ đặc hiệu cao (97,3%; 98,3%). Ngưỡng cut-off được các tác giả sử dụng hầu hết là 3,4-10u/L [6]. Một nghiên cứu hồi cứu công bố năm 2020 trên 54 bệnh nhân viêm màng não trong đó có 8 bệnh nhân lao màng não cho thấy mức giới hạn lâm sàng tối ưu là 5,1u/L cho chẩn đoán lao màng não có độ nhạy 100%, độ đặc hiệu 91%, tỷ lệ khả năng dương tính là 10,8 và tỷ lệ khả năng âm tính là 0. Trong một số trường hợp hiếm hoi, có thể thấy tăng giá ở những người viêm màng não nguyên nhân không do lao, chẳng hạn như ung thư hạch hệ

thần kinh trung ương và nhiễm nấm [7]. Trên một đánh giá tổng hợp ở 3.548 bệnh nhân bị viêm màng não, 1.490 người nghi do lao được làm cả ADA dịch não tủy và nuôi cấy vi khuẩn mycobacteria, ước giới hạn tối ưu được tính là 2,0u/L có 13 trường hợp lao màng não đã bị bỏ sót. Những kết quả này gợi ý rằng kết quả xét nghiệm ADA âm tính không nên được sử dụng đơn lẻ như là lý do để loại trừ hoặc ngừng điều trị chống lao [8].

❖ Giá trị INF- γ :

Sử dụng xét nghiệm định lượng INF- γ trong dịch chọc dò cho kết quả: (1) Trong lao màng phổi: Theo kết quả biểu đồ đường cong ROC, AUC của INF- γ dịch màng phổi trong chẩn đoán lao màng phổi là 84% với $p < 0,05$. Giá trị INF- γ là 120pg/ml có chỉ số Youden cao nhất, là giá trị phân biệt lao màng phổi. Theo kết quả phân tích meta gồm 22 nghiên cứu, tổng số 2.101 bệnh nhân bị tràn dịch màng phổi (trong đó 782 người bị lao), đo INF- γ kết quả cho thấy độ nhạy 89%, độ đặc hiệu 97% và diện tích dưới đường cong ROC là 99% để chẩn đoán lao [9]. Khan F. Y., nghiên cứu trên 103 bệnh nhân TDMP, giá trị ngưỡng tốt nhất cho IFN- γ và ADA lần lượt là 0,5pg/ml và 16,65u/L. Kết quả cho độ nhạy, độ đặc hiệu của IFN- γ và ADA tương ứng là 100% và 100%, 86% và 74%, giá trị tiên đoán dương IFN- γ là 100%, giá trị tiên đoán âm 100% [10]. (2) Trong lao màng bụng: Với ngưỡng IFN- γ trong dịch màng bụng là 200pg/mL, độ nhạy 80%; độ đặc hiệu 92,6%, giá trị dự đoán âm tính 86,2%, giá trị dự đoán dương tính 88,9%, độ chính xác là 87,2%. Nghiên cứu của Zhou L. cũng cho thấy giá trị của IFN- γ trong chẩn đoán lao là rất cao, với độ nhạy 91,7%, độ đặc hiệu 76,5%, giá trị dự đoán dương tính 84,6% [11]. Các nghiên cứu cho thấy giá trị chẩn đoán phân biệt TDMP do lao của IFN- γ

đều khá cao. (3) Trong lao màng não: AUC của IFN- γ dịch não tủy trong chẩn đoán lao màng não là 0,906 với $p < 0,001$. Cut-off 30pg/mL mang lại giá trị chẩn đoán lao màng não với độ nhạy 98,6%, độ đặc hiệu 61,7%. Trong một nghiên cứu về lao màng não ở trẻ em, tác giả đưa ra IFN- γ khi sử dụng kết hợp với các biomarker có thể đạt độ nhạy và độ đặc hiệu lên đến 100% [12].

❖ Giá trị: IL1- β , IL-2, TNF- α :

Mặc dù IL1- β , IL-2 là các cytokine tham gia đầu tiên trong phản ứng viêm của cơ thể chống lại vi khuẩn lao nhưng giá trị của các xét nghiệm này trong dịch chọc dò còn hạn chế để phân biệt lao ngoài phổi với các bệnh lý nhiễm khuẩn khác. Chúng tôi cho rằng với việc tiêm phòng lao có thể ảnh hưởng đến sự tăng của các cytokine này. Nhiều nghiên cứu trên thế giới chỉ ra rằng, mặc dù đóng vai trò trung tâm trong việc điều hòa dung nạp và kích hoạt đáp ứng miễn dịch nhưng độ nhạy và độ đặc hiệu của IL-2 trong chẩn đoán TDMP do lao khá thấp. Bên cạnh đó, nhiều nghiên cứu đánh giá IL-2 rất có giá trị trong phân biệt lao tiềm ẩn và lao hoạt động. IL-2 được coi là Biomarker có giá trị để phát hiện lao hoạt động. Theo Tural Onur S. IL-2 trong chẩn đoán lao màng phổi có độ nhạy và độ đặc hiệu là 82,69% và 52,9% nên IL1- β , IL-2 được coi là xét nghiệm có giá trị phân biệt lao màng phổi ở các nước không lưu hành lao tương đương như mức độ ADA [13]. Người ta thấy rằng vi khuẩn Gram (-) làm tăng mức độ sản xuất cytokine tiền viêm (đặc biệt IL-1 β) so với vi khuẩn Gram (+). Khi sử dụng kháng sinh cefuroxime và gentamicin thì làm tăng mức độ sản xuất IL-1 β và IL-6, ngược lại khi diệt vi khuẩn bằng ciprofloxacin- và imipenem-cilastatin làm giảm sản xuất cytokine. Sử dụng kháng sinh có lẽ là một yếu tố gây nhiễu khi rất nhiều

bệnh nhân đã được sử dụng kháng sinh khác nhau trước khi nhập viện. Ngoài ra, việc sử dụng một số các thuốc kháng viêm cũng gây giảm cytokine tiền viêm (IL-6, MIP-1 α và IL-1 β) thông qua ức chế NF-B [14] Nghiên cứu không khai thác được bệnh nhân có sử dụng kháng sinh và thuốc kháng viêm nào trước đó vì vấn đề này không được đề cập đến trong bệnh án.

V. KẾT LUẬN

+ Đối với xét nghiệm đo hoạt độ ADA: Điểm cắt 37,5u/L trong DMP, 30,5u/L trong DMB, 8,1u/L trong DMN có giá trị chẩn đoán LMP, LMB, LMN có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 87,7% và 83,4%, 100% và 88,9%, 97,3% và 98,3%,

+ Đối với xét nghiệm đo nồng độ IFN- γ : Điểm cắt 120pg/L trong DMP, 200pg/L trong DMB, 30pg/L trong DMN có giá trị chẩn đoán LMP, LMB, LMN có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 80,3% và 80,9%, 80,0% và 92,6%, 98,6% và 61,7%.

+ Kết hợp ADA và IFN- γ : giá trị dự đoán âm tính trong LMP, LMB, LMN lần lượt là 84,0%, 100% và 100%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Kang, S.J., et al.**, Role of ascites adenosine deaminase in differentiating between tuberculous peritonitis and peritoneal carcinomatosis. *World J Gastroenterol*, 2012. **18**(22): p. 2837-43.
- Bello-López, J.M., et al.**, Morbidity Trends and Risk of Tuberculosis: Mexico 2007-2017. *Can Respir J*, 2019. **2019**: p. 8295261.
- Amer, S., et al.**, Evaluation of different laboratory methods for rapid diagnosis of tuberculous pleurisy. *Int J Mycobacteriol*, 2016. **5**(4): p. 437-445.
- Arnold, D.T., et al.**, Pleural Fluid Adenosine Deaminase (Pfada) in the Diagnosis of Tuberculous Effusions in a Low Incidence Population. *PLoS One*, 2015. **10**(2).
- Shen, Y.C., et al.**, Diagnostic accuracy of adenosine deaminase for tuberculous peritonitis: a meta-analysis. *Arch Med Sci*, 2013. **9**(4): p. 601-7.
- Kaur, H., et al.**, Prospective Analysis of 55 Cases of Tuberculosis Meningitis (TBM) in North India. *J Clin Diagn Res*, 2015. **9**(1): p. Dc15-9.
- Chan, T.C.H., et al.**, Determination of cerebrospinal fluid adenosine deaminase activity cut-off for the diagnosis of tuberculous meningitis in Hong Kong. *J Clin Pathol*, 2020. **73**(12): p. 800-802.
- Ekermans, P., A. Dusé, and J. George**, The dubious value of cerebrospinal fluid adenosine deaminase measurement for the diagnosis of tuberculous meningitis. *BMC Infect Dis*, 2017. **17**(1): p. 104.
- Porcel, J.M.**, Advances in the diagnosis of tuberculous pleuritis. *Ann Transl Med*. 2016 Aug;4(15):282. doi:10.21037/atm.2016.07.23.
- Khan, F.Y., et al.**, Diagnostic value of pleural fluid interferon-gamma and adenosine deaminase in patients with pleural tuberculosis in Qatar. *Int J Gen Med*, 2013. **6**: p. 13-8.
- Zhou, L., et al.**, [T-SPOT.TB in the diagnosis of tuberculous peritonitis]. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*, 2013. **38**(5): p. 526-31.
- Manyelo, C.M., et al.**, Application of Cerebrospinal Fluid Host Protein Biosignatures in the Diagnosis of Tuberculous Meningitis in Children from a High Burden Setting. *Mediators Inflamm*, 2019. **2019**: p. 7582948.
- Tural Onur, S., et al.**, Are soluble IL-2 receptor and IL-12p40 levels useful markers for diagnosis of tuberculous pleurisy? *Infect Dis (Lond)*, 2015. **47**(3): p. 150-5.
- Annamanedi, M. and A.M. Kalle**, Celecoxib sensitizes *Staphylococcus aureus* to antibiotics in macrophages by modulating SIRT1. *PLoS One*, 2014. **9**(6): p. e99285.

TÁC ĐỘNG CỦA ĐA HÌNH ĐƠN GEN ABCB1 VÀ OPRD1 ĐẾN LIỀU ĐIỀU TRỊ METHADONE THAY THẾ Ở BỆNH NHÂN NGHIỆN CHẤT DẠNG THUỐC PHIỆN

Trần Khánh Chi¹, Trần Văn Chiếu¹,
Nguyễn Quỳnh Giao¹, Đặng Thị Ngọc Dung¹

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: Đánh giá mối liên quan giữa đa hình nucleotid đơn rs1128503, rs2032582, rs1045642 gen ABCB1 và rs2234918, rs581111, rs529520 gen OPRD1 với liều điều trị methadone thay thế ở bệnh nhân nghiện CDTP. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 400 bệnh nhân nghiện CDTP đang điều trị methadone được xác định các đa hình nucleotid đơn bằng phương pháp giải trình tự gen Sanger trên mẫu bệnh phẩm máu toàn phần. **Kết quả:** Các cá thể mang kiểu gen CT của đa hình nucleotid đơn rs1045642 gen ABCB1 yêu cầu sử dụng nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen CC là 1,59 lần ($p=0.03$, $OR = 1,59$). Các cá thể mang kiểu gen CC đa hình nucleotid đơn rs2234918 gen OPRD1 yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen TT là 2 lần ($p=0.049$, $OR = 2$). Các cá thể mang kiểu gen CT – CC (rs1045642 gen ABCB1 - rs2234918 gen OPRD1) yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen đồng hợp thể hoang đại CC - TT là 4,00 lần ($p=0.02$, $OR = 4,00$). **Kết luận:** Có mối liên quan giữa biến thể di truyền của đa hình nucleotid đơn rs2032582 gen ABCB1, rs2234918 gen OPRD1 với liều

điều trị methadone thay thế ở bệnh nhân nghiện CDTP

Từ khóa: Methadone, gen ABCB1, gen OPRD1

SUMMARY

IMPACT OF ABCB1 AND OPRD1 GENETIC POLYMORPHISMS ON METHADONE DOSAGE REQUIREMENTS IN OPIOID- DEPENDENT PATIENTS

Objective: Evaluation of the association between single nucleotide polymorphisms rs1128503, rs2032582, rs1045642 of the ABCB1 gene and rs2234918, rs581111, rs529520 of the OPRD gene and methadone substitution therapy in patients with opioid addiction. **Material and methods:** 400 opiate-addicted patients receiving methadone treatment were identified for single nucleotide polymorphisms by Sanger gene sequencing. **Results:** Individuals carrying CT genotype of single nucleotide polymorphism rs1045642 of the ABCB1 gene required high dose group ($\geq 90\text{mg/day}$) 1.59 times higher than CC genotype ($OR=1,59$, $p=0.03$). For the single nucleotide polymorphism rs2234918 of the OPRD1 gene, individuals carrying the CC genotype required high-dose group therapy ($\geq 90\text{mg/day}$) has higher 2 times more than TT genotype ($OR = 2$, $p=0.049$). Individuals carrying the CT-CC genotype (rs1045642 ABCB1 gene - rs2234918 OPRD1 gene) requiring high dose group treatment (\geq

¹Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trần Khánh Chi

Email: Trankhanhchi@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 19.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

90mg/day) has higher 4,00 times more than wild-type CC - TT genotype (OR = 4,00, p=0.02).

Conclusion: There is an association between genetic variant of single nucleotide polymorphism rs2032582 of the ABCB1 gene and rs2234918 of the OPRD1 gene and methadone substitution therapy in patients with opioid addiction.

Keywords: Methadone, ABCB1 gene, OPRD1 gene

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất dạng thuốc phiện (CDTP) là tên gọi chung cho nhiều chất như thuốc phiện, morphine, heroin, methadone, buprenorphine. Nghiện CDTP như thuốc phiện, morphin, heroin là những chất gây nghiện mạnh, thời gian tác dụng nhanh và thời gian bán hủy ngắn nên người nghiện sử dụng lặp đi lặp lại nhiều lần với liều lượng ngày càng tăng, dẫn đến trạng thái nhiễm độc chu kỳ, mạn tính, bị lệ thuộc về thể chất và tâm thần. Trong khi đó, methadone dù là một CDTP tổng hợp, có tác dụng dược lý tương tự như các CDTP khác nhưng không gây nhiễm độc hệ thần kinh trung ương và không gây khoái cảm ở liều điều trị, có thời gian bán hủy dài (trung bình là 24 giờ) nên chỉ cần sử dụng 1 lần trong 1 ngày là đủ để không xuất hiện hội chứng cai. Vì vậy, trong số các liệu pháp điều trị nghiện CDTP hiện nay, liệu pháp điều trị thay thế bằng methadone được đánh giá là hiệu quả nhất và đã được triển khai rộng rãi trên toàn thế giới cũng như tại Việt Nam.¹ Tuy nhiên, liều methadone dao động rất lớn giữa các cá thể, điều này đặt ra khó khăn trong thực hành lâm sàng. Nhiều yếu tố được đề cập, trong đó có

các yếu tố hệ gen dược lý tiềm năng liên quan chuyển hóa thuốc và quá trình thuốc tác động vào thụ thể. Trong đó, các nghiên cứu trên thế giới tập trung vào các nhóm gen nằm trong các phân nhóm mục tiêu này như gen ABCB1, OPRD1.

Gen ABCB1 (ATP binding cassette subfamily B member 1) mã hoá cho protein vận chuyển thuốc thuộc nhóm P-glycoprotein. Đây là protein vận chuyển methadone vào trong tế bào, hoạt tính của protein này sẽ ảnh hưởng tới sự vận chuyển methadone ở một số mô, đặc biệt là ruột non, thận và não.² OPRD1 mã hóa thụ thể δ -opioid (DOR), là một trong ba thụ thể opioid ở não. Thụ thể DOR ảnh hưởng tới quá trình thuốc tác động vào não. Nhiều nghiên cứu chứng minh các đa hình nucleotid đơn (SNP) của gen ABCB1 và OPRD1 có thể ảnh hưởng tới chức năng của các protein mà chúng tổng hợp, từ đó gây ảnh hưởng tới hiệu quả cũng như liều điều trị methadone.^{2,4} Các nghiên cứu trên thế giới tập trung vào các đa hình nucleotid đơn rs1128503, rs2032582, rs1045642 của gen ABCB1 và rs2234918, rs581111, rs529520 của gen OPRD1 trên bệnh nhân điều trị thay thế nghiện CDTP bằng methadone. Do đó, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu đánh giá tác động của đa hình nucleotid đơn rs1128503, rs2032582, rs1045642 gen ABCB1 và rs2234918, rs581111, rs529520 gen OPRD1 đến liều điều trị methadone thay thế ở bệnh nhân nghiện CDTP.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 . Đối tượng nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu: 400 bệnh nhân được chẩn đoán nghiện CDTP điều trị methadone thay thế được chia thành 2 nhóm: Nhóm điều trị liều thấp (≤ 60 mg/ngày) 200 bệnh nhân và nhóm điều trị liều cao (≥ 90 mg/ngày) 200 bệnh nhân

***Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu:** Tuổi ≥ 18 tuổi và đã đạt được liều điều trị methadone duy trì, không tái sử dụng CDTP ít nhất 1 tháng

***Tiêu chuẩn loại khỏi nghiên cứu:** Phụ nữ mang thai, đang cho con bú hoặc bệnh nhân có giảm chức năng gan, thận: creatinin huyết thanh ≥ 1.5 lần giới hạn trên của bình thường; AST hoặc ALT ≥ 2.5 lần giới hạn trên của bình thường; bilirubin huyết thanh toàn phần ≥ 1.5 lần giới hạn trên của bình thường

Thiết bị và hóa chất sử dụng: Tách chiết DNA bằng Exgene™ Blood SV Kit của GeneAll, Khuếch đại gen bằng Taq 2X Master Mix của New England Biolabs.

Thời gian nghiên cứu: 11/2020 đến tháng 7/2022

Địa điểm nghiên cứu: 6 cơ sở điều trị methadone tỉnh Ninh Bình; Trung tâm kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - 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 thông tin nghiên cứu và mẫu máu toàn phần của bệnh nhân

- Xác định đa hình nucleotid đơn rs1128503, rs2032582, rs1045642 của gen ABCB1 và rs2234918, rs581111, rs529520 gen OPRD1:

+ Tách DNA từ máu toàn phần bằng Exgene™ Blood SV Kit của GeneAll

+ Tiến hành phản ứng PCR khuếch đại đoạn các đoạn gen có chứa các đa hình nucleotid đơn với trình tự mồi (bảng 1), thể tích mỗi phản ứng PCR 25 μ L gồm 12.5 μ L Taq 2X master mix, 10.5 μ L nước, 0.5 μ L mỗi mồi và 1 μ L DNA mẫu; phản ứng được thực hiện với chu kỳ nhiệt: Gia nhiệt 94°C trong 5 phút; [biến tính 94°C trong 30s, gắn mồi trong 30s (với nhiệt độ gắn mồi của các đa hình nucleotid đơn rs1128503, rs2032582, rs1045642 của gen ABCB; rs2234918, rs581111, rs529520 gen OPRD1 lần lượt là 55°C, 55.5°C, 56°C, 55.4°C, 54.4°C, 54.4°C), kéo dài 72°C trong 30s]x35 chu kỳ; bảo quản 4°C.

+ Điện di trên gel agarose 1,5%, 100V, 30 phút và kiểm tra kết quả với UV visualizer.

+ Tinh sạch sản phẩm PCR và giải trình tự gen bằng phương pháp Sanger sử dụng Applied Biosystems™ Sanger Sequencing Kit.

Bảng 1. Trình tự mồi sử dụng trong nghiên cứu

Gen	Tên mồi	Trình tự	Độ dài khuếch đại
ABCB1	rs1128503	F: 5' AAGAGTGGGCACAAACCAGATA-3'	421 bp
		R: 3' -GCTCGCATGGGTCATCTCA-5'	
ABCB1	rs2032582	F: 5' -GCAAATCTTGGGACAGGAAT-3'	255 bp
		R: 3' -GAGCATAGTAAGCAGTAGGGA-5'	

	rs1045642	F: 5'-CAAAGTGTGCTGGTCCTGAAGT -3'	376 bp
		R: 3'-GTAAGGGTGTGATTTGGTTGCT-5'	
OPRD1	rs2234918	F: 5'-GCCCATCCACATCTTCGTCA -3'	393 bp
		R: 5'-CTACACCTCACCCCGTCATC -3'	
	rs581111	F: 5'-CTCAGAGAAGCCATTGTTGACC-3	647 bp
	rs529520	R: 5'-TGTTGGTCTAACCGAATGGGAG-3'	

2.3 Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu này đã được chấp thuận bởi Hội đồng Đạo đức Trường Đại học Y Hà Nội số 357/HMUIRB.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Bảng 2: Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm liều duy trì Nhóm 1 (≤ 60 mg/ngày) (n = 200)	Nhóm 2 (≥ 90mg/ngày) (n = 200)	p
Nam (%)	99,5	100	0,34
Tuổi trung bình ± SD (năm)	42,37 ± 7,56	41,49 ± 7,53	0,92
Cân nặng ± SD (kg)	58,31 ± 7,39	58,38 ± 6,75	0,24
Tuổi lần đầu dùng CDTP ± SD (năm)	25,32 ± 6,87	23,79 ± 7,08	0,03*
Số năm dùng CDTP ± SD (năm)	6,92 ± 4,47	7,15 ± 5,06	0,63
Chích CDTP (%)	80	86,5	0,08
Liều trung bình ± SD (mg/ngày)	42.71 ± 13.96	127.17 ± 50.42	

*p<0.05

Tỷ lệ nam giới chiếm đa số. Tuổi trung bình, cân nặng, số năm dùng CDTP và tỉ lệ chích CDTP của mỗi nhóm khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Tuổi lần đầu sử dụng CDTP ở nhóm 2 là 23,79 ± 7,08 năm thấp hơn so với nhóm 1 là 25,32 ± 6,87 năm, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p=0,03. Liều trung bình của nhóm 1 là 42.71 ± 13.96 mg/ngày, trong khi liều trung bình của nhóm 2 là 127.17 ± 50.42 mg/ngày.

2. Mối liên quan giữa kiểu gen, kiểu alen và nhóm liều điều trị

Bảng 3: Mối liên quan giữa kiểu gen, kiểu alen và nhóm liều điều trị

Gen	SNP	Kiểu gen và alen	Nhóm 1 (≤ 60 mg/ngày) (n = 200)	Nhóm 2 (≥ 90mg/ngày) (n = 200)	OR (95%CI)	p
	rs1128503	CC	31	25	1,00	
		CT	87	85	0,66-2,22	0,53
		TT	82	90	0,77-2,5	0,32

ABCB1		C	149	135	0,87-1,56	0,3
		T	251	265		
	rs2032582	GG	50	41	1,00	
		GT	79	94	0,87 - 2,42	0,15
		TT	32	32	0,64 - 2,32	0,54
		AT	14	16		
		AG	24	16		
		AA	1	1		
		G	207	192		
		T	153	174		
		A	40	34		
	rs1045642	CC	89	68	1,00	
		CT	83	101	1,59 (1,04-2,45)	0,03*
		TT	28	31	0,8 - 2,64	0,23
C		261	237	0,97 - 1,72	0,08	
T		139	163			
OPRD1	rs2234918	TT	108	86	1,00	
		CT	77	90	0,97 - 2,22	0,07
		CC	15	24	2 (1,01 - 4,07)	0,049*
		T	293	262	1,44(1,07 - 1,95)	0,02*
		C	107	138		
	rs581111	AA	5	2	1,00	
		AG	40	37	0,42 - 12,65	0,44
		GG	155	161	0,5 - 13,58	0,28
		A	50	41	0,87 - 1,89	0,2
		G	350	359		
	rs529520	AA	11	4	1,00	
		AC	46	47	0,83 - 9,46	0,09
		CC	143	149	0,89 - 9,2	0,07
		A	68	55	0,87 - 1,89	0,2
		C	332	345		

*p<0.05, OR: tỷ suất chênh

Chúng tôi sử dụng kiểm định Chi bình phương so sánh tỷ lệ kiểu gen và kiểu alen của các đa hình nucleotid đơn gen ABCB1, OPRD1 trong 2 nhóm liều thấp (≤ 60

mg/ngày) và nhóm liều cao (≥ 90 mg/ngày). Với đa hình nucleotid đơn rs1045642 gen ABCB1, các cá thể mang kiểu gen CT yêu cầu sử dụng nhóm liều cao (≥ 90 mg/ngày)

cao hơn kiểu gen CC là 1,59 lần ($p=0.03$). Đối với đa hình nucleotid đơn rs2234918 gen OPRD1, các cá thể mang kiểu gen CC yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen TT là 2 lần ($p=0.049$); ngoài ra các cá thể mang kiểu alen C yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu alen T là 1.44 lần ($p=0.02$). Đối với

các đa hình nucleotid đơn rs1128503, rs2032582 gen ABCB1 và rs581111, rs529520 gen OPRD1 chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa kiểu gen, kiểu alen và nhóm liều điều trị.

3. Mối liên quan giữa các kiểu gen đa locus gen ABCB1, OPRD1 và nhóm liều điều trị.

Bảng 4: Mối liên quan giữa các kiểu gen 2 locus (rs1045642 gen ABCB1 - rs2234918 gen OPRD1) và nhóm liều điều trị

Kiểu gen 2 locus rs1045642 - rs2234918	Nhóm 1 ($\leq 60 \text{ mg/ngày}$) (n = 200)	Nhóm 2 ($\geq 90\text{mg/ngày}$) (n = 200)	OR (95%CI)	p
CC - TT	40	24	1,00	
CT - CC	5	12	4,00 (1,26 – 12,76)	0,02*
CT - CT	28	39	2,32 (1,15 – 4,68)	0,02*
TT - CC	1	2	3,33 (0,29 – 38,75)	0,55

* $p<0.05$, OR: tỷ suất chênh

Chúng tôi đánh giá mối liên quan giữa các kiểu gen 2 locus (rs1045642 gen ABCB1 - rs2234918 gen OPRD1) và nhóm liều điều trị thông qua kiểm định Chi bình phương. Các cá thể mang kiểu gen CT – CC (rs1045642 gen ABCB1 - rs2234918 gen OPRD1) yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen đồng hợp thể hoang đại CC - TT là 4,00 lần ($p=0.02$). Trong khi đó, các cá thể mang kiểu gen dị hợp CT – CT (rs1045642 gen ABCB1 - rs2234918 gen OPRD1) yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen đồng hợp thể hoang đại CC - TT là 2,32 lần ($p=0.02$).

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi hầu hết các bệnh nhân nghiện CDTP là nam giới,

trong độ tuổi lao động. Phân tích các đặc điểm về tiền sử sử dụng CDTP trong đó bao gồm tuổi lần đầu sử dụng, số năm sử dụng và đường sử dụng, chúng tôi nhận thấy ở nhóm bệnh nhân sử dụng methadone thay thế liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) tuổi lần đầu sử dụng CDTP sớm hơn, số năm sử dụng CDTP dài hơn và tỷ lệ sử dụng đường chích cao hơn so với nhóm bệnh nhân điều trị methadone thay thế liều thấp ($\leq 60 \text{ mg/ngày}$). Có thể ở những bệnh nhân sử dụng CDTP sớm, kéo dài và sử dụng đường chích làm gia tăng sự phụ thuộc vào CDTP, do đó yêu cầu điều trị methadone liều cao hơn.

Gen ABCB1 mã hoá cho P-glycoprotein, là protein vận chuyển thuốc vào trong tế bào, đóng vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa thuốc.¹ Trong nghiên cứu của

chúng tôi, tìm thấy mối liên quan giữa đa hình nucleotid đơn rs2032582 gen ABCB1 với liều điều trị methadone thay thế. Các cá thể mang kiểu gen CT yêu cầu sử dụng nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen CC là 1,59 lần ($p=0.03$). Nghiên cứu cho thấy 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.³ Các đa hình nucleotid đơn khác của gen ABCB1 như rs1128503, rs2032582 chúng tôi không tìm thấy mối liên quan nào giữ các đa hình này và liều điều trị methadone duy trì ở bệnh nhân nghiện CDTP. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Zahari ở Malaysia năm 2016.⁸

Gen OPRD1 mã hóa thụ thể δ -opioid, là một trong ba thụ thể opioid ở não. Cơ chế của methadone trong điều trị thay thế nghiện CDTP dựa trên sự tương tác của methadone với các thụ thể opioid.⁵ Do đó các đa hình di truyền của gen OPRD1 có thể làm thay đổi sự tương tác này giữa các cá thể, từ đó ảnh hưởng tới hiệu quả điều trị. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có mối liên quan giữa đa hình nucleotid đơn rs2234918 gen OPRD1 với liều methadone điều trị thay thế ở bệnh nhân nghiện CDTP. Cụ thể, các cá thể mang kiểu gen CC yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen TT là 2 lần ($p=0.049$); ngoài ra các cá thể mang kiểu alen C yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu alen T là 1.44 lần ($p=0.02$). Trong khi đó, chúng tôi không tìm được mối liên quan nào giữa các đa hình nucleotid đơn rs581111, rs529520 gen

OPRD1 và liều điều trị methadone duy trì ở bệnh nhân nghiện CDTP. Các nghiên cứu trên thế giới cũng cho thấy các kết quả không tương đồng. Nghiên cứu của Luo năm 2017 trên quần thể người Hán ở Trung Quốc cho thấy các cá thể mang kiểu gen AC của đa hình nucleotid đơn rs529520 gen OPRD1 yêu cầu điều trị methadone nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn 2,24 lần so với các cá thể mang kiểu gen CC và không tìm thấy mối liên hệ nào giữa đa hình nucleotid đơn rs2234918, rs581111 gen OPRD1.⁴ Trong khi đó, nghiên cứu của Nelson năm 2014 trên quần thể người Úc lại cho thấy mối liên quan của đa hình nucleotid đơn rs581111 gen OPRD1 với sự phụ thuộc heroin.⁶ Điều này có thể do sự khác biệt về thiết kế nghiên cứu và sự không đồng nhất của các đối tượng nghiên cứu.

Khi kết hợp kiểu gen của hai đa hình nucleotid đơn rs2032582 gen ABCB1 và rs2234918 gen OPRD1, chúng tôi nhận thấy các cá thể mang kiểu gen CT - CC (rs1045642 gen ABCB1 - rs2234918 gen OPRD1) yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen đồng hợp thể hoang dại CC - TT là 4,00 lần ($p=0.02$). Ngoài ra, các cá thể mang kiểu gen dị hợp tử cả hai đa hình nucleotid này yêu cầu điều trị nhóm liều cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$) cao hơn kiểu gen đồng hợp thể hoang dại là 2,32 lần ($p=0.02$). Cá thể hóa điều trị hiện nay đang trở thành một xu thế tất yếu trong điều trị methadone thay thế ở bệnh nhân nghiện CDTP. Để có thể đưa ra mô hình dự báo liều điều trị methadone thay thế sử dụng trong

thực hành lâm sàng với độ chính xác cao cần thực hiện thêm các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn, mở rộng các biến thể di truyền, khảo sát nồng độ methadone trong máu.

V. KẾT LUẬN

Có mối liên quan giữa biến thể di truyền của đa hình nucleotid đơn rs2032582 gen ABCB1, rs2234918 gen OPRD1 với liều điều trị methadone thay thế ở bệnh nhân nghiện CDTP.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Csajka C, Crettol S, Guidi M, Eap CB.** Population Genetic-Based Pharmacokinetic Modeling of Methadone and its Relationship with the QTc Interval in Opioid-Dependent Patients. *Clin Pharmacokinet.* 2016;55(12):1521-1533. doi:10.1007/s40262-016-0415-2
2. **Fang CP, Wang SC, Tsou HH, et al.** Genetic polymorphisms in the opioid receptor delta 1 (OPRD1) gene are associated with methadone dose in methadone maintenance treatment for heroin dependence. *J Hum Genet.* 2020;65(4):381-386. doi:10.1038/s10038-019-0718-x1.
3. **Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, et al.** Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: Multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2000;97(7):3473-3478.
4. **Luo R, Li X, Qin S, et al.** Impact of SNP-SNP interaction among ABCB1, ARRB2, DRD1 and OPRD1 on methadone dosage requirement in Han Chinese patients. *Pharmacogenomics.* 2017;18(18):1659-1670. doi:10.2217/pgs-2017-0072
5. **Martin TJ, Kahn WR, Xiao R, Childers SR.** Differential regional effects of methadone maintenance compared to heroin dependence on μ -opioid receptor desensitization in rat brain. *Synapse.* 2007;61(3):176-184. doi:10.1002/syn.20355
6. **Nelson EC, Lynskey MT, Heath AC, et al.** Association of OPRD1 Polymorphisms with Heroin Dependence in a Large Case-control Series. *Addict Biol.* 2014;19(1):10.1111/j.1369-1600.2012.00445.x. doi:10.1111/j.1369-1600.2012.00445.x
7. **Stotts AL, Dodrill CL, Kosten TR.** Opioid Dependence Treatment: Options In Pharmacotherapy. *Expert Opin Pharmacother.* 2009;10(11):1727-1740. doi:10.1517/14656560903037168
8. **Zahari Z, Lee CS, Ibrahim MA, et al.** Relationship between ABCB1 polymorphisms and serum methadone concentration in patients undergoing methadone maintenance therapy (MMT). *Am J Drug Alcohol Abuse.* 2016;42(5):587-596. doi:10.3109/00952990.2016.1172078

NGHIÊN CỨU SỰ THAY ĐỔI MỘT SỐ CHỈ SỐ SINH HÓA - HUYẾT HỌC Ở THAI PHỤ TIỀN SẢN GIẬT

Nguyễn Thị Thanh Hương*, Nông Thị Khánh Chi*,
Đặng Thị Thu Thủy*, Nguyễn Thị Nhung*

TÓM TẮT

Tiền sản giật (TSG) là một rối loạn thai kỳ có thể gây ảnh hưởng đến nhiều cơ quan trong cơ thể, dẫn đến sự thay đổi các thông số về sinh hóa, huyết học. **Mục tiêu:** Xác định sự thay đổi các chỉ số sinh hóa và huyết học ở thai phụ tiền sản giật. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 60 thai phụ tiền sản giật và 60 thai phụ khỏe mạnh. Các xét nghiệm (Acid uric, Glucose, Ure, Creatinin, AST, ALT, điện giải đồ, Calci, Albumin, Protein, LDH, huyết sắc tố và tiểu cầu) được xác định bằng phương pháp enzym so màu, động học enzym, điện cực chọn lọc gián tiếp và đo quang. **Kết quả:** Nồng độ Acid uric, Ure, Creatinin, AST, ALT ở nhóm TSG cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng lần lượt là: $469,73 \pm 124,99 \mu\text{mol/L}$ so với $267,96 \pm 47,96 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$); $6,75 \pm 3,34 \text{ mmol/L}$ so với $2,65 \pm 0,59 \text{ mmol/L}$ ($p < 0,05$); $71,73 \pm 17,98 \mu\text{mol/L}$ so với $54,04 \pm 4,56 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$); $31,20 \pm 22,28 \text{ U/L}$ so với $21,09 \pm 5,01 \text{ U/L}$ ($p < 0,05$); $22,53 \pm 19,18 \text{ U/L}$ so với $14,29 \pm 7,55 \text{ U/L}$ ($p < 0,05$). Số lượng tiểu cầu và nồng độ protein, albumin của nhóm TSG thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng. **Kết luận:** Có sự thay đổi nồng độ rõ rệt một số chỉ số sinh hóa liên quan đến chức năng gan, thận, tăng đáng kể nồng

độ acid uric và giảm số lượng tiểu cầu ở bệnh nhân TSG.

Từ khóa: Tiền sản giật, các thông số sinh hóa, huyết học

SUMMARY

STUDY OF CHANGES IN BIOCHEMICAL AND HEMATOLOGY PARAMETERS OF PRE-ECLAMPSIA PATIENTS

Pre-eclampsia is a pregnancy disorder that can affect many organs in the body, with changes in biochemical and hematological parameters. **Objective:** To determine the changes in biochemical and hematological parameters of pre-eclampsia patients. **Subjects and methods:** A cross-sectional study on 60 pre-eclampsia pregnancy women and 60 healthy pregnancy women. The assays are determined by means of enzyme colorimetric, enzyme kinetics, indirect selective electrode. **Results:** Plasma Uric acid, Urea, Creatinine, AST, ALT levels were significantly higher in pre-eclampsia group than control group, sequence: $469,73 \pm 124,99 \mu\text{mol/L}$ versus $267,96 \pm 47,96 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$); $6,75 \pm 3,34 \text{ mmol/L}$ versus $2,65 \pm 0,59 \text{ mmol/L}$ ($p < 0,05$); $71,73 \pm 17,98 \mu\text{mol/L}$ versus $54,04 \pm 4,56 \mu\text{mol/L}$ ($p < 0,05$); $31,20 \pm 22,28 \text{ U/L}$ versus $21,09 \pm 5,01 \text{ U/L}$ ($p < 0,05$); $22,53 \pm 19,18 \text{ U/L}$ versus $14,29 \pm 7,55 \text{ U/L}$ ($p < 0,05$). Total platelet count and Protein, Albumin levels were significantly lower in pre-eclampsia group than control group. **Conclusion:** There was a marked change in some biochemical indicators related to

*Bệnh viện Phụ Sản Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thanh Hương
Email: thanhhuong3012@gmail.com

Ngày nhận bài: 24.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 19.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

liver and kidney function, a significant increase in uric acid concentration and a decrease in platelet count of pre-eclampsia patients.

Keywords: Pre-eclampsia, biochemical parameters, hematology

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tiền sản giật (TSG) là bệnh lý thường gặp trong thai kỳ, chiếm khoảng 5 – 15% trong tổng số thai kỳ và là nguyên nhân chủ yếu gây tử vong mẹ và chu sinh trên toàn thế giới [1]. TSG là một rối loạn thai kỳ có thể gây ảnh hưởng đến phần lớn các cơ quan trong cơ thể, đặc trưng bởi một loạt các dấu hiệu và triệu chứng, bao gồm sự khởi phát của tăng huyết áp (khi huyết áp tối đa $\geq 140\text{mmHg}$ và/hoặc huyết áp tối thiểu là $\geq 90\text{mmHg}$) và protein niệu (xuất hiện từ 0,3g/24 giờ) xảy ra sau tuần thứ 20 của thai kỳ, thường kết hợp với phù và tăng acid uric máu [2]. Trong số các rối loạn tăng huyết áp trong thai kỳ, thì TSG nổi bật với tần suất xảy ra cao đi kèm với các biến chứng phức tạp. Biến chứng ở thai nhi bao gồm chậm phát triển trong bụng tử cung, sinh non hoặc tử vong chu sinh. Biến chứng ở thai phụ bao gồm suy thận, hội chứng HELLP, suy gan, phù não, sản giật và có thể dẫn đến tử vong. Ngoài ra hậu quả của TSG còn kéo dài sau sinh, với biến chứng đáng chú ý là rối loạn nội mạch làm người mẹ có nguy cơ mắc bệnh lý tim mạch.

Đã có nhiều nghiên cứu trên thế giới về TSG có liên quan đến sự thay đổi các chỉ số sinh hóa, huyết học như rối loạn chức năng gan, chức năng thận, giảm tiểu cầu và tăng nồng độ CRP [3], [4]. Điều đó cho thấy, một số xét nghiệm có thể hữu ích trong việc xác định mức độ tổn thương cơ quan trong bệnh

lý TSG, giúp các bác sĩ lâm sàng phát hiện kịp thời, kiểm soát hiệu quả bệnh và các biến chứng. Tối ưu hóa công tác chăm sóc sức khỏe thai sản, đặc biệt trong thực hành quản lý tiền sản đối với bệnh lý TSG. Tại Việt Nam, có rất ít nghiên cứu về vấn đề này. Với mong muốn tìm hiểu rõ hơn về sự thay đổi của một số chỉ số sinh hóa trong bệnh lý TSG trên nhóm đối tượng là người Việt Nam. Vì vậy đề tài được thực hiện với mục tiêu: *Xác định sự thay đổi các chỉ số sinh hóa và huyết học ở thai phụ tiền sản giật.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Các thai phụ đến khám tại khoa Khám bệnh và các thai phụ điều trị tại khoa Sản bệnh lý của Bệnh viện Phụ sản Trung ương, từ tháng 1/2022 – 7/2022. Đối tượng nghiên cứu được chia làm 2 nhóm:

❖ Nhóm bệnh: gồm 60 thai phụ được chẩn đoán tiền sản giật.

- Tiêu chuẩn lựa chọn: Gồm những thai phụ được chẩn đoán TSG theo tiêu chuẩn [1]

+ Huyết áp tối đa $\geq 140\text{mmHg}$ và/hoặc huyết áp tối thiểu $\geq 90\text{mmHg}$, đo 2 lần cách nhau ít nhất 4 giờ, xảy ra sau tuần 20 của thai kỳ trên thai phụ có huyết áp bình thường trước đó, và:

+ Protein niệu 0,3g/24h hay 0,5g/l.

- Tiêu chuẩn loại trừ: thai phụ mắc các bệnh mạn tính, bệnh rối loạn chuyển hóa, tăng huyết áp từ trước khi có thai, đái tháo đường thai kỳ, đa thai.

❖ Nhóm chứng: Gồm những thai phụ khỏe mạnh, có tuổi thai > 20 tuần, không mắc bệnh lý cấp tính và mạn tính, không phù, không tăng huyết áp và protein niệu âm tính.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

❖ Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang có đối chứng

❖ Chỉ tiêu nghiên cứu: Thai phụ được khám, khai thác bệnh sử, đo huyết áp, làm các xét nghiệm sinh hóa, tổng phân tích nước tiểu và huyết học cơ bản.

❖ Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu: Các xét nghiệm Glucose, Acid uric, Ure, Creatinin, AST, ALT, điện giải đồ, Calci, Albumin, Protein, LDH được xác định bằng

các phương pháp như enzym so màu, động học enzym, điện cực chọn lọc gián tiếp trên máy sinh hóa tự động AU680. Với xét nghiệm huyết sắc tố, tiểu cầu xác định bằng hệ thống đo quang và hệ thống đo huyết sắc tố.

❖ Phương pháp phân tích số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 18.0, sử dụng các phép kiểm định, thống kê so sánh có ý nghĩa khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của 2 nhóm nghiên cứu

Đặc điểm chung	Tiền sản giật (n = 60) (Mean ± sd)	Nhóm chứng (n = 60) (Mean ± sd)	p
Tuổi mẹ (năm)	30,87 ± 5,71	27,43 ± 4,75	<0,0001
Tuổi thai (tuần)	32,30 ± 3,46	33,29 ± 3,09	0,1
BMI trước mang thai	22,97 ± 1,79	20,91 ± 1,68	<0,0001
HA tối đa (mmHg)	158,52 ± 13,43	115,92 ± 7,54	<0,0001
HA tối thiểu (mmHg)	100,48 ± 11,73	70,95 ± 7,00	<0,0001

Bảng 3.1 cho thấy tuổi mẹ trong nhóm TSG là $30,87 \pm 5,71$ cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng là $27,43 \pm 4,75$ với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt về tuổi thai giữa 2 nhóm. BMI trước mang thai, HA tối đa và HA tối thiểu ở nhóm thai phụ TSG cao hơn có ý nghĩa so với nhóm thai phụ khỏe mạnh.

Bảng 3.2. So sánh chỉ số sinh hóa và huyết học của 2 nhóm nghiên cứu

Chỉ số	Tiền sản giật (n=60) (Mean ± sd)	Nhóm chứng (n=60) (Mean ± sd)	p
Acid uric ($\mu\text{mol/L}$)	469,73 ± 124,99	267,96 ± 47,96	<0,0001
Glucose (mmol/L)	4,50 ± 0,67	4,36 ± 0,66	0,24
Ure (mmol/L)	6,75 ± 3,34	2,65 ± 0,59	<0,0001
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	71,73 ± 17,98	54,04 ± 4,56	<0,0001
Natri (mmol/L)	134,05 ± 2,39	135,84 ± 1,42	<0,0001
Kali (mmol/L)	4,00 ± 0,41	3,93 ± 0,21	0,22
Clo (mmol/L)	103,93 ± 2,81	104,25 ± 1,81	0,46
Canxi (mmol/L)	2,14 ± 0,13	2,17 ± 0,09	0,13
AST (U/L)	31,20 ± 22,28	21,09 ± 5,01	0,01
ALT (U/L)	22,53 ± 19,18	14,29 ± 7,55	0,02

LDH (IU/L)	240,90 ± 95,71	176,61 ± 31,46	<0,0001
Protein (g/l)	58,30 ± 6,27	66,04 ± 2,72	<0,0001
Albumin (g/l)	28,32 ± 3,25	35,03 ± 1,68	<0,0001
Huyết sắc tố (g/l)	124,66 ± 17,07	120,90 ± 11,32	0,15
Tiểu cầu	191,68 ± 57,25	225,46 ± 50,68	<0,001

Nồng độ Acid uric, Ure, Creatinin, AST, ALT, LDH ở nhóm TSG cao hơn ở nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nồng độ Natri ở nhóm TSG thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng, trong khi nồng độ Kali, Clo và Calci ở 2 nhóm là như nhau. Nồng độ Protein và Albumin ở nhóm TSG thấp hơn đáng kể so với nhóm chứng ($p < 0,05$), trong khi Glucose có nồng độ như nhau ở 2 nhóm. Tổng số lượng tiểu cầu thấp hơn đáng kể trong nhóm TSG ($191,68 \pm 57,25$) so với nhóm chứng ($225,46 \pm 50,68$), $p < 0,05$. Trong khi nồng độ huyết sắc tố trung bình ở 2 nhóm là như nhau.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này chúng tôi thực hiện trên 60 thai phụ bị TSG để nghiên cứu sự thay đổi một số chỉ số sinh hóa, huyết học so với nhóm chứng là 60 thai phụ khỏe mạnh. Chúng tôi quan sát thấy tuổi trung bình của thai phụ bị TSG cao hơn so với nhóm chứng, không có sự khác biệt về tuổi thai. Nghiên cứu của Lamminpää [5] cho thấy ở những thai phụ TSG có tuổi mẹ cao hơn và đây cũng là một yếu tố nguy cơ của TSG. Huyết áp là một trong những tiêu chuẩn chẩn đoán TSG, do đó ở những thai phụ TSG có sự gia tăng huyết áp đáng kể so với nhóm chứng, kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với điều này.

Các thay đổi về sinh lý bệnh của thận đã được mô tả trong bệnh lý TSG, kết quả của chúng tôi cho thấy nồng độ Ure, Creatinin,

Acid uric và Natri tăng lên đáng kể ($p < 0,05$) ở nhóm TSG so với nhóm thai phụ khỏe mạnh, quan sát của chúng tôi cũng tương tự với kết quả nghiên cứu của Ekun và cộng sự [4]. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng nồng độ Ure và Creatinin ở nhóm TSG tương tự như ở phụ nữ không mang thai do giảm mức lọc cầu thận và giảm lưu lượng máu qua thận [6] so với thai kỳ bình thường. Do đó nồng độ Ure, Creatinin tăng trong TSG có thể do giảm lọc cầu thận, giảm bài tiết ở ống thận và tăng tái hấp thu. Sự gia tăng của Acid uric trong nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu trước đây. Ở bệnh nhân TSG, Acid uric có xu hướng tăng sớm hơn so với khi bắt đầu xuất hiện tăng huyết áp và protein niệu. Việc Acid uric tăng trong máu gây ra tác dụng tiền viêm có thể dẫn đến rối loạn chức năng nội mạch đã được chứng minh. Cũng đã có nhiều nghiên cứu đã đưa ra mối liên quan giữa Acid uric huyết thanh trong TSG và mức độ nghiêm trọng của bệnh [7]. Do đó sự thay đổi của các chỉ số sinh hóa đánh giá chức năng thận trong nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với các nghiên cứu trước đó.

Nồng độ Protein và Albumin trung bình theo quan sát trong nghiên cứu này thấp hơn có ý nghĩa ($p < 0,05$) ở nhóm TSG khi so sánh với nhóm chứng, điều này có thể thấy rằng việc mất protein qua nước tiểu, thể hiện ở việc xuất hiện protein niệu ở thai phụ mắc TSG.

Chức năng gan có thể bị thay đổi đáng kể trong TSG và liên quan với các biến chứng nghiêm trọng của bệnh. Nồng độ AST thường tăng cao hơn ALT, điều này có thể giúp phân biệt TSG từ các nguyên nhân tiềm ẩn nào đó. Việc tăng nồng độ LDH trong TSG là do rối loạn chức năng gan (từ thiếu máu cục bộ, xuất huyết, hoại tử hậu quả của việc co các tiểu động mạch) và tan huyết (do tế bào máu bị phá hủy). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy có sự tăng rõ rệt nồng độ AST, ALT và LDH ở nhóm TSG ($p < 0,05$).

Các thay đổi huyết học cũng xảy ra ở thai phụ mắc TSG, giảm tiểu cầu và tan huyết có thể xảy ra và gây ra hậu quả nghiêm trọng trong hội chứng HELLP. Số lượng tiểu cầu giảm do tăng kích hoạt, tập kết và tiêu thụ tiểu cầu. Số lượng tiểu cầu ở thai phụ TSG trong nghiên cứu này thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng, tuy nhiên số lượng huyết sắc tố như nhau ở hai nhóm. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của Saha và cộng sự [8].

V. KẾT LUẬN

Có sự thay đổi nồng độ rõ rệt một số chỉ số sinh hóa và huyết học liên quan đến chức năng gan, thậm chí ở thai phụ TSG so với nhóm thai phụ khỏe mạnh.

- Nồng độ Acid uric, Ure, Creatinin, AST, ALT, LDH ở nhóm TSG cao hơn, trong đó nồng độ Protein, Albumin và Natri ở nhóm TSG thấp hơn đáng kể so với nhóm chứng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

- Số lượng tiểu cầu ở bệnh nhân TSG giảm có ý nghĩa so với nhóm chứng với $p < 0,05$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. (2020). **Gestational Hypertension and Preeclampsia**: ACOG Practice Bulletin, Number 222. *Obstet Gynecol*, 135 (6), e237-e260.
2. **J. M. Roberts và D. W. Cooper (2001)**. Pathogenesis and genetics of pre-eclampsia. *Lancet*, 357 (9249), 53-56.
3. **T. F. Karar, Mohamed Abdel; O. Alenazy, Khaled Romaizan et al (2016)**. Assessment of Biochemical Changes in Pregnancy Induced Hypertension (PIH) among Saudi Population at KAMC-Riyadh. *Br J Med Med Res*, 15 (10), 1-6.
4. **O. A. Ekun, O. M. Olawumi, C. C. Makwe và cộng sự (2018)**. Biochemical Assessment of Renal and Liver Function among Preeclamptics in Lagos Metropolis. *Int J Reprod Med*, 2018, 1594182.
5. **R. Lamminpaa, K. Vehvilainen-Julkunen, M. Gissler và cộng sự (2012)**. Preeclampsia complicated by advanced maternal age: a registry-based study on primiparous women in Finland 1997-2008. *BMC Pregnancy Childbirth*, 12, 47.
6. **J. Muller-Deile và M. Schiffer (2014)**. Preeclampsia from a renal point of view: Insides into disease models, biomarkers and therapy. *World J Nephrol*, 3 (4), 169-181.
7. **S. A. Bainbridge và J. M. Roberts (2008)**. Uric acid as a pathogenic factor in preeclampsia. *Placenta*, 29 Suppl A, S67-72.
8. **A. e. a. Saha (2022)**. Study of changes in biochemical parameters of preeclampsia patients, a prospective five year study. *Int J Reprod Contracept Obstet Gynecol*, 11 (2), 517-521.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ ACID FOLIC HUYẾT TƯƠNG TRÊN BỆNH NHÂN XƠ GAN DO RƯỢU

Nông Văn Diệp^{1,4}, Nguyễn Văn Tuấn², Bùi Khắc Cường³,
Trần Văn Tuyên⁴, Triệu Thị Biển⁴, Tạc Văn Nam⁵,
Phạm Thị Thanh Vân⁶, Phạm Văn Trân¹, Nguyễn Thị Mai Ly¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nồng độ acid folic huyết tương (HT) và mối liên quan với một số triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng trên bệnh nhân (BN) xơ gan do rượu. **Đối tượng:** Nghiên cứu được thực hiện trên 100 người gồm 50 BN xơ gan do rượu (nhóm bệnh) được chẩn đoán, điều trị tại Bệnh viện Quân y 103 từ 12/2021-07/2022 và 50 người bình thường khỏe mạnh (nhóm chứng). **Phương pháp nghiên cứu:** Khám lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng lựa chọn đối tượng nghiên cứu. Lấy máu tĩnh mạch, ly tâm tách huyết tương để làm xét nghiệm định lượng nồng độ acid folic theo nguyên lý miễn dịch hóa phát quang trên hệ thống DXI 800 (Beckman Coulter). **Kết quả:** Nồng độ trung bình của acid folic HT ở BN xơ gan thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng khỏe mạnh ($8,05 \pm 5,27$ ng/mL so với $10,3 \pm 3,39$ ng/mL, $p = 0.0065$). Có

mối liên quan giữa nồng độ acid folic với các triệu chứng lâm sàng như chán ăn ($p=0,012$), phù ($p=0,04$) và sao mạch ($p=0,002$). Ngược lại, không có mối tương quan giữa nồng độ acid folic với một số xét nghiệm cận lâm sàng trên BN xơ gan do rượu. **Kết luận:** Ở BN xơ gan do rượu, nồng độ acid folic HT giảm và có liên quan với một số triệu chứng lâm sàng phổ biến ở BN xơ gan do rượu như sao mạch, chán ăn và phù. Kết quả này gợi ý về sự cần thiết phải bổ sung acid folic vào phác đồ điều trị cho BN xơ gan do rượu.

Từ khóa: Xơ gan do rượu, acid folic

SUMMARY

STUDY THE PLASMA FOLIC ACID LEVELS IN PATIENTS WITH ALCOHOLIC LIVER CIRRHOSIS

Aim: Determine plasma folic acid (HT) concentration and relationship with some clinical and subclinical symptoms in patients with alcoholic liver cirrhosis. **Subjects:** The study was conducted on 100 participants including 50 patients (disease group) diagnosed and treated alcoholic liver cirrhosis at Military Hospital 103 from 12/2021-07/2022 and 50 healthy people (control group). **Research methods:** Clinical examination, paraclinical tests to select research subjects. Venous blood is collected and centrifuged to separate the plasma; plasma folic acid was concentrated according to the principle of chemiluminescence on the DXI 800 system (Beckman Coulter). **Results:** The plasma folic

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

²Bộ môn Khoa Phục hồi chức năng, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

³Trung tâm nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y

⁴Bệnh viện đa khoa tỉnh Bắc Kạn

⁵Sở y tế Bắc Kạn

⁶Khoa Gây Mê Hồi Sức, Bệnh viện Quân y 175

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Mai Ly

Email: dr.nguyenmaily@gmail.com

Ngày nhận bài: 12.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

acid levels in disease group were significantly lower than in control group (8.05 ± 5.27 ng/mL versus 10.3 ± 3.39 ng), $p = 0.0065$). There is a relationship between folic acid levels and clinical symptoms such as anorexia ($p=0.012$), edema ($p=0.04$) and varicose veins ($p=0.002$). By contrast, there was no correlation between folic acid levels and some laboratory tests in patients with alcoholic cirrhosis. Conclusions: In patients with alcoholic cirrhosis, plasma folic acid levels decreased and were associated with some common clinical symptoms in patients with alcoholic cirrhosis such as angioedema, anorexia and edema. These results suggest the necessity of supplement folic acid for patients with alcoholic cirrhosis.

Keywords: Alcoholic cirrhosis, folic acid

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chuyển hóa rượu gây tổn thương gan qua nhiều cơ chế như suy giảm chuyển hóa tích trữ lipid trong gan, tăng cường phản ứng viêm tại chỗ và thúc đẩy quá trình xơ hóa [1]. Sử dụng nhiều rượu làm tăng nguy cơ tử vong do xơ gan lên gấp 27 lần ở nam và 35 lần ở nữ [1]. Số lượng và thời gian sử dụng rượu liên quan thuận đến mức độ tổn thương, tiến triển, sự sống và tỷ lệ mắc xơ gan do rượu [1]. Xơ gan do rượu chiếm đến 50% số trường hợp xơ gan tại Mỹ [1]. Gần đây, lạm dụng rượu và nhập viện do lạm dụng rượu tăng đáng kể tại Việt Nam.

Acid folic là một vitamin nhóm B, góp phần duy trì sự toàn vẹn của hệ gen và tế bào, là trung tâm của chuyển hóa, đặc biệt trong tổng hợp acid nhân, chỉnh sửa và methyl hóa acid nhân DNA [2]. Folic tham gia vào nhiều phản ứng sinh học mang tính sống còn, đặc biệt là với các tế bào và giai đoạn sinh lý phân chia nhanh như tế bào máu, phụ nữ có thai [2]. Do đó, bổ sung acid

folic tổng hợp được khuyến cáo cho nhiều nhóm đối tượng có nguy cơ cao thiếu hụt acid folic như phụ nữ có thai, trong độ tuổi sinh sản và người lớn [2]. Thiếu hụt acid folic gây ra nhiều hệ lụy nghiêm trọng như khuyết tật ống thần kinh [2], và bệnh lý tâm thần kinh. Việc thiếu acid folic gây gián đoạn tổng hợp acid nhân, gây ra tổn thương tại hệ thống tiêu hóa, làm giảm hấp thu acid folic, tạo vòng xoắn bệnh lý thiếu dưỡng acid folic [2]. Tuy nhiên, báo cáo về nồng độ acid folic ở BN xơ gan do rượu tại Việt nam còn chưa đầy đủ. Vì vậy, đề tài nghiên cứu nhằm mục tiêu xác định nồng độ acid folic huyết tương và mối liên quan với một số triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng trên BN xơ gan do rượu.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng: Bao gồm 100 người, chia thành 2 nhóm: 50 BN được chẩn đoán và điều trị xơ gan do rượu tại khoa Nội Tiêu Hóa - Bệnh viện Quân y 103 (nhóm bệnh) và 50 người bình thường, khỏe mạnh (nhóm chứng).

Tiêu chuẩn lựa chọn nhóm bệnh

Chẩn đoán xơ gan: ít nhất 2 trong 3 hội chứng:

* **Hội chứng suy tế bào gan:** mệt mỏi, chán ăn, ăn chậm tiêu, vàng da, sao mạch, bàn tay son, cổ trướng, phù. Xuất huyết dưới da, niêm mạc, chảy máu chân răng, chảy máu cam do rối loạn đông máu, thiếu máu. Xét nghiệm có protein huyết thanh giảm, albumin huyết thanh giảm $<35\text{g/l}$, globulin tăng, tỷ lệ A/G đảo ngược, bilirubin toàn phần máu tăng $>17 \mu\text{mol/l}$, tỷ lệ prothrombine giảm $<70\%$).

* **Hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa:** Lách to, tuần hoàn bàng hệ, cổ trướng, siêu âm ổ bụng (TMC giãn $>13 \text{ mm}$, đường kính dọc lách $>12 \text{ cm}$) và/hoặc nội soi thực quản dạ dày có hình ảnh giãn TMTQ, phình vị.

* **Hội chứng thay đổi hình thái gan:** Lâm sàng có gan to, chắc hoặc gan teo, kết hợp với siêu âm cho hình ảnh gan nhu mô thô, tăng âm dạng nốt, bờ gan không đều.

Loại trừ các nguyên nhân gây xơ gan khác như nhiễm virus viêm gan B/C và có các bệnh kết hợp.

Tiêu chuẩn lựa chọn nhóm chứng

Bao gồm 50 người bình thường, khỏe mạnh, các chỉ số nhân trắc tương đương với nhóm bệnh đến khám sức khỏe tại khoa khám bệnh Bệnh viện Quân y 103.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ 12/2021-07/2022 tại Bệnh viện Quân y 103. Khai thác tiền sử, bệnh sử, khám lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng để lựa chọn đối tượng nghiên cứu. Lấy máu tĩnh mạch lúc đói, chống đông bằng heparin, ly tâm tách HT để định lượng

acid folic và các chỉ số hóa sinh khác. Định lượng nồng độ acid folic HT theo nguyên lý miễn dịch hóa phát quang, trên máy UniCel DxI 800 Access, sử dụng hóa chất tương ứng do hãng Beckman Coulter cung cấp. Các chỉ số hóa sinh khác được định lượng trên hệ thống Au5800 (Beckman Coulter).

Xử lý số liệu trên phần mềm thống kê STATA phiên bản 14, Window. Sự liên quan giữa hai biến định tính được phân tích bằng kiểm định Fisher's exact. Tương quan nồng độ giữa hai biến định lượng được phân tích bằng phân tích tương quan correlate. Sự khác biệt nồng độ acid folic giữa hai nhóm được phân tích bằng Wilcoxon rank sum (Mann-Whitney) và Kruskal Wallis. Sự khác biệt, liên quan, tương quan có ý nghĩa thống kê nếu $p < 0.05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm phân bố tuổi, giới

Bảng 1: Đặc điểm phân bố về tuổi

Nhóm	Cỡ mẫu	TB (năm)	SD (năm)	Nhỏ nhất	Lớn nhất	95% CI		P<0.001
Xơ gan	50	54.74	10.12	32	78	51.86	57.62	p<0.0001
Chứng	50	42.76	6.61	32	56	40.88	44.64	
Tổng	100	48.75	10.42	32	78	46.68	50.82	

Tất cả BN tham gia nghiên cứu của hai nhóm đều là nam giới. Độ tuổi của nhóm xơ gan cao hơn so với nhóm chứng.

Bảng 2: Đặc điểm phân bố theo nhóm tuổi

Nhóm	Nhóm tuổi			Tổng
	40-60	<40	>60	
Chứng	31	19	0	50
Xơ gan	34	5	11	50
Tổng	65	24	11	100

Phân chia BN nghiên cứu theo nhóm tuổi <40, 40-60 và >60 tuổi. Phân tích thống kê cho thấy có sự khác biệt về phân bố nhóm tuổi giữa nhóm chứng và nhóm xơ gan. Cụ thể, nhóm xơ gan có 11/50 (22%) BN >60 tuổi, trong khi tỷ lệ này ở nhóm chứng là 0%. Độ tuổi phổ

biến nhất của xơ gan do rượu là 40-60 tuổi, chiếm $34/50 = 68\%$. Tỷ lệ đối tượng tham gia nghiên cứu có độ tuổi 40-60 là tương đương giữa nhóm bệnh và nhóm chứng ($p=0.53$).

Bảng 3: Nồng độ acid folic theo tuổi

Nhóm		Biến đổi acid folic			Tổng	p
		Bình thường	Giảm	Tăng		
<40	n	23	0	1	24	0.26
	%	95.83	0	4.17	100	
40-60	n	58	4	3	65	
	%	89.23	6.15	4.62	100	
>60	n	10	0	1	11	
	%	90.91	0	9.09	100	
Tổng	n	91	4	5	100	
	%	91	4	5	100	
Pearson chi2(4) = 2.6586 Pr = 0.616						
Fisher's exact = 0.706						

Không có sự liên quan giữa nhóm tuổi và tỷ lệ phân bố các mức acid folic HT. Đồng thời, các nhóm tuổi có nồng độ acid folic HT tương đương nhau. Như vậy, nghiên cứu không chỉ ra phụ thuộc của mức độ acid folic HT theo tuổi.

3.2. Nồng độ acid folic HT

Bảng 4: So sánh nồng độ acid folic giữa nhóm bệnh, nhóm chứng

	Nhóm chứng (n=50)	Xơ gan (n=50)	Tổng (n=50)
TB ± SD (ng/mL)	10,3 ± 3,39	8,05 ± 5,27	9,17 ± 4,56
min-max	5,16-21,46	2,53-24,1	2,39 - 24,10
95% CI	9,34 - 11,26	6.55 - 9.55	8,27 - 10,08
p = 0.0001			

So sánh nồng độ acid folic giữa nhóm xơ gan và nhóm khỏe mạnh cho thấy, nhóm xơ gan có nồng độ acid folic thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($10,3 \pm 3,39$ ng/mL so với $8,05 \pm 5,27$ ng/mL, $p = 0.0001$).

Bảng 5: Liên quan biến đổi acid folic HT với xơ gan

Nhóm		Biến đổi acid folic			Tổng
		Bình thường	Giảm	Tăng	
Chứng	n	49	0	1	50
	%	98	0	2	100
Xơ gan	n	42	4	4	50
	%	84	8	8	100
Tổng	n	91	4	5	100
	%	91	4	5	100
Pearson chi2(2) = 6.3385, Pr = 0.042; Fisher's exact = 0.051					

Giá trị tham chiếu của nồng độ acid folic tại khoa Sinh hóa, Bệnh viện Quân y 103 là 3.1-19.9 ng/mL. Phân tích liên quan cho thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ biến đổi nồng độ acid folic HT và bệnh lý xơ gan. Giảm acid folic HT không xảy ra ở nhóm chứng, nhưng xuất hiện ở 4/50 (8%) BN xơ gan do rượu.

3.3. Liên quan giữa nồng độ acid folic HT với đặc điểm lâm sàng

Bảng 6: Liên quan giữa nồng độ acid folic với một số triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng	Có/ Không	N	Acid folic(ng/ml)			p
			$\bar{x} \pm SD$	Min-max	Trung vị	
Chán ăn	Có	33	7,12±4,71	2,39-21,17	5,55	0,012
	Không	12	9,67±5,62	5,78-24,1	7,45	
Mệt mỏi	Có	40	7,91±5,32	2,39-24,1	6,14	0,47
	Không	5	6,93±1,21	5,78-8,25	6,5	
Vàng da niêm mạc	Có	26	7,43±4,63	2,39-20,42	5,98	0,435
	Không	19	8,31±5,62	2,53-24,1	6,5	
Xạm da	Có	15	7,0±4,35	2,86-17,56	5,41	0,238
	Không	30	8,21±5,36	2,39-24,1	6,54	
Phù	Có	19	6,79±5,12	2,39-21,17	5,55	0,04
	Không	26	8,54±4,93	2,53-24,1	7,11	
Sao mạch	Có	17	5,34±2,38	2,53-12,78	4,97	0,002
	Không	28	9,30±5,63	2,39-24,10	7,11	
Bàn tay son	Có	18	6,81±4,52	2,53-21,17	5,35	0,126
	Không	27	8,47±5,32	2,39-24,1	6,5	
Rối loạn ý thức	Có	5	10,18±8,60	2,53-24,1	6,29	0,718
	Không	40	7,51±4,49	2,39-21,17	6,14	
Xuất huyết tiêu hóa	Có	13	8,37±6,71	2,39-24,1	6,59	0,90
	Không	32	7,57±4,28	2,86-21,17	6,14	
Tuần hoàn bàng hệ	Có	24	7,80±4,97	2,39-20,42	5,48	0,387
	Không	21	7,81±5,22	2,53-24,1	6,5	
Cổ trướng	Có	29	8,13±5,05	2,86-21,17	6,14	0,74
	Không	16	7,21±5,10	2,39-24,1	6,39	
Xơ gan giai đoạn	Còn bù	4	6,87±1,02	2,39-24,1	6,14	0,577
	Mất bù	41	7,89±5,26	5,78-8,21	6,75	
Xơ gan Child Pugh	Child A	5	5,27±2,24	2,39-8,03	5,78	0,35
	Child B	23	7,86±5,37	2,53-21,17	5,94	
	Child C	17	8,47±5,11	3,57-24,1	6,29	

Ở bảng này, có 5 BN không thu thập được đầy đủ số liệu, vì vậy chỉ có số liệu của 45 BN. Kết quả cho thấy, có mối liên quan giữa nồng độ acid folic với các triệu chứng lâm sàng như chán ăn ($p=0,012$), phù ($p=0,04$) và sao mạch ($p=0,002$). Không có sự khác biệt

nồng độ acid folic HT giữa các BN có hay không có các triệu chứng lâm sàng khác như mệt mỏi, vàng da niêm mạc, xạm da, rối loạn ý thức, xuất huyết tiêu hóa, tuần hoàn bàng hệ và cổ trướng.

3.4. Tương quan giữa nồng độ acid folic với một số chỉ số hóa sinh

Bảng 7: Tương quan giữa nồng độ acid folic với một số chỉ số hóa sinh

Chỉ số	Acid folic	
	r	p
Glucose	0,15	0,29
Protein	-0,005	0,97
Albumin	-0,074	0,61
Bilirubin toàn phần	0,008	0,95
Bilirubin trực tiếp	-0,018	0,90
AST	-0,002	0,99
ALT	-0,104	0,47
GGT	-0,231	0,10
Cholesterol	-0,160	0,26
Triglycerid	-0,073	0,61
Ure	0,165	0,25
Creatinin	-0,001	0,99

Trong nghiên cứu này, không thấy có tương quan giữa nồng độ acid folic HT và các chỉ số hóa sinh khác.

IV. BÀN LUẬN

Tại Việt Nam, lạm dụng rượu chủ yếu xảy ra ở nam giới, vì vậy xác suất BN nữ xơ gan do rượu thấp. Trong nghiên cứu này, với cỡ mẫu nhỏ ($n=50$) và thời gian nghiên cứu ngắn, nên nhóm bệnh không có BN nữ nào. Điều này phản ánh đúng thực trạng dịch tễ và phù hợp với các nghiên cứu của Phạm Thị Dung (2018) (100% nam) [3] và Hà Thị Hạnh Dung (2019) (98% nam) [4]. Ngoài dự kiến, nhóm chứng có phân bố tuổi không tương đồng với nhóm bệnh. Cụ thể, tuổi của nhóm bệnh là 54.74 ± 10.12 , cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng $42.76 \pm$

6.61 ($p<0.0001$) (bảng 1). Tỷ lệ phân bố theo nhóm tuổi khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh và nhóm chứng (bảng 2), gợi ý tuổi cao liên quan thời gian lạm dụng rượu kéo dài tăng nguy cơ mắc xơ gan do rượu. Tại Mỹ, tỷ lệ xơ gan cao nhất ở độ tuổi 45-54 tuổi, tiếp theo là độ tuổi 55-64 tuổi [5]. Phân bố tuổi của chúng tôi tương đương với báo cáo trước đó như nghiên cứu của Phạm Thị Dung (2018) là $52,73 \pm 8,35$ [3], Trần Minh Tuấn ($54,40 \pm 12,23$) [6], nhưng cao hơn 218 BN xơ gan rượu trong nghiên cứu của Sylvie Naveau và CS (2008) ($54,7 \pm 10,1$ năm tuổi so với $47 \pm 0,7$ năm tuổi [7]).

Rối loạn chuyển hóa là một trong những cơ chế gây tổn thương gan của rượu [8]. Biến đổi hệ vi khuẩn đường ruột và mất sự toàn vẹn của biểu mô đường ruột ảnh hưởng đến hiệu suất tiêu hóa và hấp thu [9]. Vì thế, thiếu dưỡng không phải là vấn đề mới ở BN xơ gan do rượu. Sự thiếu hụt các vi chất như selen, kẽm, vitamin C, D, E được báo cáo trong các nghiên cứu, nhưng báo cáo về thiếu hụt acid folic còn rất hạn chế [9, 10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự suy giảm nồng độ acid folic ở BN xơ gan do rượu. Mặc dù, tỷ lệ BN suy giảm nồng độ acid folic không khác biệt rõ rệt giữa 2 nhóm (8% ở nhóm bệnh và 0% ở nhóm chứng). Tuy nhiên, nồng độ trong huyết tương thấp hơn rõ rệt là bằng chứng của xu hướng thiếu hụt acid folic ở BN xơ gan do rượu, gợi ý việc bổ sung acid folic chủ động cho BN xơ gan do rượu. Khi thiếu acid folic, phân chia tế bào bao gồm tế bào biểu mô đường tiêu bị gián đoạn, tạo vòng xoắn bệnh lý thiếu dưỡng. Thiếu acid folic có thể làm trầm trọng các triệu chứng thần kinh do ngộ độc rượu.

Nồng độ acid folic thấp hơn ở BN xơ gan do rượu có sao mạch, chán ăn và phù. Phù và chán ăn cũng là gợi ý về tình trạng dinh dưỡng kém ở BN xơ gan. Tuy nhiên, cần có nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để có đủ bằng chứng đưa ra khuyến cáo. Mặt khác, nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra sự độc lập giữa nồng độ acid folic và các chỉ số xét nghiệm cận lâm sàng liên quan đến chức năng gan và sự phá hủy tế bào gan. Như vậy, không có bằng chứng gợi ý về mối tương quan giữa mức độ bệnh với mức độ giảm acid folic.

V. KẾT LUẬN

Ở BN xơ gan do rượu, nồng độ acid folic HT giảm và có liên quan với một số triệu

chứng lâm sàng phổ biến ở BN xơ gan do rượu như sao mạch, chán ăn và phù. Kết quả này gợi ý về sự cần thiết phải bổ sung acid folic vào phác đồ điều trị cho BN xơ gan do rượu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Mokdad, A.A., et al.**, Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med*, 2014. **12**: p. 145.
2. **Milman, N.**, Intestinal absorption of folic acid - new physiologic & molecular aspects. *Indian J Med Res*, 2012. **136**(5): p. 725-8.
3. **Phạm Thị Dung, D.Q.H.**, Nghiên cứu nồng độ homocystein huyết tương ở bệnh nhân xơ gan do rượu. *Y dược học Quân sự 8-TV*, 2018: p. 27-31.
4. **Hà Thị Hạnh Dung, V.Q.H., Lê Thanh hà, Phạm Văn Trân**, Nghiên cứu nồng độ alpha 2 macroglobuline ở bệnh nhân xơ gan do rượu. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 2020. **tập 496, Số chuyên đề**: p. 171-177.
5. **Scaglione, S., et al.**, The Epidemiology of Cirrhosis in the United States: A Population-based Study. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 2015. **49**(8): p. 690-696.
6. **Minh, H.Q.D.T.T.**, Nghiên cứu thay đổi nồng độ D-dimer huyết tương ở bệnh nhân xơ gan. *Y dược học Quân sự 2-TV*, 2018: p. 39-43.
7. **Naveau, S., et al.**, Diagnostic and prognostic values of noninvasive biomarkers of fibrosis in patients with alcoholic liver disease. *Hepatology*, 2009. **49**(1): p. 97-105.
8. **Hyun, J., et al.**, Pathophysiological Aspects of Alcohol Metabolism in the Liver. *Int J Mol Sci*, 2021. **22**(11).
9. **Pohl, K., P. Moodley, and A.D. Dhanda**, Alcohol's Impact on the Gut and Liver. *Nutrients*, 2021. **13**(9).
10. **Libre-Nieto, G., et al.**, Micronutrient Deficiencies in Patients with Decompensated Liver Cirrhosis. *Nutrients*, 2021. **13**(4).

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ HBcrAg HUYẾT TƯƠNG TRONG THEO DÕI ĐIỀU TRỊ VIÊM GAN VIRUS B BẰNG THUỐC NUCLEOT(S)IDE ANALOGUES (NAS)

Trịnh Thị Quế¹, Phan Thanh Nguyên¹, Triệu Thùy Anh¹,
Vũ Anh Tuấn¹, 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. HBcrAg có giá trị trong việc đánh giá đáp ứng điều trị viêm gan B virus bằng thuốc kháng virus loại nucleotid đường uống (Nas). **Mục tiêu:** 1) Đánh giá sự thay đổi nồng độ HBcrAg huyết tương (HBcrAg HT) theo thời gian điều trị. 2) Tìm hiểu mối tương quan của nồng độ HBcrAg HT với một số dấu ấn sinh học trong theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính. **Đối tượng:** 139 bệnh nhân được khám và điều trị tại bệnh viện đa khoa MEDLATEC bằng thuốc NAS, phương pháp nghiên cứu mô tả cắt ngang có tiến cứu. **Kết quả:** Nồng độ HBcrAg HT thay đổi theo thời gian điều trị: trước điều trị nồng độ HBcrAg HT là $5,15 \pm 1,86 \log IU/mL$, sau điều trị 3, 6, 9, 12 tháng nồng độ tương ứng là $5,13 \pm 1,38 \log IU/mL$; $4,77 \pm 1,69 \log IU/mL$; $4,03 \pm 1,78 \log IU/mL$; $3,32 \pm 1,47 \log IU/mL$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Có mối tương quan chặt mức độ vừa giữa nồng độ HBcrAg với nồng độ HBsAg định lượng với $r = 0,378$; $p = 0,033$ và tải lượng virus HBV với $r = 0,389$, $p = 0,034$. **Kết**

luận: 1) Nồng độ HBcrAg HT là dấu ấn có giá trị trong việc theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính. 2) Có mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg HT với HBsAg định lượng và tải lượng HBV trong theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính.

Từ khóa: HBcrAg, viêm gan B mạn tính, theo dõi điều trị

SUMMARY

PLASMA HBCRAG CONCENTRATIONS IN MONITORING NUCLEOT(S)IDE ANALOGUES (NAS) THERAPY IN PATIENTS WITH HEPATITIS B

Plasma HBcrAg (Hepatitis B core-related Antigen) level reflects the concentration of cccDNA in hepatic cells which is equivalent to the sum of HBeAg, HBcAg and P22cr antigen. HBcrAg is valuable in monitoring patients with chronic hepatitis B treated with Nucleot(S)ide Analogues (Nas). **Objectives:** 1) Evaluation of the changes in plasma HBcrAg concentration (plas.HBcrAg) over time of treatment. 2) Exploring the correlation of plas.HBcrAg levels with some biomarkers in monitoring chronic hepatitis B treatment. **Methods:** 139 patients were examined and treated at MEDLATEC General hospital with Nas therapy. This is a prospective cross-sectional descriptive study method. **Results:** The plasma HBcrAg concentration changed with treatment time: before treatment, plas.HBcrAg concentration was $5.15 \pm 1.86 \log IU/mL$, after 3, 6, 9, 12 months the

¹Bệnh viện đa khoa MEDLATEC

²Khoa Y- Đại học Phenikaa

Chịu trách nhiệm chính: Trịnh Thị Quế

Email: que.trinhthi@medlatec.com

Ngày nhận bài: 15.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

corresponding concentrations were 5.13 ± 1.38 logIU/mL; 4.77 ± 1.69 logIU/mL; 4.03 ± 1.78 logIU/mL; 3.32 ± 1.47 logIU/mL, respectively. The difference is statistically significant with $p < 0.001$. There were moderate correlations between plas.HBcrAg concentration and quantitative HBsAg concentration with $r = 0.378$; $p = 0.033$ and HBV viral load with $r = 0.389$, $p = 0.034$. **Conclusions:** 1) The plas.HBcrAg level is a valuable marker in monitoring of chronic hepatitis B treatment. 2) There were correlations between plas. HBcrAg levels with quantitative HBsAg and HBV load in monitoring of chronic hepatitis B treatment.

Keywords: HBcrAg, chronic hepatitis B, treatment monitoring

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan virus B vẫn là một gánh nặng y tế toàn cầu do virus viêm gan type B (HBV) gây ra với biến chứng xơ gan và ung thư gan có tỷ lệ tử vong cao. Tổ chức Y tế thế giới (WHO) ước tính có 296 triệu người đang chung sống 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 820.000 ca, chủ yếu là do xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan [8]. Điều trị kháng virus đã được chứng minh là một cách hiệu quả để ngăn chặn và trì hoãn sự tiến triển của nhiễm HBV và do đó làm giảm tỷ lệ biến chứng viêm gan. Trong hướng dẫn chẩn đoán và điều trị viêm gan virus B của bộ y tế cũng nêu ra mục tiêu điều trị là ức chế lâu dài sự sao chép của HBV và cải thiện chất lượng sống, ngăn ngừa diễn tiến xơ gan, ung thư biểu mô tế bào gan (HCC). Nguyên tắc điều trị được đặt

ra là lựa chọn ban đầu là các thuốc uống nucleot(s)ide analogues (NAs); chỉ nên dùng các phác đồ có Peg-IFN đối với một số trường hợp đặc biệt; điều trị virus viêm gan B mạn với NAs là điều trị lâu dài, có thể kéo dài suốt đời [1]. Vì vậy cần có một dấu ấn hữu hiệu trong việc theo dõi điều trị viêm gan virus B giúp bác sĩ quyết định duy trì thuốc lâu dài hay có thể kết thúc điều trị. 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 [2]. Nồng độ HBcrAg huyết thanh có giá trị trong việc dự đoán đáp ứng với điều trị kháng virus và tái phát sau khi ngừng thuốc NAs, cũng như dự đoán bệnh tiến triển thành xơ gan và ung thư biểu mô tế bào gan ở bệnh nhân viêm gan B mạn tính [6]. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về nồng độ HBcrAg trong theo dõi điều trị. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài với mục tiêu 1) Đánh giá sự thay đổi nồng độ HBcrAg huyết tương (HBcrAg HT) theo thời gian điều trị. 2) Tìm hiểu mối tương quan của nồng độ HBcrAg HT với một số chỉ điểm sinh học trong theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính bằng nucleotid đường uống.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 10/2020 đến tháng 9/2022 tại Bệnh viện Đa khoa MEDLATEC. Bệnh nhân đến khám và được chẩn đoán viêm gan B mạn tính theo Quyết định 3310/QĐ-BYT 2019 hướng dẫn

chẩn đoán, điều trị bệnh viêm gan B. Loại trừ các bệnh nhân có viêm gan B kết hợp các bệnh lý mạn tính khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành theo phương pháp mô tả cắt ngang tiến cứu. Xét nghiệm HBcrAgHT theo nguyên lý miễn dịch enzym hóa phát quang trên hệ thống máy Lumipulse G1200. Nồng độ HBcrAgHT dưới 2 logU/mL được tính bằng 2 logU/mL để phân tích thống kê. Các mẫu có nồng độ HBcrAgHT trên 7 logU/mL được pha loãng và phân tích lại. Định lượng HBcrAgHT bằng phương pháp siêu nhạy (phát hiện với nồng độ 0,005U/mL) cũng được thực hiện trên hệ thống Lumipulse.

Xét nghiệm HBV DNA được thực hiện trên hệ thống sinh học phân tử tự động Cobas 6800 và các xét nghiệm AST, ALT được thực hiện trên hệ thống Cobas tự động 8100 của Roche. Số liệu được thống kê và xử lý bằng phần mềm thống kê y học SPSS 20.0.

2.3. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu: được tính toán dựa vào công thức ước tính một chỉ số trung bình:

$$N = \frac{2 * (Z_{\alpha/2} + Z_b)^2 * (1-r)}{(ES)^2}$$

Từ các nghiên cứu trước đó, lựa chọn $\alpha=5\%$, $\beta=10\%$, $r=0.278$, $d=1.10$, $s=2.89$ từ đó tính được $n=114$. Thực tế số lượng bệnh nhân tham gia nghiên cứu là 139.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu (n=139)

Đặc điểm	Trước điều trị	Sau điều trị	p
Tuổi (năm)	40,92 ± 13,72		
Giới (Nam/nữ)	83/56		
AST (U/mL)	28,78 ± 13,04	27,19 ± 8,00	0,426
ALT U/mL)	33,18 ± 19,08	30,81 ± 14,79	0,456

Nhận xét: đối tượng tham gia nghiên cứu có độ tuổi trung bình 40,92 ± 13,72 tuổi. Số lượng nam giới nhiều hơn nữ giới. Không có sự khác biệt về nồng độ AST và ALT trước và sau điều trị và nồng độ AST và ALT đều nằm trong giới hạn bình thường.

Bảng 3.2. Đặc điểm nồng độ HBcrAg theo giới

Đặc điểm	Mean	SD	p
Trước điều trị	Nam (83)	4,89	0,051
	Nữ (56)	5,45	
Sau điều trị	Nam (83)	4,49	0,079
	Nữ (56)	4,99	

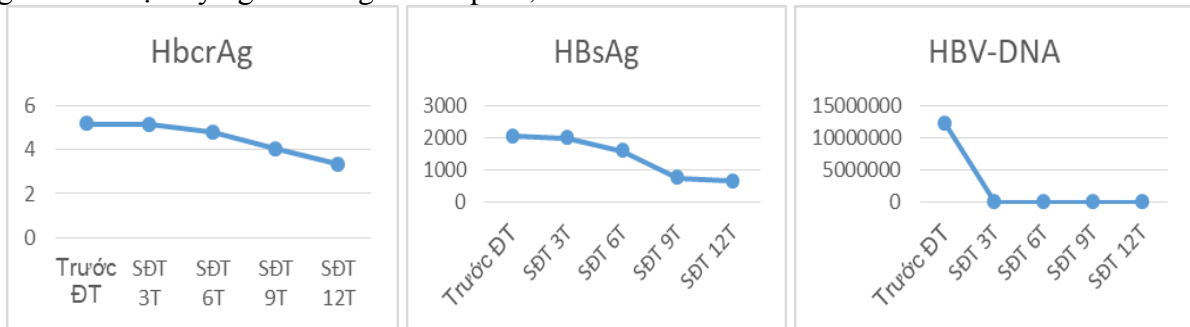
Nhận xét: Không có sự khác biệt về nồng độ HBcrAg theo giới cả trước điều trị và sau điều trị.

3.2. Sự thay đổi nồng độ HBcrAgHT, HBV DNA và HBsAg định lượng theo thời gian điều trị.

Bảng 3.3. Nồng độ các dấu ấn theo dõi trong điều trị viêm gan virus B

Nồng độ theo thời gian		Trước điều trị	Sau điều trị 3 tháng	Sau điều trị 6 tháng	Sau điều trị 9 tháng	Sau điều trị trên 12 tháng	p
HBcrAg (logU/mL) n=139	Mean ± SD	5,15±1,86	5,13±1,38	4,77±1,69	4,03±1,78	3,32±1,47	< 0,0001
HBsAg (IU/mL) n=32	Mean ± SD	2057,42 ±6159,65	1995,51 ±2251,39	1591,22 ±2051,09	750,45 ±822,04	665,62 ±952,3	0,048
HBVDNA (copies/m) n=47	Mean ± SD	12141273,02 ±79416393,5	22503,69 ±61739,09	2131,67 ±6051,91	1618,33 ±2613,57	784,58 ±2541,52	0,046

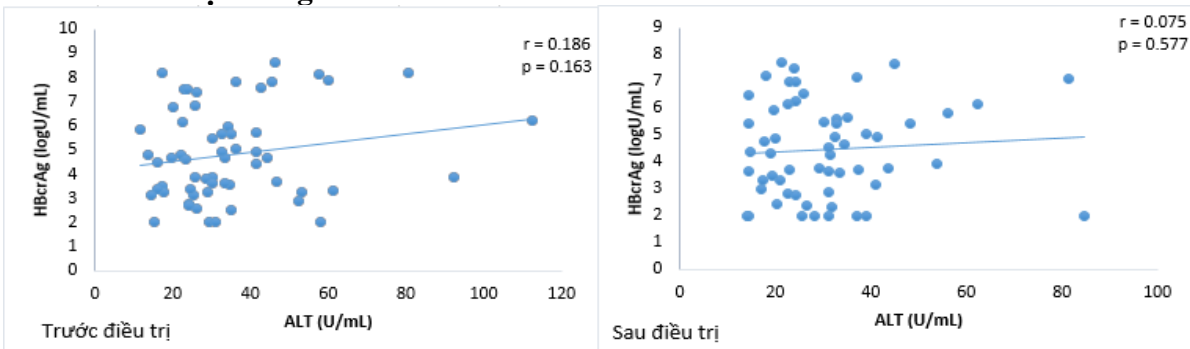
Nhận xét: Nồng độ các dấu ấn trong theo dõi điều trị viêm gan B đều có thay đổi theo thời gian điều trị có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.



Biểu đồ 3.1: Sự thay đổi nồng độ HBcrAg, HBsAg định lượng và HBV DNA theo thời gian điều trị

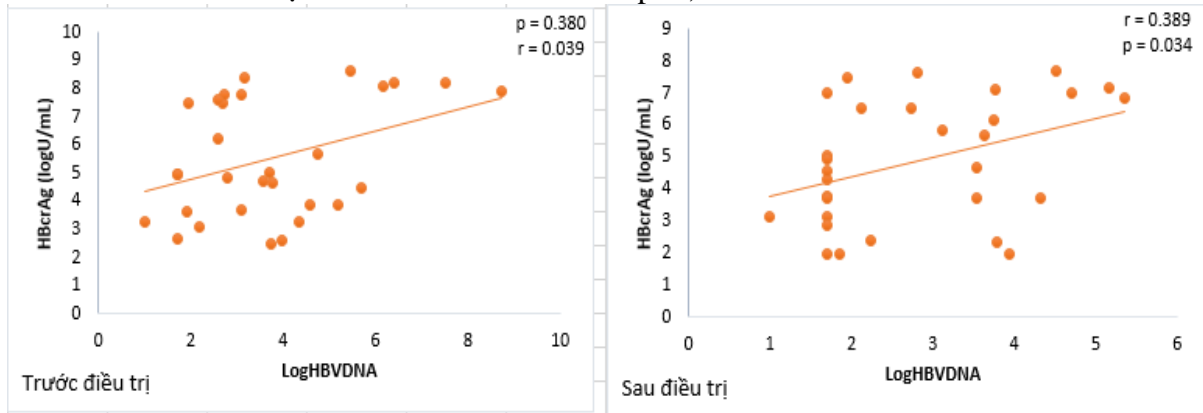
Nhận xét: kết quả HBV DNA giảm nhanh sau 3 tháng điều trị, tuy nhiên nồng độ HBcrAg và HBsAg định lượng giảm chậm, sau 12 tháng điều trị vẫn còn ở nồng độ trung bình của HBcrAg là $3,32 \pm 1,47$ logU/mL. Và nồng độ HBsAg định lượng trung bình là $665,62 \pm 952,3$ IU/mL.

3.3. Đánh giá mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg với các dấu ấn sinh học khác trong theo dõi điều trị viêm gan B.



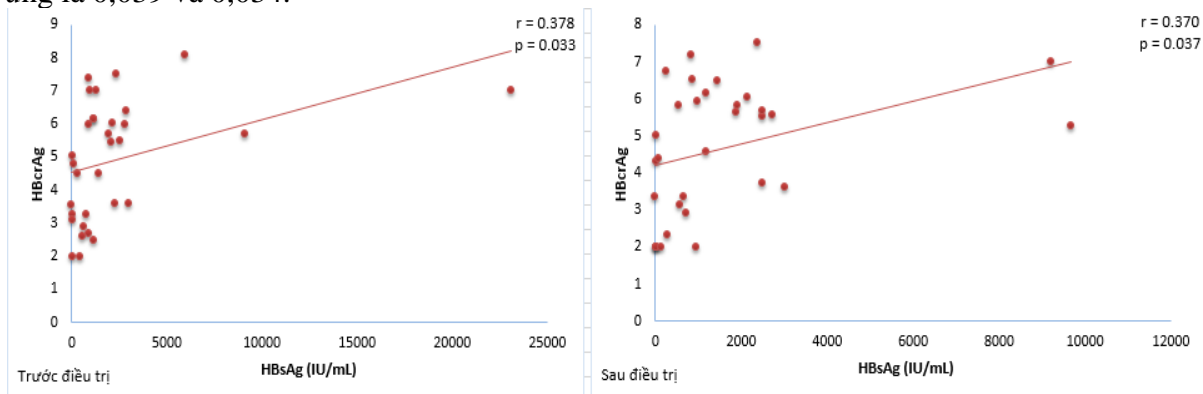
Biểu đồ 3.2: Mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg và nồng độ ALT trước và sau điều trị

Nhận xét: không có mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg với nồng độ ALT huyết tương cả trước và sau điều trị ở tất cả các thời điểm với $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.3: Mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg và tải lượng virus HBV DNA trước và sau điều trị

Nhận xét: Có mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg với tải lượng HBV DNA huyết tương cả trước và sau điều trị ở mức độ vừa với r lần lượt là 0,380 và 0,389; giá trị p tương ứng là 0,039 và 0,034.



Biểu đồ 3.4: Mối liên quan giữa nồng độ HBcrAg và nồng độ HBsAg định lượng trước và sau điều trị

Nhận xét: có mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg với nồng độ HBsAg định lượng trong huyết tương cả trước và sau điều trị ở mức độ vừa với r lần lượt là 0,378 và 0,370; giá trị p tương ứng là 0,033 và 0,037.

IV. BÀN LUẬN

Từ kết quả nghiên cứu cho thấy đặc điểm của nhóm đối tượng tham gia nghiên cứu có độ tuổi $40,92 \pm 13,72$ tuổi, đây là độ tuổi đã nhiễm virus mạn tính và qua giai đoạn dung nạp miễn dịch, bắt đầu chuyển sang giai đoạn hoạt động của virus. Độ tuổi này phù hợp với

sự tiến triển của viêm gan B mạn tính. Số lượng nam giới tham gia nghiên cứu cao hơn nữ giới với nam/nữ là 83/56 do tỷ lệ nhiễm virus viêm gan B ở nam cũng cao hơn ở nữ. Kết quả cũng cho thấy nồng độ HBcrAg không có sự khác biệt theo giới tính (bảng 3.2), như vậy việc đáp ứng miễn dịch của cả

hai giới với virus viêm gan B là như nhau, kết quả của chúng tôi cũng tương đồng với các nghiên cứu khác [7].

Theo hướng dẫn của Bộ Y tế theo quyết định số 3310/QĐ-BYT về việc ban hành hướng dẫn chẩn đoán, điều trị bệnh viêm gan vi rút B đã đưa ra: Thời gian điều trị với thuốc NAs kéo dài, có thể suốt đời. Người bệnh chưa xơ gan cần điều trị lâu dài, có thể xem xét ngưng điều trị trong các trường hợp sau đây: Viêm gan virus B mạn với HBeAg dương tính: có thể ngưng điều trị sau khi đã điều trị thêm 12 tháng kể từ khi có chuyển đổi huyết thanh HBeAg (HBeAg âm tính, anti-HBe dương tính và tải lượng HBV DNA dưới ngưỡng) hoặc mất HBsAg; Viêm gan virus B mạn với HBeAg âm tính: có thể ngưng điều trị khi tải lượng HBV DNA dưới ngưỡng và mất HBsAg; nếu không thể đo tải lượng HBV DNA, có thể cân nhắc ngưng thuốc kháng vi rút khi mất HBsAg kéo dài ít nhất 12 tháng trước khi ngưng điều trị (bất kể tình trạng HBeAg); HBcrAg âm tính [1]. Như vậy việc điều trị bệnh nhân viêm gan B mạn tính là một quá trình lâu dài, cần theo dõi chặt rất nhiều xét nghiệm. Tuy nhiên chỉ cần tiêu chí HBcrAg có thể giúp bác sĩ lâm sàng quyết định duy trì thuốc hay ngưng điều trị cho bệnh nhân. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra mối tương quan chặt chẽ giữa HBcrAg và cccDNA của HBV trong gan [2]. Việc định lượng cccDNA trong gan là khó khăn và cần can thiệp xâm lấn, vì vậy việc sử dụng dấu ấn huyết thanh giúp bác sĩ có thể theo dõi điều trị hiệu quả hơn, tiện lợi và giảm chi phí. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ HBcrAg giảm theo thời gian điều trị ở các

thời điểm 3 tháng, 6 tháng, 9 tháng và 12 tháng với $p < 0,001$, tương tự, nồng độ HBsAg định lượng và nồng độ HBV DNA cũng giảm dần theo thời gian điều trị với p tương ứng là 0,048 và 0,046. Như vậy HBcrAg là một dấu ấn hữu ích cho việc đánh giá đáp ứng với điều trị cho bệnh nhân tương tự như HBsAg định lượng và HBV DNA. Tuy nhiên biểu đồ 1 cũng cho thấy nồng độ HBV DNA giảm nhanh sau 3 tháng điều trị còn nồng độ HBcrAg và nồng độ HBsAg định lượng thì giảm từ từ theo thời gian. Việc giảm nồng độ HBV DNA khi điều trị bằng thuốc NAs thường đạt được sớm sau 3 tháng điều trị nhưng điều này không phản ánh việc virus đã được ức chế do các nguyên liệu tổng hợp nên virus vẫn tiếp tục được sản xuất tại gan [5]. Như vậy dấu ấn HBcrAg phản ánh tốt việc cho việc đáp ứng lâu dài với thuốc điều trị của các thuốc kháng virus NAs. Điều này cũng được khẳng định trong các nghiên cứu khác như Honda và cộng sự năm 2016 [8] hay Lin Wang năm 2019 [5].

Biểu đồ 2 cho thấy không có mối tương quan giữa nồng độ ALT huyết tương với nồng độ HBcrAg với $p > 0,05$. Kết quả này cũng tương đồng với các nghiên cứu khác trên thế giới [4], do nồng độ ALT không phản ánh mức độ sản xuất các thành phần kháng nguyên của virus mà chỉ phản ánh mức độ tổn thương tế bào gan do virus gây ra. Biểu đồ 3 cho thấy có mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg huyết tương với tải lượng virus HBV DNA với $p = 0,034$, tuy nhiên mức độ tương quan ở mức độ vừa, điều này được giải thích do lượng HBV DNA giảm nhanh sau khi điều trị 3 tháng, tuy nhiên nó không phản ánh đúng nồng độ

cccDNA trong gan do đó nồng độ HBV DNA huyết tương chỉ phản ánh việc đáp ứng giai đoạn đầu của việc điều trị viêm gan B, HBcrAg có giá trị đánh giá tốt hơn trong việc đáp ứng lâu dài khi dùng thuốc ức chế virus NAs. Kết quả nghiên cứu này cũng phù hợp với nghiên cứu trong nước và trên thế giới [4]. Mối tương quan của nồng độ HBcrAg với nồng độ HBsAg được thể hiện trong biểu đồ 4 cho thấy có mối tương quan chặt mức độ vừa với $p < 0,05$. Cho đến nay HBsAg định lượng đang là một dấu ấn huyết tương có giá trị trong theo dõi điều trị viêm gan B một cách hữu hiệu nhất. Tuy nhiên nhiều nghiên cứu đã chỉ ra việc mất HBsAg là vô cùng khó khăn, tỷ lệ chỉ chiếm 3% đối với nhóm điều trị bằng interferon và 1% đối với nhóm điều trị bằng NAs. Vì vậy việc duy trì điều trị cho nhóm có HBeAg âm tính là gần như suốt đời. Ngoài ra có một tỷ lệ khoảng 6% các đối tượng nhiễm viêm gan B mạn tính nhưng có HBsAg âm tính [3] nên chưa có dấu ấn sinh học hữu ích để theo dõi điều trị trên nhóm đối tượng có HBsAg âm tính này. Vì vậy chúng ta cần tìm kiếm một dấu ấn khác hiệu quả hơn đó là HBcrAg.

Từ những kết quả nghiên cứu trên cho thấy HBcrAg là một dấu ấn hữu ích trong việc theo dõi điều trị viêm gan virus B, khắc phục được các vấn đề còn thiếu sót của tải lượng virus HBV DNA và nồng độ HBsAg định lượng. Ngoài ra HBcrAg còn là một dấu ấn tiên lượng trong việc tiến triển thành xơ gan và ung thư gan của bệnh nhân có virus HBV mạn tính [2],[7]. Vì vậy cần có các nghiên cứu tiếp theo để đánh giá giá trị của nồng độ HBcrAg trong theo dõi tiên lượng tiến triển thành xơ gan và ung thư gan của

bệnh nhân nhiễm HBV mạn tính.

V. KẾT LUẬN

Từ các kết quả thu được đã chứng minh:

1) Nồng độ HBcrAg HT là dấu ấn có giá trị trong việc theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính bằng thuốc NAs. Nồng độ HBcrAg HT thay đổi sau 3,6,9 và 12 tháng điều trị và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

2) Có mối tương quan giữa nồng độ HBcrAg HT với HbsAg định lượng và tải lượng HBV trong theo dõi điều trị viêm gan B mạn tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế. Quyết định 3310/QĐ-BYT 2019** hướng dẫn chẩn đoán, điều trị bệnh viêm gan B. Luật Việt Nam. <https://luatvietnam.vn/y-te/quyet-dinh-3310-qd-byt-2019-huong-dan-chan-doan-dieu-tri-benh-viem-gan-b-175786-d1.html>. Công bố ngày 29 tháng 7, 2019. Truy cập ngày 20 tháng 8, 2020. (2)
- Honda M, Shirasaki T, Terashima T, et al.** Hepatitis B virus (HBV) core-related antigen during nucleos(t)ide analog therapy is related to intra-hepatic HBV replication and development of hepatocellular carcinoma. *J Infect Dis.* 2016;213:1096–1106. doi: 10.1093/infdis/jiv572. (3)
- Kafeero, H.M., Ndagire, D., Ocama, P. et al.** Hepatitis B virus (HBV) serological patterns among the HBsAg negative hospital attendees screened for immunization. *Sci Rep.* 2022;12:7425. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11535-8> (9)
- Robin Erken, Hans L.Zaaijer, Sophie B.Willemsse, et al.** Hepatitis B core related antigen in relation to intrahepatic and

- circulating viral markers, before and after combination therapy. *Annals of Hepatology*. 2021;100540. doi: <https://doi.org/10.1016/j.aohep.2021.100540> (7)
5. **Suk-Fong Lok A. Hepatitis B Treatment: What We Know Now and What Remains to Be Researched.** *Hepatology Commun*. 2018;3(1):8-19. doi: 10.1002/hep4.1281. PMID: 30619990; PMCID: PMC6312657. (6)
6. **Van Campenhout MJ, Brouwer WP, van Oord GW, et al.** Hepatitis B core-related antigen levels are associated with response to entecavir and peginterferon add-on therapy in hepatitis B e antigen-positive chronic hepatitis B patients. *Clin Microbiol Infect*. 2016;22:571.e5-579. doi: 10.1016/j.cmi.2016.02.002. (4)
7. **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):e01303-18. doi: 10.1128/JCM.01303-18. PMID: 30355757; PMCID: PMC6322451. (5)
8. **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. (1)

TỶ SỐ TG/HDL VÀ MỘT SỐ CHỈ LIPID HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2 TẠI BỆNH VIỆN TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÁI NGUYÊN

Nguyễn Thị Hoa¹, Vũ Thị Hoài Thu¹, Phạm Thị Quyên²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa tỷ số TG/HDL-C huyết tương với mức độ kiểm soát glucose ở bệnh nhân đái tháo đường type 2. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang trên 216 bệnh nhân đái tháo đường (ĐTĐ) type 2 đang điều trị ngoại trú tại Bệnh viện trường Đại học Y Dược Thái Nguyên. **Kết quả:** Tỷ số TG/HDL-C huyết tương là $2,55 \pm 1,85$, tỷ lệ tăng tỷ số này là 75,9%. Nồng độ và tỷ lệ rối loạn

một số chỉ số lipid huyết tương khác gồm cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C, nonHDL-C tương ứng là $5,11 \pm 1,09$ mmol/L; 44,9%, $2,65 \pm 1,63$ mmol/L; 71,3%, $1,10 \pm 0,28$ mmol/L; 44,9%, $2,94 \pm 0,97$ mmol/L; 44,9%, $4,00 \pm 1,09$ mmol/L; 46,3%. Có mối tương quan thuận, mức độ yếu, có ý nghĩa giữa HbA_{1c} với nồng độ TC ($r=0,25$), nồng độ nonHDL-C ($r=0,25$) và tỷ số TG/HDL-C ($r=0,29$). **Kết luận:** Tỷ số TG/HDL-C ở nhóm bệnh nhân kiểm soát không tốt nồng độ glucose cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân kiểm soát tốt nồng độ glucose. Có mối tương quan thuận, mức độ yếu, có ý nghĩa giữa HbA_{1c} với tỷ số TG/HDL-C.

Từ khóa: Đái tháo đường, tỷ số TG/HDL-C, kiểm soát glucose

¹Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên.

²Bệnh viện Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Hoa

Email: hoanguyenth74hstn@gmail.com

Ngày nhận bài: 8.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 16.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

SUMMARY**TG/HDL-C RATIO AND LIPID PROFILE IN TYPE 2 DIABETES IN THAI NGUYEN UNIVERSITY OF MEDICINE AND PHARMACY HOSPITAL**

Objective: Analysis of the relationship between plasma TG to HDL-C ratio and the degree of glycemic control in type 2 diabetes in Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy Hospital. **Subject and method:** A cross-sectional study of 216 diabetic patients in Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy Hospital. **Results:** the ratio of TG to HDL-C was 2.55 ± 1.85 and prevalence of the elevated TG to HDL-C ratio was 75.9%. The mean levels and prevalence dyslipidemia including total cholesterol, triglyceride, HDL-C, LDL-C, nonHDL-C were 5.11 ± 1.09 mmol/L; 44.9%, 2.65 ± 1.63 mmol/L; 71.3%, 1.10 ± 0.28 mmol/L; 44.9%, 2.94 ± 0.97 mmol/L; 44.9%, 4.00 ± 1.09 mmol/L; 46.3% respectively. The results showed a significant positive correlation between HbA_{1c} and TC ($r=0.25$), nonHDL-C ($r=0.25$) and TG/HDL-C ratio ($r=0.29$). **Conclusion:** TG to HDL-C ratio in the poor glycemic control group were higher than the good glycemic control group. There was a significant weak, positive correlation between TG to HDL-C ratio and HbA_{1c} level.

Key word: Diabetes, TG to HDL-C ratio, glycemic control.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường (ĐTĐ) là một trong các bệnh rối loạn chuyển hóa, được đặc trưng bởi tăng glucose máu do giảm hoạt động của insulin hoặc do giảm bài tiết insulin hoặc do cả hai nguyên nhân trên. 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). Số bệnh nhân tử vong do ĐTĐ khoảng 4 triệu người, trong đó 75-80% tử vong do biến chứng tim mạch [1].

Tăng cholesterol_{TP} (TC) huyết tương được xem là yếu tố nguy cơ chính của bệnh tim mạch do xơ vữa, trong đó LDL-C là thành phần đáng quan tâm nhất và là mục tiêu điều trị chính theo ATPIII (NCEP). Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy kích thước của hạt LDL-C (kích thước nhỏ và đậm đặc) là yếu tố quyết định khả năng gây xơ vữa. Các hạt LDL-C nhỏ lại không thể định lượng trực tiếp mà chỉ có thể đánh giá gián tiếp qua tỷ số TG/HDL-C [2], [3].

Các rối loạn lipid máu đặc trưng của đái tháo đường type 2 là tăng VLDL, LDL-C nhỏ, đậm đặc, giảm HDL-C. LDL-C nhỏ, đậm đặc biểu hiện với tần suất cao, ngay cả những bệnh nhân không có rối loạn lipid [4]. Hơn nữa, ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 có nồng độ HDL-C và triglycerid trong giới hạn bình thường vẫn không loại trừ khả năng tăng các hạt LDL nhỏ, đậm đặc. Nguy cơ bệnh tim mạch tồn lưu xuất phát từ ít nhất một phần từ triglycerid tăng cao hay HDL-C giảm thấp. Tỷ lệ TG/HDL-C là một nguy cơ tồn lưu, điều này có nghĩa là mặc dù mục tiêu điều trị là làm giảm LDL-C nhưng cũng phải chú ý đến tỷ lệ TG/HDL-C, một dấu hiệu cho các nguy cơ bệnh lý bệnh tim mạch [4].

Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy tỷ số TG/HDL ở nhóm bệnh nhân bệnh mạch vành có đái tháo đường cao hơn so với nhóm bệnh mạch vành tiền đái tháo đường và nhóm bệnh mạch vành có nồng độ glucose huyết bình thường [3]. Hơn nữa, tỷ số TG/HDL-C huyết tương còn liên quan đến

mức độ kiểm soát glucose. Ở nhóm bệnh nhân đái tháo đường không kiểm soát tốt nồng độ glucose tỷ số này cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân đái tháo đường kiểm soát tốt nồng độ glucose [5].

Tại Việt Nam, có nhiều nghiên cứu về nồng độ một số chỉ số lipid máu ở bệnh nhân đái tháo đường. Tuy nhiên, chưa có nhiều nghiên cứu về các tỷ số lipid đặc biệt tỷ số TG/HDL-C ở bệnh nhân đái tháo đường. Tỷ số TG/HDL-C huyết tương thay đổi như thế nào? và có liên quan đến mức độ kiểm soát glucose không? Để trả lời câu hỏi trên chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa tỷ số TG/HDL-C huyết tương với mức độ kiểm soát glucose ở bệnh nhân ĐTĐ type 2.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 216 bệnh nhân ĐTĐ type 2 được quản lý điều trị ngoại trú tại đơn vị quản lý Đái tháo đường - Tăng huyết áp, Bệnh viện trường Đại học Y Dược 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 tít 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:**

ĐTĐ thai kì. ĐTĐ kết hợp có rối loạn lipid huyết tương thứ phát: Hội chứng thận

hur, Basedow, suy giáp hoặc đang dùng thuốc (corticoid, estrogen). Bệnh nhân bị rối loạn tâm thần, rối loạn trí nhớ, sa sút trí tuệ, không có khả năng giao tiếp. Bệnh nhân ĐTĐ type 2 không đồng ý tham gia nghiên cứu.

*Tiêu chuẩn phân loại rối loạn lipid máu theo Hội Tim mạch Việt Nam năm 2006: Tăng cholesterol_{TP} ≥5,2 mmol/L; Tăng triglycerid ≥1,7 mmol/L; Giảm HDL-C ≤1,0 mmol/L; Tăng LDL-C ≥3,1 mmol/L; Tăng nonHDL-C >4,1 mmol/L. Tăng TG/HDL-C >1,33.

*Tiêu chuẩn phân loại thể trạng theo chỉ số khối cơ thể (BMI) áp dụng cho người châu Á: Gầy khi BMI < 18,5; Bình thường khi BMI 18,5 - 22,9; Thừa cân khi BMI từ 23 - 24,9; Béo phì khi BMI ≥ 25.

*Phân loại tăng huyết áp theo JNC VI.

*Tiêu chuẩn đánh giá kết quả điều trị của người bệnh ĐTĐ theo ADA năm 2012:

Chỉ số	Đánh giá	
	Tốt	Không tốt
HbA1C (%)	< 7%	≥ 7%
Glucose máu lúc đói (mmol/L)	< 7,2	≥ 7,2

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu:

Nghiên cứu được tiến hành tại đơn vị quản lý ĐTĐ-THA, khoa Xét nghiệm bệnh viện trường Đại học Y Dược Thái Nguyên từ tháng 7/2019 đến tháng 6/2020.

2.3. Thiết kế nghiên cứu:

Mô tả cắt ngang.

2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu

Cỡ mẫu được tính theo công thức: $n =$

$$\frac{(Z_{1-\alpha/2})^2}{d^2} \cdot p.q$$

n: cỡ mẫu nghiên cứu

α : mức ý nghĩa thống kê, với $\alpha = 0,05$ thì hệ số $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$

p là tỷ lệ tăng tỷ số TG/HDL-C trong một nghiên cứu trước (lấy trong nghiên cứu của tác giả Artha (2019) tỷ lệ tăng tỷ số TG/HDL-C là 60,7% [5].

Từ công thức trên ta có số đối tượng nghiên cứu là 212. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 216 bệnh nhân.

2.5. Thiết bị nghiên cứu

Các máy xét nghiệm sinh hóa tự động OLYMPUS AU.

Hóa chất do hãng BECKMAN COULTER cung cấp.

2.6. Chỉ tiêu nghiên cứu

- Thông tin chung: tuổi, giới, thời gian mắc bệnh.

- Đặc điểm lâm sàng: Huyết áp, chiều cao, cân nặng, chỉ số BMI.

- Đặc điểm cận lâm sàng: Định lượng

nồng độ một số thành phần lipid huyết tương: cholesterol_{TP} (TC), triglycerid, HDL-C, LDL-C; Tỷ số TG/HDL-C.

non HDL-C được tính theo công thức: non HDL = TC – HDL-C.

2.7. Kỹ thuật thu thập số liệu

Thu thập số liệu các thông tin chung và chỉ tiêu lâm sàng, cận lâm sàng theo mẫu bệnh án nghiên cứu. Định lượng các chỉ số cận lâm sàng theo quy trình chuẩn trên máy AU480.

2.8. Phương pháp xử lý số liệu: Theo phương pháp thống kê y học sử dụng phần mềm Stata 14.

2.9. Đạo đức trong nghiên cứu: Nghiên cứu được Hội đồng thông qua đề cương 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=216)

	Đặc điểm	n	%
Giới	Nam	112	51,9
	Nữ	104	48,1
Tuổi	$\bar{X} \pm SD$ (năm)	63,2 ± 6,5	41-87
	<60 tuổi	53	24,5
	≥60 tuổi	163	75,5
BMI (kg/m ²)	$\bar{X} \pm SD$	23,7±2,7	18,6-33,2
	<23	96	44,4
	≥23	120	55,6
Thời gian mắc bệnh	$\bar{X} \pm SD$ (năm)	6,95±5,82	1-31
	<5 năm	94	43,5
	≥5 năm	122	56,5
Huyết áp	HATT ($\bar{X} \pm SD$)	131,2±10,4	110-180
	HATTr ($\bar{X} \pm SD$)	79,0±6,1	65-100
	Bình thường	168	77,8
	Tăng HA	48	22,2

Nhận xét: Không có sự khác biệt về giới ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu. Bệnh nhân chủ yếu ở độ tuổi ≥ 60 , chiếm 75,5%, tỷ lệ bệnh nhân có thừa cân, béo phì chiếm 56,5%. Thời gian mắc bệnh trung bình là 6,95 năm, tỷ lệ bệnh nhân có thời gian ≥ 5 năm là 56,5%. Có 22,2% không kiểm soát tốt huyết áp.

Bảng 2. Một số đặc điểm cận lâm sàng nhóm bệnh nhân nghiên cứu (n=216)

Chỉ số		n	%
Glucose (mmol/L)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	7,4 \pm 1,9	
	KS tốt	95	44,0
	KS không tốt	121	56,0
HbA _{1c} (%)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	6,4 \pm 1,1	
	KS tốt	136	63,0
	KS không tốt	80	37,0
TC (mmol/L)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	5,11 \pm 1,09	2,2 - 8,7
	Bình thường	119	55,1
	Tăng	97	44,9
TG (mmol/L)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	2,65 \pm 1,63	0,4 - 9,3
	Bình thường	62	28,7
	Tăng	154	71,3
HDL-C (mmol/L)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	1,10 \pm 0,28	0,3 - 1,9
	Bình thường	119	55,1
	Giảm	97	44,9
LDL (mmol/L)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	2,94 \pm 0,97	1,8 - 5,9
	Bình thường	119	55,1
	Tăng	97	44,9
Non HDL-C (mmol/L)	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	4,00 \pm 1,09	1,9 - 6,5
	Bình thường	116	53,7
	Tăng	100	46,3
TG/HDL-C	$\bar{X} \pm SD$ (Min-Max)	2,55 \pm 1,85	0,3-9,8
	Bình thường	52	24,1
	Tăng	164	75,9

Nhận xét: Tăng nồng độ triglycerid, glucose và HbA_{1c} ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu, các thành phần lipid huyết tương khác trong giới hạn bình thường, tỷ lệ tăng tỷ số TG/HDL-C là cao nhất, chiếm 75,9%; tỷ lệ tăng TC 44,9%, tăng TG 71,3%, tăng LDL-C 44,9%, tăng nonHDL-C 46,3%, tăng TG/HDL-C là 75,9%, giảm HDL-C 44,9%.

Bảng 3. Mối liên quan TG/HDL-C và một số chỉ số lipid huyết tương với mức độ kiểm soát glucose ở nhóm nghiên cứu (n=216)

Chỉ số	Tốt (n=95)	Không tốt (n=121)	p
TC (mmol/L)	4,96±1,05	5,23±1,12	<0,05
Tăng TC (n (%))	36 (37,9)	61 (50,4)	
TG (mmol/L)	2,45±1,45	2,78±1,76	>0,05
Tăng TG (n (%))	65 (68,4)	89 (73,5)	
HDL-C (mmol/L)	1,12±0,28	1,09±0,28	>0,05
Giảm HDL-C (n (%))	43 (45,3)	54 (44,6)	
LDL-C (mmol/L)	2,83±0,92	3,03±1,00	>0,05
Tăng LDL-C (n (%))	40 (42,1)	59 (48,8)	
NonHDL-C (mmol/L)	3,84±1,07	4,14±1,10	<0,05
Tăng nonHDL-C (n (%))	37 (38,9)	63 (52,1)	
TG/HDL-C (mmol/L)	2,39±1,67	2,73±1,04	<0,01
Tăng TG/HDL-C (n (%))	60 (63,2)	104 (85,9)	

Nhận xét: Ở nhóm bệnh nhân kiểm soát không tốt nồng độ glucose, nồng độ và tỷ lệ tăng TC, nonHDL-C cũng như tỷ số TG/HDL-C huyết tương cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân kiểm soát tốt nồng độ glucose, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

Bảng 4. Mối tương quan giữa tỷ số TG/HDL-C và một số chỉ số lipid huyết tương với mức độ kiểm soát glucose ở nhóm nghiên cứu (n=216)

Chỉ số	HbA _{1c}		
	n	r	p
TC (mmol/L)	216	0,25	<0,05
TG (mmol/L)	216	0,18	>0,05
HDL-C (mmol/L)	216	-0,19	>0,05
LDL-C (mmol/L)	216	0,21	>0,05
NonHDL-C (mmol/L)	216	0,25	<0,05
TG/HDL-C (mmol/L)	216	0,29	<0,05

Nhận xét: Có mối tương quan thuận, mức độ yếu, có ý nghĩa giữa HbA_{1c} với nồng độ TC ($r=0,25$), nồng độ nonHDL-C ($r=0,25$) và tỷ số TG/HDL-C ($r=0,29$).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu về tỷ số TG/HDL-C và một số chỉ số lipid huyết tương ở 216 bệnh nhân đái tháo đường type 2 tại bệnh viện trường Đại học Y Dược Thái Nguyên, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ nam chiếm 51,9%, nữ chiếm 48,1%, độ tuổi trung bình là $63,2 \pm 6,5$ (năm), thời gian mắc bệnh

trung bình là $6,95 \pm 5,82$ (năm), số bệnh nhân có thời gian mắc bệnh ≥ 5 năm chiếm 56,5%, chỉ số BMI trung bình là $23,7 \pm 2,7$ (kg/m^2), có 56,5% số bệnh nhân thừa cân-béo phì. Tác giả Agarwal (2015) nghiên cứu ở 187 bệnh nhân đái tháo đường tại Ahmedabad (Ấn Độ) cho thấy tỷ lệ nam/nữ là 98/89, ở độ tuổi trung bình là $55,8 \pm 10,12$ (năm), có thời

gian mắc bệnh trung bình là $4,8 \pm 3,64$ (năm), chỉ số BMI trung bình là $25,6 \pm 5,81$ (kg/m^2), tỷ lệ bệnh nhân thừa cân-béo phì là 73,8% [6]. Tác giả Safo (2018) nghiên cứu trên 210 bệnh nhân đái tháo đường ở độ tuổi trung bình là $55,56 \pm 10,48$ (năm), tỷ lệ bệnh nhân nữ chiếm 60,5%, chỉ số BMI trung bình là $29,49 \pm 4,49$ (kg/m^2) [1]. Tỷ lệ nam/nữ trong nghiên cứu của tác giả Vũ Thị Thanh Huyền ở 456 bệnh nhân đái tháo đường >60 tuổi là 36,4%/63,6% [7].

Tỷ số TG/HDL-C huyết tương trong nghiên cứu của chúng tôi là $2,55 \pm 1,85$, tỷ lệ tăng tỷ số TG/HDL-C là 75,9%. Ở nhóm bệnh nhân đái tháo đường kiểm soát tốt nồng độ glucose và nhóm bệnh nhân đái tháo đường không kiểm soát tốt nồng độ glucose tỷ số này tương ứng là $2,39 \pm 1,67$ và $2,73 \pm 1,04$. Tỷ số TG/HDL-C huyết tương trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của tác giả Artha là $3,34 \pm 0,61$ ở nhóm bệnh nhân đái tháo đường kiểm soát tốt nồng độ glucose và ở nhóm bệnh nhân đái tháo đường không kiểm soát tốt nồng độ glucose là $3,47 \pm 0,79$ [5].

Artha và cộng sự (2019) đã nghiên cứu về nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương cũng như các tỷ số này trong dự báo mức độ kiểm soát glucose ở 140 bệnh nhân đái tháo đường, kết quả nghiên cứu cho thấy: ở nhóm bệnh nhân không kiểm soát tốt nồng độ glucose có nồng độ TC, LDL-C, nonHDL-C và tỷ số TG/HDL-C cao hơn; nồng độ HDL-C thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân kiểm soát tốt nồng độ glucose. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ TG huyết tương ở nhóm bệnh nhân không kiểm soát tốt nồng độ glucose so với nhóm

bệnh nhân kiểm soát tốt nồng độ glucose. Có mối tương quan thuận, mức độ khá chặt có ý nghĩa giữa mức độ kiểm soát glucose với LDL ($r=0,679$), TC ($r=0,472$), LDL-C/HDL-C ($r=0,543$), và TG/HDL-C ($r=0,5$), TG ($r=0,276$), TC/HDL-C ($r=0,266$). Có mối tương quan nghịch, mức độ khá chặt có ý nghĩa giữa mức độ kiểm soát glucose với HDL ($r=-0,586$) [5].

Tác giả Yang (2022) đã nghiên cứu về mối liên quan giữa tỷ số TG/HDL và một số chỉ số lipid khác với nguy cơ tiền đái tháo đường và đái tháo đường trên 28476 bệnh nhân bệnh mạch vành, bệnh nhân được chia làm 3 nhóm: nhóm 1 gồm những bệnh nhân có nồng độ glucose bình thường; nhóm 2 là những bệnh nhân tiền đái tháo đường, nhóm 3 gồm những bệnh nhân đái tháo đường. Kết quả nghiên cứu cho thấy những chỉ số lipid không truyền thống như nonHDL-C; LDL-C/HDL-C, TC/HDL-C, non-HDL-C/HDL-C và TG/HDL-C có liên quan đến nguy cơ tiền đái tháo đường và đái tháo đường. Trong đó tỷ số TG/HDL-C là yếu tố nguy cơ cao nhất liên quan đến tiền đái tháo đường và đái tháo đường với OR: 1,19; 95% CI 1,16-1,3), (OR: 1,36; 95% CI 1,33-1,39) [3].

Tăng nồng độ TG và giảm nồng độ LDL-C được biết đến là yếu tố nguy cơ đến kháng insulin và bệnh tim mạch. Ren và cộng sự (2016) đã nghiên cứu về tỷ số TG/HDL-C ở 560 bệnh nhân đái tháo đường mới mắc, bệnh nhân được chia làm 3 nhóm theo tam phân vị của tỷ số TG/HDL-C như sau: T1: 0,12-0,95 ($n = 186$); T2: 0,96-1,70 ($n = 186$); T3: 1,71-10,14 ($n = 188$), kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm bệnh nhân có tỷ số TG/HDL-C ở tam phân vị thứ 3 một số đặc điểm về

lâm sàng như huyết áp, chỉ số BMI, vòng eo, vòng hông và một số chỉ số cận lâm sàng gồm HbA_{1c}, nồng độ glucose và chỉ số HOMA cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân có tỷ số TG/HDL-C ở tam phân vị thứ 1. Có mối tương quan thuận, mức độ trung bình có ý nghĩa giữa tỷ số TG/HDL-C với huyết áp ($r=0,15$); chỉ số BMI ($r=0,21$); HbA_{1c} ($r=0,18$); nồng độ glucose ($r=0,16$) [2]. Gong và cộng sự (2021) đã có nghiên cứu theo dõi dọc trên 17708 người trên 45 tuổi trong đó có 11847 mẫu máu được lấy tại thời điểm nghiên cứu để theo kết quả đái tháo đường sau 2 năm. Kết quả nghiên cứu cho thấy: có 7329 đối tượng đủ số liệu để phân tích sau 2 năm, với thời gian theo dõi trung bình là 3,4 năm có 387 đối tượng chiếm 5,28% tiến triển thành đái tháo đường mới mắc. Khi so sánh với những đối tượng tham gia có nồng độ lipid bình thường, nguy cơ đái tháo đường gặp ở những đối tượng có tăng TC, TG và giảm HDL-C với OR và 95% CI tương ứng là 1,48 (1,11 - 1,96), 1,92 (1,49 - 2,46) và 1,67 (1,35 - 2,07) [8].

Về mối liên quan giữa tỷ số TG/HDL-C và nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương với mức độ kiểm soát glucose huyết tương, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: Có mối tương quan thuận, mức độ yếu, có ý nghĩa giữa HbA_{1c} với nồng độ TC ($r=0,25$), nồng độ nonHDL-C ($r=0,25$) và tỷ số TG/HDL-C ($r=0,29$). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với của tác giả Artha [5], tác giả Ren [2].

Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ số TG/HDL-C và một số chỉ số lipid huyết tương có thể dự báo mức độ kiểm soát glucose ở bệnh nhân đái tháo đường. Cần có

thêm những thông tin khác như chế độ ăn uống, luyện tập cũng như những biến chứng ở bệnh nhân đái tháo đường, có liên quan đến mức độ kiểm soát glucose, đây chính là hạn chế của nghiên cứu.

V. KẾT LUẬN

Tỷ số TG/HDL-C ở bệnh nhân đái tháo đường là $2,55 \pm 1,85$, tỷ lệ tăng TG/HDL-C là 75,9%. Tỷ số TG/HDL-C ở nhóm bệnh nhân kiểm soát không tốt nồng độ glucose cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân kiểm soát tốt nồng độ glucose. Có mối tương quan thuận, mức độ yếu, có ý nghĩa giữa HbA_{1c} với tỷ số TG/HDL-C.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Safo A, et al (2018). Correlation between Non-high-density Lipoprotein-Cholesterol and the Degree of Glycemic Control in Type 2 Diabetes Mellitus. Medical Journal of Babylon. 15 (2), 169-172.
2. Ren X, Chen Z, Zheng S, et al (2016). Association between Triglyceride to HDL-C Ratio (TG/HDL-C) and Insulin Resistance in Chinese Patients with Newly Diagnosed Type 2 Diabetes Mellitus. PLOS ONE, 1-13.
3. Yang T, Liu Y, Li L, Zheng Y, Wang Y, et al (2022). Correlation between the triglyceride-to-high-density lipoprotein cholesterol ratio and other unconventional lipid parameters with the risk of prediabetes and Type 2 diabetes in patients with coronary heart disease: a RCSCD-TCM study in China. Cardiovascular Diabetology, 21 (93), 1-12.
4. Nguyễn Cửu Lợi (2016). “Tần suất rối loạn TG/HDL-C ở bệnh nhân bệnh mạch vành”. Trung tâm Tim mạch, bệnh viện Trung ương Huế.

5. Artha M.JR, Bhargah A. Pande U.W, Triyana K.A, Mahariski P.A (2019). High level of individual lipid profile and lipid ratio as a predictive marker of poor glycemetic control in type-2 diabetes mellitus. *Vascular Health and Risk Management*, 15, 149-157.
6. Agarwal, et al (2016). Association between glycemetic control and serum lipid profile in known diabetic patients of civil hospital. *International Journal of Medical Science and Public Health*, 5 (2): 356-360.
7. Vũ Thị Thanh Huyền, Hà Trần Hưng, Khúc Thị Hương (2015). Nghiên cứu đặc điểm các chỉ số lipid máu và non-HDL- cholesterol ở bệnh nhân đái tháo đường cao tuổi có yếu tố nguy cơ tim mạch. *Tạp chí Y - Dược học quân sự*, 4: 89-94.
8. Gong R, Liu Y, Luo G, et al (2021). Associations of TG/HDL Ratio with the Risk of Prediabetes and Diabetes in Chinese Adults: A Chinese Population Cohort Study Based on Open Data. *International Journal of Endocrinology*, 13 pages.

SỰ THAY ĐỔI NỒNG ĐỘ CYSTATIN C HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN MẮC BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH

Uông Thị Thu Hương¹, Bùi Tuấn Anh¹, Đoàn Thị Nguyệt¹, Nguyễn Thị Quỳnh Nga¹, Phan Thị Hạnh¹, Vũ Văn Giáp², Phạm Thiện Ngọc³

TÓM TẮT

Các nghiên cứu gần đây chỉ ra mối liên hệ có thể có giữa nồng độ Cystatin C huyết tương (CysC-HT) và bệnh phổi tắc nghẽn mãn tính (COPD), tuy nhiên, kết luận không rõ ràng. **Mục tiêu:** 1) Xác định nồng độ CysC huyết tương ở bệnh nhân (BN) mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD) đợt cấp và giai đoạn ổn định; 2) Khảo sát mối liên quan giữa nồng độ CysC HT với các yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng. **Đối tượng tượng & phương pháp:** 218 bệnh nhân

COPD (81 trong giai đoạn ổn định, 137 trong đợt cấp) được đưa vào nghiên cứu. Nghiên cứu đánh giá các chỉ số: chức năng phổi, chỉ số khối cơ thể (BMI), số lượng bạch cầu, hsCRP, Procalcitonin (PCT), urê, creatinin, Cystatin , tình trạng hút thuốc ở cả hai nhóm BN. **Kết quả:** Nồng độ CysC HT ở BN COPD đợt cấp là $1,27 \pm 0,37\text{mg/L}$ cao hơn COPD giai đoạn ổn định là $1,01 \pm 0,18\text{mg/L}$ có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ Cys HT ở nhóm B, C, D ở BN COPD đợt cấp cao hơn COPD giai đoạn ổn định tương ứng ($p < 0,01$, $p < 0,05$). Nồng độ CysC HT ở BN đợt cấp tắc nghẽn nặng (GOLD3) và rất nặng (GOLD4) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với BN COPD ổn định ($p < 0,01$). Nồng độ CysC HT ở nhóm COPD đợt cấp cho thấy có mối tương quan nghịch tương ứng với FEV1%, FVC%, FEV1/FVC% ($r = -0,37$, $r = -0,314$, $r = -0,362$), và tương quan thuận tương ứng với nồng độ

¹Bệnh viện Bạch Mai ,

²Trường Đại Học Y Hà Nội

³Khoa Y, Đại học Phenikaa.

Chịu trách nhiệm chính: Uông Thị Thu Hương

Email: uongthuhuong76@gmail.com

Ngày nhận bài: 8.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

hsCRP, PCT ($r = 0,398$, $r = 0,426$). **Kết luận:** 1) Nồng độ CysC HT tăng ở cả BN COPD đợt cấp và COPD ổn định. 2) Nồng độ CysC HT tăng có liên quan đến tình trạng viêm và mức độ nặng của tắc nghẽn luồng khí ở BN COPD đợt cấp.

Từ khóa: CysC, COPD giai đoạn cấp, COPD giai đoạn ổn định.

SUMMARY

CHANGE OF PLASMA CYSTATIN C LEVEL IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Recent studies indicate a possible association between plasma Cystatin C (CysC) level and Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD), however, the conclusions are not clear.

Objectives: The aim of this study: 1) Determine the level of plasma CysC in patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease (COPD) during exacerbation and stable periods. 2) Survey the relationship between plasma CysC levels and the clinical and subclinical factors. **Subject & method:** Two hundred and eighteen patients with COPD (81 in stable periods, 137 during exacerbation periods) were included in the study. Pulmonary function test, Body mass index (BMI), white blood cell counts, high sensitive C-reactive protein (hsCRP), Procalcitonin (PCT), urea, creatinine levels, smoking (packs/year) were evaluated in both groups of patients. The plasma Cys C levels were also measured in all participants. **Results:** Plasma CysC levels of the AECOPD group (1.27 ± 0.37 mg/L) were statistically higher than the SCOPD group (1.01 ± 0.18 mg/L) with $p < 0.01$. Results plasma CysC in ABCD stages: CysC levels of B, C, and D stages in the AECOPD group were statistically higher than the SCOPD group ($p < 0.01$) and ($p < 0.05$), respectively. The severity of obstruction levels like GOLD3 and GOLD4,

plasma CysC levels of AECOPD were statistically higher than SCOPD ($p < 0.01$). Plasma CysC levels showed a negative correlation with FEV₁%, FVC%, FEV1/FVC% ($r = -0,37$, $r = -0,314$, $r = -0,362$), respectively and a positive correlation with plasma hsCRP, PCT ($r = 0,398$, $r = 0,426$) respectively in patients with AECOPD. **Conclusion:** 1) The level of plasma CysC was increased in both patient groups of AECOPD and SCOPD. 2) Increased CysC levels were related to inflammation and the severity of airflow obstruction disease in AECOPD patients.

Keywords: COPD, plasma CysC, pulmonary function.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD) là một bệnh đặc trưng bởi sự tắc nghẽn dòng khí không thể đảo ngược hoàn toàn, viêm mãn tính đường thở và các ảnh hưởng toàn thân hoặc bệnh đi kèm¹. Ngày nay, các hướng dẫn GOLD 2021 khuyến nghị đo chức năng hô hấp như một chỉ số chẩn đoán và tiên lượng cho COPD². Tuy nhiên, đo chức năng hô hấp không phải ở cơ sở y tế nào cũng thực hiện được. Do đó, việc phát hiện các chỉ điểm sinh học mới đơn giản và tiên hành thuận tiện nhằm góp phần chẩn đoán, tiên lượng và hỗ trợ điều trị bệnh COPD là rất cần thiết. CysC, một chất ức chế cysteine proteinase, thuộc họ II của siêu họ cystatin và có vai trò bảo vệ tế bào người khỏi sự thủy phân quá mức và không phù hợp của các protease bên trong và bên ngoài cơ thể³. Trong những năm gần đây, có nhiều nghiên cứu về ý nghĩa lâm sàng của sự thay đổi nồng độ Cys C huyết thanh trong các bệnh lý đường hô hấp và mối liên hệ giữa Cys C với

COPD⁴. Nghiên cứu “*Sự thay nồng độ Cys C huyết tương ở bệnh nhân mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính*” được thực hiện với mục tiêu

1) *Xác định nồng độ CysC huyết tương ở bệnh nhân mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD) trong đợt cấp và giai đoạn ổn định.*

2) *Khảo sát mối liên quan giữa nồng độ CysC HT với các yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng ở các nhóm bệnh nhân COPD.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng: 218 bệnh nhân COPD (trong đó có 137 bệnh nhân đợt cấp và nhóm chứng gồm 81 bệnh nhân ổn định) được khám và điều trị tại Khoa Khám Bệnh và Trung tâm Hô Hấp bệnh viện Bạch Mai. Các bệnh nhân được chẩn đoán COPD theo tiêu chuẩn GOLD 2021².

+ Triệu chứng lâm sàng: khó thở với các đặc điểm dai dẳng tiến triển nặng dần theo thời gian, tăng khi gắng sức. Ho mạn tính có thể ngắt quãng hoặc ho khan, khạc đờm mạn tính.

+ Có tiền sử tiếp xúc yếu tố nguy cơ như hút thuốc, khói bụi, bệnh nghề nghiệp.

+ Chẩn đoán xác định: Đo chức năng hô hấp: có tắc nghẽn không hồi phục với kết quả sau test hồi phục phế quản: FEV1/FVC < 70% sau test hồi phục phế quản hoặc FEV1 tăng < 12% và < 200ml sau test HPPQ.

Tiêu chuẩn chẩn đoán đợt cấp COPD theo tiêu chuẩn Anthonisen⁵

- Khó thở tăng, khạc đờm tăng; Thay đổi màu sắc của đờm, đờm chuyển thành đờm mủ; Có hoặc không có triệu chứng toàn thân.

Đánh giá COPD theo nhóm ABCD.

Phân nhóm ABCD chủ yếu dựa vào:

+ Mức độ triệu chứng, ảnh hưởng của bệnh (mMRC, CAT).

+ Nguy cơ đợt cấp (tiền sử đợt cấp/năm, mức độ nặng đợt cấp).

Đánh giá mức độ tắc nghẽn đường thở. Dựa vào FEV1 sau test hồi phục phế quản phân loại 4 nhóm GOLD 1,2, 3,4

Tiêu chuẩn loại trừ: BN khó thở do hen phế quản, suy tim xung huyết, giãn phế quản và các bệnh ảnh hưởng đến nồng độ Cys C.

Xét nghiệm Cys C, Ure, Creatinine, hsCRP, PCT, công thức máu được thực hiện theo các phương pháp chuẩn của IFCC tại khoa Hóa sinh và Huyết học Bệnh viện Bạch Mai .

Thời gian nghiên cứu được tiến hành từ 8/2021 đến tháng 6/2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

Cỡ mẫu: sử dụng công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu một trị số trung bình.

Máy xét nghiệm Architect 16200 (Abbott Mỹ), máy huyết học Siemens Advia (Ireland).

Phương pháp tiến hành: Bệnh nhân được khám lâm sàng và cận lâm sàng, khai thác tiền sử bệnh, chiều cao cân nặng tính BMI, đo chức năng hô hấp. Bệnh nhân sẽ được lấy máu ngay khi khám tại Khoa Khám Bệnh và vào Trung tâm Hô Hấp bệnh viện Bạch Mai.

Phân tích thống kê: Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.3. Đạo đức nghiên cứu: Đề tài đã được thông qua Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội theo quyết định số CKII34/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm nhóm nghiên cứu

Bảng 1: Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Thông số	Đợt cấp (n=137)	Giai đoạn ổn định (n=81)	p
Tuổi	69.5 ±9.2	71.3 ±8.5	p>0.05
Giới	131/6	76/5	p>0.05
Tiền sử hút thuốc	92/45 (67.2%,32.8%)	54/27 (66.7%,33.3%)	p>0.05
Số bao thuốc/1 năm	26.9 ±13.5	24.9 ±13.1	p>0.05
BMI (kg/m ²)	19.6±2.94	20.9±3.19	p<0.01
Bạch cầu (G/L)	10.41±3.47	7.92±2.11	p<0.001
Bạch cầu trung tính %	73.2±12.8	63.4±9.8	p<0.001
CysC (mg/L)	1.27±0.37	1.01±0.18	p<0.01
hsCRP (mg/dL)	3.95±5.9	0.34±0.32	p<0.01
PCT (ng/mL)	1.43±4.04	0.15±0.78	p<0.001
Ure (mmol/L)	6.26±3.0	5.65±1.57	p>0.05
Creatinine (μmol/L)	69.6±19.3	88.3±15.3	p<0.01
FEV1%	63.6±18.8	81±19.7	p<0.01
FVC%	40.1±17.7	48.4±18.7	p<0.01
FEV1/FEV%	46.9±9.8	47.9±9.6	p>0.05

Nhận xét: không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm về độ tuổi, giới nhóm, số bao thuốc sử dụng trong 1 năm.v.v..Tỷ lệ béo phì trong nhóm nghiên cứu thấp. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm COPD đợt cấp và giai đoạn ổn định ở các chỉ số viêm như: hsCRP, PCT, số lượng bạch cầu, % bạch cầu trung tính và chỉ số đo chức năng hô hấp FEV1% và FVC% với p<0.01 và p<0.001. Nồng độ trung bình CysC huyết tương COPD giai đoạn cấp cao hơn nhóm giai đoạn ổn định có ý nghĩa thống kê với p<0.01.

2. Nồng độ Cys C huyết tương.

Bảng 2: Nồng độ CysC HT với phân loại BMI và tiền sử hút thuốc lá

Chỉ số	BMI (n=218) (kg/m ²)		p	Tiền sử hút thuốc (n=218)		
	<23	≥23		Có	Không	p>0.05
CysC HT cao	128 (66.7%)	14 (53.8%)	p>0.05	95 (65.1%)	47 (65.3%)	p>0.05
CysC HT thấp	64 (33.3%)	12 (46.2%)		51 (34.9%)	25 (34.7%)	
Tổng	192 (100%)	26 (100%)		146 (100%)	72 (100%)	

Nhận xét: Tỷ lệ nồng độ Cys C HT cao trong nhóm BMI <23 kg/m² và ≥23 kg/m² và nhóm hút thuốc và không hút thuốc không có sự khác biệt với p>0.05.

Bảng 3: Nồng độ Cys C HT trong nhóm ABCD của COPD đợt cấp và giai đoạn ổn định

Nồng độ	Nhóm COPD	Ổn định	Cấp	P
CysC HT	Nhóm A	0.90±0.08	0.90±0.16	p>0.05
	Nhóm B	1.06±0.20	1.22±0.33	p<0.05
	Nhóm C	0.9±0.14	1.20±0.36	p<0.05
	Nhóm D	0.97±0.12	1.32±0.38	p<0.01

Nhận xét: Nồng độ CysC HT nhóm B, C, D ở BN COPD đợt cấp cao hơn nhóm B, C, D giai đoạn ổn định có ý nghĩa thống kê với p<0.05 và p<0.01.

Bảng 4: Nồng độ Cys C HT theo nhóm GOLD của đợt cấp và giai đoạn ổn định.

Nồng độ	Nhóm COPD	Ổn định	Cấp	P
CysC HT	GOLD2	1.04±0.20	1.21±0.44	p>0.05
	GOLD3	0.96±0.13	1.35±0.41	p<0.001
	GOLD4	1.07±0.19	1.35±0.34	p<0.01

Nhận xét: Nồng độ CysC HT nhóm GOLD 3, 4 nhóm COPD đợt cấp cao hơn giai đoạn ổn định có ý nghĩa thống kê p<0.001 và p<0.01. Không tiến hành phân tích mức độ tác nhân GOLD 1 vì cỡ mẫu 2 nhóm quá nhỏ.

3. Mối liên quan giữa nồng độ Cys C HT với các yếu tố khác.

Bảng 5: Liên quan nồng độ Cys C HT và một số yếu tố lâm sàng và cận lâm sàng.

Thông số	COPD giai đoạn ổn định		COPD giai đoạn cấp	
	r	p	r	p
BMI	-0.029	p>0.05	0.032	p>0.05
Số bao thuốc lá	0.047	p>0.05	0.113	p>0.05
FEV1%	-0.117	p>0.05	-0.379	p<0.01
FVC%	-0.100	p>0.05	-0.314	p<0.05
FEV1/FVC%	-0.084	p>0.05	-0.362	p<0.01
Số lượng bạch cầu	0.061	p>0.05	0.034	p>0.05
% bạch cầu trung tính	0.035	p>0.05	0.061	p>0.05
hsCRP	0.147	p>0.05	0.398	p<0.001
PCT	0.249	p<0.05	0.426	p<0.001
Ure	0.245	p<0.05	0.29	p<0.01
Creatinine	0.089	p>0.05	0.191	p<0.05

Nhận xét: Trong nhóm COPD đợt cấp, nồng độ Cys C HT có mối tương quan thuận giữa với nồng độ hsCRP, PCT HT với p<0.001. Trong nhóm COPD giai đoạn ổn định, nồng độ CysC HT có mối tương quan thuận với nồng độ PCT HT (p<0.05).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu tiến hành trên 218 bệnh nhân trong đó có 137 bệnh nhân COPD đợt cấp và nhóm chứng 81 bệnh nhân giai đoạn ổn định. Kết quả bảng 1: Độ tuổi và giới và chỉ số BMI 2 nhóm COPD tương đồng p>0.05. Đợt

cấp tình trạng viêm gây giải phóng nhiều chất trung gian làm tăng tiết dịch viêm, hậu quả là làm tắc nghẽn đường thở. Kết quả nghiên cứu chúng tôi cho thấy hsCRP, PCT, bạch cầu tăng, chỉ số đo chức năng hô hấp giảm ở COPD đợt cấp, kết quả này phù hợp với nghiên cứu tác giả Lê Quang Đợi và cs⁶.

Sự mất cân bằng giữa hệ enzyme protease và antiprotease là một trong những cơ chế bệnh sinh quan trọng của COPD. Dưới những tác động yếu tố nguy cơ, hệ protease sẽ bị kích thích và hoạt hóa làm cho quá trình tổng hợp và bài tiết của hệ protease sẽ tăng quá mức và hệ anti-protease sẽ bị ức chế và ngừng hoạt động. Hậu quả là quá trình tổng hợp anti-protease sẽ bị giảm. Sự mất cân bằng của hai hệ này sẽ dẫn đến phá vỡ cấu trúc protein ở phổi, do đó làm tăng tiến triển của bệnh COPD. Cathepsin thuộc nhóm cysteine protease, cathepsin B, H, L, và S có liên quan đến bệnh sinh của COPD. CysC là một chất ức chế cysteine protease có tác dụng ức chế hiệu quả nhất đối với cathepsin và do đó hạn chế quá trình phá hủy mô phổi. Nghiên cứu của chúng tôi đã chứng minh nồng độ CysC ở bệnh nhân COPD đợt cấp cao hơn nhóm COPD giai đoạn ổn định, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0.01$. Các nghiên cứu trước đây chỉ ra rằng nồng độ CysC HT nhóm COPD cao hơn nhóm chứng khỏe mạnh như nghiên cứu Nakajima (2016)⁷. Nghiên cứu của Yonghong Zhang (2014) CysC ở nhóm COPD đợt cấp ($1,09 \pm 0,22$ mg/L) và COPD giai đoạn ổn định ($1,03 \pm 0,21$ mg/L) cao hơn đáng kể so với nhóm chứng khỏe mạnh ($0,84 \pm 0,18$ mg / L) ($p < 0,05$), tuy nhiên, mức độ không có sự khác biệt đáng kể giữa 2 nhóm COPD đợt cấp và nhóm ổn định⁷.

Khảo sát nồng độ CysC HT ở các nhóm đợt cấp ABCD thì nhận thấy nồng độ CysC

HT ở nhóm B, C, D của COPD đợt cấp cao hơn COPD giai đoạn ổn định với $p < 0.05$ (nhóm B, C) và $p < 0.01$ (nhóm D) (bảng 3) và đồng thời ghi nhận thấy mức độ tắc nghẽn nặng và rất nặng ở nhóm COPD đợt cấp có nồng độ CysC HT cao hơn nhóm COPD giai đoạn ổn định với $p < 0.01$ (bảng 4). Trong đợt cấp nhẹ, tắc nghẽn luồng khí không thay đổi hoặc chỉ tăng nhẹ. Các đợt cấp nặng có liên quan đến sự trao đổi khí ở phổi kém đi do sự giảm thông khí và tưới máu và sau đó là tình trạng mệt mỏi cơ hô hấp. Mối quan hệ thông khí-tưới máu ngày càng xấu đi do viêm đường thở, phù nề, tăng tiết niêm mạc và co thắt phế quản. Những chất này làm giảm thông khí và gây co mạch do thiếu oxy của các tiểu động mạch phổi, do đó làm giảm tưới máu. Thiếu máu có thể phá hủy tế bào viêm và giải phóng lượng lớn CysC HT do đó dẫn đến tăng nồng độ CysC HT của bệnh nhân COPD. Nghiên cứu của Hu cho thấy nồng độ CysC HT tăng cao là một yếu tố nguy cơ quan trọng và phụ thuộc vào gia tăng tỷ lệ tử vong trong đợt cấp COPD, nồng độ CysC HT ≥ 1.59 mg/L có liên quan đến tỷ lệ tử vong và nhập viện cao hơn ý nghĩa thống kê (RR=5.49, CI 3.24-9.32, $p < 0.001$)⁸. Một phân tích tổng hợp của Chai và CS (2020) ở 15 nghiên cứu đã chứng minh nồng độ CysC HT ở nhóm bệnh nhân COPD đợt cấp và giai đoạn ổn định cao hơn đáng kể so nhóm chứng (OR = 0,99, 95% CI = 0,62–1,37, $p < 0,001$) và (OR = 1,59, 95% CI = 1,05 –2,13, $P < 0,001$), và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm COPD cấp và ổn định (OR = 0,35, 95% CI = 0,10–0,59, $p = 0,005$)³.

Kết quả bảng 5 cho thấy nhóm COPD đợt cấp, nồng độ CysC HT có mối tương quan thuận với yếu tố viêm hsCRP và PCT và tương quan nghịch với thông số chức năng

hô hấp (FEV1%, FVC%, FEV1/FVC%). Nhóm COPD ổn định, nồng độ CysC HT có tương quan thuận với PCT tuy nhiên tương quan mức độ thấp. Tác giả Yonghong Zhang đã nhận thấy mối tương quan nghịch FEV1% với $r = -0.461$ $p < 0.001$, FEV1% FVC (%) ($r = -0,390$, $p < 0,001$). Tác giả Ming Zhang (2016) nghiên cứu trên nhóm bệnh COPD đợt cấp đã kết luận CysC HT là một chất phản ứng giai đoạn cấp tính dương tính ở bệnh nhân COPD và có thể chỉ ra tình trạng viêm toàn thân trong quá trình tiến triển của COPD và tương quan nghịch với FEV1% và FEV1 / FVC% ở bệnh nhân COPD đang điều trị⁹.

Từ các kết quả nghiên cứu có thể cho thấy nồng độ CysC HT có thể được coi là một dấu hiệu tiềm năng để theo dõi COPD.

Phân tích mối tương quan của BMI và tiền sử sử dụng thuốc lá thì cho kết quả không phải là những yếu tố ảnh hưởng đáng kể đến nồng độ CysC HT.

V. KẾT LUẬN

1) Nồng độ CysC HT tăng ở cả bệnh nhân COPD đợt cấp và COPD ổn định.

2) Nồng độ CysC HT tăng có liên quan đến tình trạng viêm và mức độ nặng của tắc nghẽn luồng khí ở BN COPD đợt cấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **MacNee W.** ABC of chronic obstructive pulmonary disease: Pathology, pathogenesis, and pathophysiology. *BMJ*. 2006;332(7551):1202.
2. **GOLD REPORT 2021 v1.0 11Nov20_WMV** - Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease - GOLD. Accessed September 5, 2022. https://goldcopd.org/gold-reports/gold-report-2021-v1-0-11nov20_wmv/
3. **Limin Chai, Wei Feng.** The association between cystatin C and COPD: a meta-analysis and systematic review - PubMed. Published June 2020. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32586317/>
4. **Telo DS, Kuluöztürk M, Deveci F, Kırkı G, Öner Ö, Kaman D.** Serum Cystatin C Levels in COPD: Potential Diagnostic Value and Relation between Respiratory Functions. *J Med Biochem*. 2018;37(4):434. doi:10.1515/jomb-2017-0064
5. **A S, S S.** Optimizing antibiotic selection in treating COPD exacerbations. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 2008;3(1). doi:10.2147/copd.s1089
6. **Nguyễn Quang Đợi.** Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng và một số yếu tố nguy cơ tác động mạch phổi cấp ở bệnh nhân đợt cấp COPD. Published online October 2019.
7. **Akahiro Nakajima.** Plasma Cathepsin S and Cathepsin S/Cystatin C Ratios Are Potential Biomarkers for COPD. Published November 2016. Accessed August 27, 2022. <https://www.hindawi.com/journals/dm/2016/4093870/>
8. **Hu G, Wu Y, Zhou Y, Yu Y, Liang W, Ran P.** Cystatin C as a Predictor of In-Hospital Mortality After Exacerbation of COPD. *Respir Care*. 2016;61(7):950-957. doi:10.4187/respcare.04034
9. **Ming Zhang, Yali Li.** Serum Cystatin C as an Inflammatory Marker in Exacerbated and Convalescent COPD Patients - PubMed. Published April 2016. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26613760/>

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ CỦA THANG ĐIỂM ALBI, PALBI TRONG TIÊN LƯỢNG XUẤT HUYẾT TIÊU HÓA CẤP DO VỠ GIÃN TĨNH MẠCH THỰC QUẢN Ở BỆNH NHÂN XƠ GAN

Nguyễn Văn Chung¹, Đào Đức Tiến², Dương Quang Huy¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định giá trị của thang điểm ALBI (Albumin-Bilirubin) và PALBI (Tiểu cầu-Albumin-Bilirubin) trong tiên lượng tái chảy máu sớm và tử vong nội viện của xuất huyết tiêu hóa (XHTH) do vỡ giãn tĩnh mạch thực quản (TMTQ) ở bệnh nhân xơ gan. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 222 bệnh nhân xơ gan có biến chứng XHTH cấp do vỡ giãn TMTQ. Tính điểm ALBI, PALBI và đối chiếu với tỷ lệ tái chảy máu sớm và tử vong tại bệnh viện. **Kết quả:** Thang điểm ALBI, PALBI đều có giá trị tốt trong tiên lượng tử vong nội viện với AUROC lần lượt là 0,81 (95%CI: 0,68 - 0,93; p <0,001) và 0,80 (95%CI: 0,69-0,91; p < 0,001). Với tiên lượng tái chảy máu sớm cả 2 thang điểm chỉ có giá trị mức khá với AUROC của ALBI là 0,74 (95%CI: 0,63 - 0,85; p <0,001) và PALBI là 0,70 (95%CI: 0,59 - 0,81; p=0,004). **Kết luận:** ALBI và PALBI là thang điểm có giá trị trong tiên lượng nguy cơ tái chảy máu sớm và tử vong tại bệnh viện ở bệnh nhân xơ gan có biến chứng XHTH cấp do vỡ giãn TMTQ.

Từ khóa: Thang điểm ALBI, PALBI; XHTH do vỡ giãn TMTQ; xơ gan.

¹Học viện Quân y,

²Bệnh viện Quân y 175

Chịu trách nhiệm chính: Dương Quang Huy

Email: huyduonghvqy@gmail.com

Ngày nhận bài: 18.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

SUMMARY

THE VALUE OF ALBI, PALBI SCORE FOR PROGNOSIS OF ACUTE VARICEAL BLEEDING IN PATIENTS WITH CIRRHOSIS

Objective: To determine the value of Albumin-Bilirubin (ALBI), Platelet-Albumin-Bilirubin (PALBI) score in predicting early rebleeding and in-hospital mortality in cirrhotic patients with acute variceal bleeding (AVB).

Subject and method: cross-sectional descriptive study carried out on 222 cirrhotic patients with AVB. To compare ALBI, PALBI score with the rate of early rebleeding and in-hospital mortality.

Results: ALBI and PALBI score had a good prognostic power in in-hospital mortality (AUROC 0.81, 95%CI: 0.68-0.93, p <0.001 and AUROC 0.80, 95%CI: 0.69-0.91, p < 0,001, respectively). On predicting value in re-bleeding, both of ALBI and PALBI had an acceptable prognostic power in in-hospital mortality (AUROC 0.74; 95%CI: 0.63-0.85; p <0.001 and AUROC 0.70, 95%CI: 0.59-0.81; p=0.004).

Conclusion: ALBI score and PALBI score have a significant performance in the prognosis of early rebleeding and in-hospital mortality in cirrhotic patients with AVB.

Keywords: ALBI score, PALBI score, acute variceal bleeding, cirrhosis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xuất huyết tiêu hóa (XHTH) do vỡ giãn tĩnh mạch thực quản (TMTQ) trong hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa (ALTMC)

là một trong những biến chứng nặng ở bệnh nhân xơ gan, mặc dù đã có nhiều tiến bộ trong chẩn đoán và điều trị nhưng tỷ lệ tử vong vẫn cao chủ yếu là do thất bại trong việc kiểm soát chảy máu trong những ngày đầu. Tiên lượng XHTH do vỡ giãn TMTQ thường khó không những do mức độ chảy máu mà còn phụ thuộc vào mức độ nặng của bệnh nền xơ gan. Một số yếu tố đã được nghiên cứu để tiên lượng như điểm Child-Pugh, mô hình bệnh gan giai đoạn cuối (MELD), AIMS65,..., tuy nhiên giá trị của những thang điểm này chưa cao với AUROC trong tiên lượng nguy cơ tái chảy máu < 0,7 và tiên lượng tử vong trong vòng 6 tuần đầu đạt cao nhất chỉ 0,74 [1].

Điểm ALBI được xây dựng bởi Johnson J. và CS (2015), sau đó Roayaie S. và CS (2015) đề xuất thang điểm PALBI bằng cách thêm chỉ số tiểu cầu như là một chỉ số trong hội chứng tăng ALTMC nhằm mục đích phân tầng tiên lượng cho bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan tốt hơn so với điểm Child-Pugh [6], [7]. Trong những năm gần đây có một vài nghiên cứu áp dụng hai thang điểm này vào tiên lượng bệnh nhân XHTH do vỡ giãn TMTQ bước đầu đạt được một số kết quả đáng ghi nhận [4], [8]. Với ưu điểm sử dụng những chỉ số xét nghiệm thường quy phản ánh chức năng gan và tăng ALTMC nên có tính khách quan và có khả năng ứng dụng rộng rãi. Tuy nhiên ở Việt Nam chưa có nghiên cứu nào về thang điểm này trên đối tượng bệnh nhân XHTH do vỡ giãn TMTQ. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài với mục tiêu: “Đánh giá giá trị của thang điểm ALBI, PALBI trong tiên lượng tái chảy máu sớm và tử vong nội viện của XHTH do vỡ giãn TMTQ ở bệnh nhân xơ gan”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 222 bệnh nhân chẩn đoán XHTH cấp do vỡ giãn TMTQ trên nền xơ gan, điều trị tại khoa Nội Tiêu hóa, khoa Hồi sức nội – Bệnh viện Quân y 103 và Viện điều trị bệnh tiêu hóa – Bệnh viện TƯQĐ 108, thời gian từ 9/2020 đến tháng 5/2022.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân nhập viện với tình trạng nôn ra máu và/hoặc đại tiện phân đen, được nội soi dạ dày – thực quản và chẩn đoán xác định XHTH do vỡ giãn TMTQ. Đồng thời bệnh nhân có hội chứng suy chức năng gan, tăng ALTMC trên lâm sàng và xét nghiệm để khẳng định chẩn đoán xơ gan.

Tiêu chuẩn loại trừ: XHTH do vỡ giãn tĩnh mạch phình vị dạ dày và do căn nguyên khác, bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang. Bệnh nhân chọn vào nghiên cứu được khai thác tiền sử (tiền sử XHTH, bệnh lý gan...); khám lâm sàng đánh giá huyết động (mạch, huyết áp), triệu chứng nôn máu, đại tiện phân đen, dấu hiệu mất máu và chỉ định xét nghiệm cần thiết (tổng phân tích máu, sinh hóa máu, đông máu) để chẩn đoán và điều trị.

Tính điểm ALBI theo công thức:

$$\text{ALBI} = -0,085 \times \text{Albumin (g/L)} + 0,66 \times \log_{10} \text{Bilirubin } (\mu\text{mol/L})$$

Thang điểm được chia thành 3 mức: ALBI-1 ($\leq -2,60$), ALBI-2 ($-2,60$ đến $-1,39$) và ALBI-3 ($> -1,39$) [6].

Tính điểm PALBI theo công thức:

$$\text{PALBI} = 2,02 \times \text{Log}_{10} \text{Bilirubin} - 0,37 \times (\text{Log}_{10} \text{Bilirubin})^2 - 0,04 \times \text{Albumin} - 3,48 \times \text{Log}_{10} \text{Tiểu cầu} + 1,01 \times (\text{Log}_{10} \text{Tiểu cầu})^2$$

Thang điểm được chia thành 3 mức: PALBI-1 ($\leq -2,53$), PALBI-2 ($> -2,53$ và $\leq -2,09$), và PALBI-3 ($> -2,09$) [7].

Nội soi cấp cứu khi tình trạng huyết động cho phép, phân độ giãn TMTQ (độ I, II, III) theo Hội nội soi Nhật Bản (2010). Can thiệp thắt búi giãn bằng vòng cao su cho trường hợp đang chảy máu hoặc đã cầm nhưng độ giãn cao (độ II, III).

Bệnh nhân được điều trị theo phác đồ thống nhất tùy theo tình trạng bệnh. Theo dõi tái chảy máu sớm và tử vong trong thời gian điều trị tại bệnh viện. Tái chảy máu sớm là tình trạng tiếp tục nôn ra máu và/hoặc đại tiện phân đen, ít nhất sau khoảng thời gian 24

giờ trở lên kể từ thời điểm có các dấu hiệu sinh tồn ổn định, được điều trị theo đúng phác đồ và can thiệp cầm máu [1].

Xử lý và phân tích số liệu: bằng phần mềm thống kê y học SPSS 25.0 vẽ biểu đồ trên Excel 2016. Xây dựng đường cong ROC (Receiver Operating Characteristic) và xác định diện tích dưới đường cong (AUC – Area under the curve) để tìm ra điểm cắt hợp lý với độ đặc hiệu và độ nhạy tương ứng (điểm cắt là điểm mà tại đó giá trị J lớn nhất với $J = \text{độ nhạy} + \text{độ đặc hiệu} - 1$). Với điểm cắt tìm được, sử dụng bảng 2x2 để xác định lại độ nhạy (Se), độ đặc hiệu (Sp).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi và diễn biến nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Bảng 3.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi của đối tượng nghiên cứu (n = 222)

Chỉ tiêu		X ± SD hoặc n (%)
Tuổi trung bình		54,7 ± 10,4
Giới	Nam	209 (94,1)
	Nữ	13 (5,9)
Triệu chứng lâm sàng lúc nhập viện	Nôn ra máu	48 (21,6)
	Đại tiện phân đen	54 (24,3)
	Nôn máu và đại tiện phân đen	120 (54,1)
Tiền sử xơ gan		201 (90,5)
Tiền sử XHTH do vỡ giãn TMTQ		143 (64,4)
Phân độ giãn TMTQ	Độ I	6 (2,7)
	Độ II	37 (16,7)
	Độ III	179 (80,6)
Tình trạng búi giãn đang chảy máu		28 (12,6)

Tuổi trung bình trong nghiên cứu là 54,7 ± 10,4 với nam giới chiếm đa số (94,1%). 90,5% bệnh nhân có tiền sử xơ gan và 64,4% đã từng XHTH do vỡ giãn TMTQ. Triệu chứng nhập viện hay gặp là nôn ra máu và đại tiện phân đen (54,1%).

Kết quả nội soi dạ dày – thực quản: TMTQ giãn độ III gặp ở 80,6% bệnh nhân, với 12,6% phát hiện thấy tình trạng đang chảy máu từ búi giãn TMTQ.

Bảng 3.2. Đặc điểm tái chảy máu sớm và tử vong (n = 222)

Tiêu chí	Số lượng (n)	Tỷ lệ %
Tái chảy máu sớm	20	9,0
Tử vong nội viện	15	6,8

9,0% bệnh nhân tái chảy máu sớm và 6,8% trường hợp tử vong tại bệnh viện.

3.2. Giá trị thang điểm ALBI, PALBI trong tiên lượng XHTH do vỡ giãn TMTQ

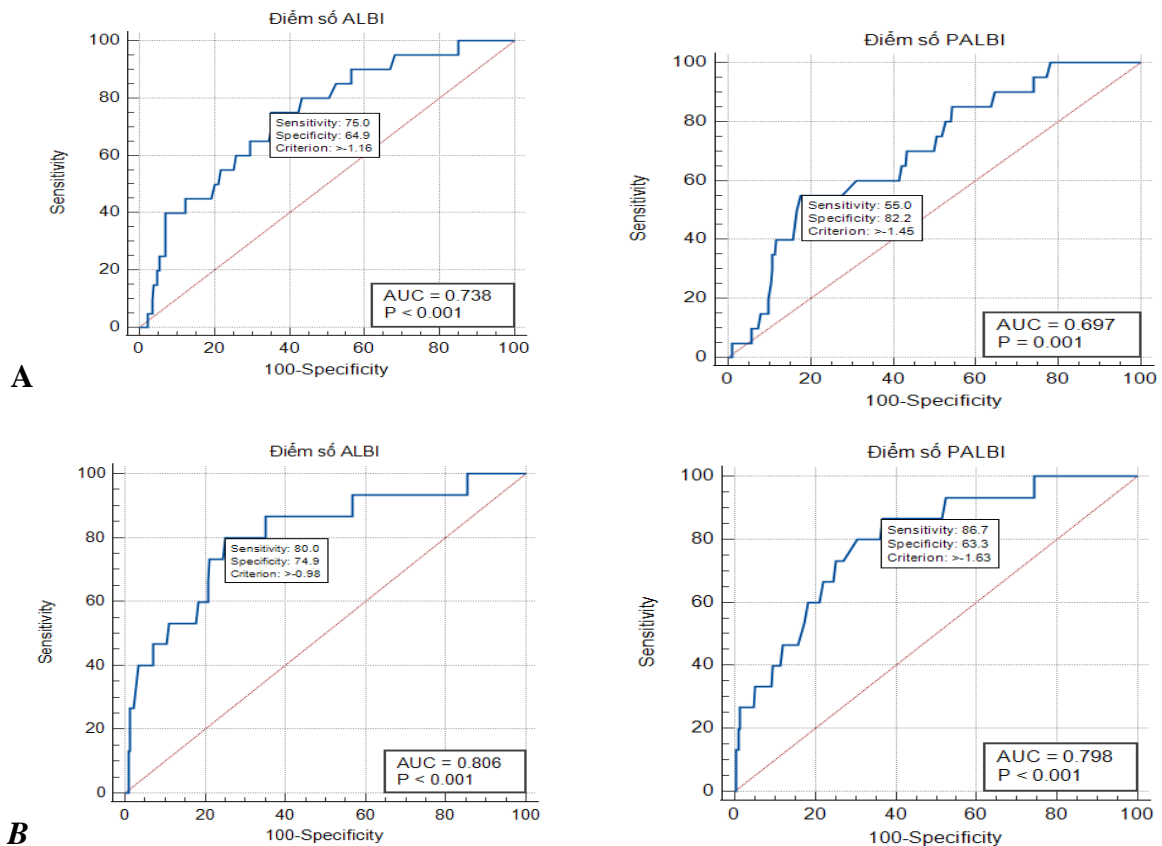
Bảng 3.3. Mối liên quan của điểm ALBI, PALBI với tái chảy máu sớm, tử vong

Thang điểm		Tái chảy máu sớm			Tử vong nội viện		
		Có (n, %)	Không (n, %)	P	Có (n, %)	Không (n, %)	P
ALBI	ALBI-1 (n = 2)	0 (0,0)	2 (100)	<0,05	0 (0,0)	2 (100)	<0,05
	ALBI-2 (n = 92)	3 (3,3)	89 (96,7)		2 (2,2)	90 (97,8)	
	ALBI-3 (n = 128)	17 (13,3)	111 (86,7)		13 (10,2)	115 (89,8)	
	Trung bình	-0,77 ± 0,59	-1,31 ± 0,62	<0,05	-0,54 ± 0,69	-1,31 ± 0,60	<0,05
PALBI	PALBI-1 (n = 8)	0 (0,0)	8 (100,0)	<0,05	0 (0,0)	8 (100)	<0,05
	PALBI-2 (n = 45)	1 (2,2)	44 (97,8)		0 (0,0)	45 (100)	
	PALBI-3 (n = 169)	19 (11,2)	151 (88,8)		15 (8,9)	154 (91,1)	
	Trung bình	-1,53 ± 0,33	-1,80 ± 0,42	<0,05	-1,35 ± 0,36	-1,81 ± 0,41	<0,05

Ở thang điểm ALBI, tỷ lệ tái chảy máu sớm và tử vong nội viện tập trung vào nhóm ALBI-3 (lần lượt là 13,3% và 10,2%), cao hơn so với nhóm ALBI-2 và ALBI-1 (p < 0,05). Đối với thang điểm PALBI, tỷ lệ tái chảy máu sớm và tử vong nội viện chủ yếu ở nhóm PALBI-3 (lần lượt 11,2% và 8,9%), cao hơn so với nhóm PALBI-2 và PALBI-1 (p < 0,05).

Bảng 3.4. Giá trị điểm ALBI, PALBI trong tiên lượng tái chảy máu sớm và tử vong

Tiêu chí	Thang điểm	Điểm cắt	AUROC (95%CI)	Se (%)	Sp (%)	P
Tái chảy máu sớm	ALBI	- 1,16	0,74 (0,63 - 0,85)	75,0	65,0	< 0,001
	PALBI	- 1,45	0,70 (0,59 - 0,81)	55,0	82,2	0,004
Tử vong nội viện	ALBI	- 0,97	0,81 (0,68 - 0,93)	80,0	75,0	< 0,001
	PALBI	- 1,63	0,80 (0,69 - 0,91)	86,7	63,3	< 0,001



Hình 3.1. Diện tích dưới đường cong của ALBI, PALBI dự đoán tái chảy máu sớm (A) và tử vong nội viện (B)

Đối với tái chảy máu sớm: điểm ALBI có giá trị tiên lượng khá với AUROC 0,74; 95%CI: 0,63 – 0,85; $p < 0,001$, tại điểm cắt - 1,16 có độ nhạy 75,0% và độ đặc hiệu 65,0%. Điểm PALBI cũng cho kết quả tiên lượng khá với AUROC 0,7; 95%CI: 0,59 - 0,81; $p = 0,004$, tại điểm cắt - 1,45 có độ nhạy 55,0% và độ đặc hiệu 82,2%.

Đối với tử vong nội viện: điểm ALBI có giá trị tiên lượng tốt với AUROC 0,81; 95%CI: 0,68 – 0,93; $p < 0,001$ tại điểm cắt - 0,97 có độ nhạy 80% và độ đặc hiệu 75%. Điểm PALBI cũng cho giá trị tiên lượng tốt với AUROC 0,8; 95%CI: 0,69 - 0,91; $p < 0,001$, tại điểm cắt - 1,63 có độ nhạy 86,7% và độ đặc hiệu 63,3%.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi và diễn biến của bệnh nhân nghiên cứu

4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng, nội soi

222 bệnh nhân nghiên cứu có tuổi trung bình $54,7 \pm 10,4$; nam chiếm 94,1%; 90,5% có tiền sử xơ gan và 143 bệnh nhân (64,4%) đã từng XHTH do vỡ giãn TMTQ. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với kết quả của nhiều nghiên cứu cho thấy bệnh xơ gan thường gặp ở lứa tuổi trung niên, nam mắc bệnh nhiều hơn nữ và thường phải nhập viện nhiều lần do biến chứng, đặc biệt là biến chứng XHTH [1], [3].

Triệu chứng nhập viện hay gặp là nôn máu và đại tiện phân đen (54,1%), có 48

bệnh nhân chỉ nôn máu (21,6%) và 54 bệnh nhân chỉ đại tiện phân đen (24,3%). Nghiên cứu của Elsafty R.E. và CS (2021) cũng ghi nhận bệnh nhân XHTH do vỡ giãn TMTQ thường nhập viện với đồng thời 2 triệu chứng nôn máu và đại tiện phân đen (64%), trong khi chỉ 21% nôn máu và 15% đại tiện phân đen đơn thuần [3].

Thực hiện nội soi dạ dày - thực quản chúng tôi gặp 80,6% giãn TMTQ độ III, trong khi chỉ 2,7% bệnh nhân giãn độ I. Đồng thời chúng tôi phát hiện 12,6% bệnh nhân máu đang chảy từ búi giãn cần can thiệp cấp cứu ngay để cầm máu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với công bố của Elsafty R.E. và CS (2021) trên 250 bệnh nhân XHTH do vỡ giãn TMTQ nội soi cũng có 4% TMTQ giãn độ I và 17% cần can thiệp thắt cấp cứu búi giãn đang chảy máu [3].

4.1.2. Tỷ lệ tái chảy máu sớm và tử vong nội viện

Theo dõi diễn biến lâm sàng trong thời gian bệnh nhân nằm viện điều trị phác đồ thống nhất theo khuyến cáo của các Hiệp hội chuyên ngành chúng tôi ghi nhận 9,0% bệnh nhân tái chảy máu sớm và 6,8% trường hợp tử vong nội viện. Nghiên cứu của Aluizio C.L và CS (2021) trên 222 bệnh nhân XHTH do vỡ TMTQ cho thấy tỷ lệ tái chảy máu sớm trong vòng 5 ngày đầu nhập viện là 4,5%, tỷ lệ tử vong 5,0% [1]. Nghiên cứu trên 631 bệnh nhân của Zou D. và CS (2016) cũng ghi nhận tỷ lệ tử vong nội viện trong 5 ngày đầu là 4,4% [8]. Như vậy, XHTH do vỡ giãn TMTQ là một biến chứng nặng với tỷ lệ tử vong nội viện còn cao, đòi hỏi phải tiên lượng sớm để có biện pháp điều trị tích cực.

4.2. Giá trị ALBI, PALBI trong tiên lượng XHTH do vỡ giãn TMTQ

Với việc sử dụng các xét nghiệm thường quy và bỏ qua một số yếu tố chủ quan, thang điểm ALBI, PALBI đã được ứng dụng trong tiên lượng nhiều bệnh lý trong đó có bệnh nhân XHTH do vỡ giãn TMTQ và bước đầu cho kết quả khả quan.

4.2.1. Giá trị ALBI, PALBI trong tiên lượng tái chảy máu sớm

Chúng tôi ghi nhận có mối tương quan giữa điểm số cũng như phân nhóm ALBI, PALBI với biến cố tái chảy máu sớm (bảng 3.3): tỷ lệ tái chảy máu sớm ở nhóm ALBI-3 là 13,3% cao hơn so với nhóm ALBI-2 và ALBI-1, tương tự đối với PALBI tỷ lệ tái chảy máu sớm ở nhóm PALBI-3 là 11,2% cao hơn so với nhóm PALBI-2 và PALBI-1, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), đồng thời chúng tôi không ghi nhận trường hợp tái chảy máu sớm nào có mức ALBI-1 và PALBI-1.

Phân tích đường cong ROC, chúng tôi thấy AUROC của ALBI là 0,74 (95%CI: 0,63–0,85; $p < 0,001$), tại điểm cắt -1,16 có độ nhạy 75,0% và độ đặc hiệu 65,0%; của PALBI là 0,70 (95%CI: 0,59 - 0,81; $p = 0,004$), tại điểm cắt -1,45 có độ nhạy 55,0% và độ đặc hiệu 82,2% (bảng 3.4). Nghiên cứu của Elshaarawy O. và CS (2020) đánh giá giá trị một số thang điểm tiên lượng XHTH do vỡ TMTQ (cỡ mẫu 1517 bệnh nhân), trong đó có ALBI, PALBI cũng cho thấy AUROC dự đoán tái chảy máu sớm (trong vòng 1 tuần) của điểm ALBI, PALBI lần lượt là 0,766; 0,794 ($p < 0,05$) [4]. Trong khi nghiên cứu Faisal M.S. và CS (2020) trên 170 bệnh nhân thì giá trị của điểm PALBI dự đoán tái

chảy máu chỉ đạt mức trung bình (AUROC 0,601, 95%CI: 0,502 - 0,699) [5]. Sự khác biệt trong các kết quả nghiên cứu có thể do cỡ mẫu, thời gian đánh giá tái chảy máu cũng như đặc điểm bệnh nhân nghiên cứu.

4.2.2. Giá trị ALBI, PALBI trong tiên lượng tử vong nội viện

Tương tự như biến cố tái chảy máu sớm, nghiên cứu ghi nhận mối liên quan giữa điểm số cũng như phân nhóm ALBI, PALBI với biến cố tử vong nội viện. Cụ thể, theo kết quả ở bảng 3.3 tỷ lệ tử vong ở nhóm ALBI-3 là 10,4% cao hơn so với nhóm ALBI-2 và ALBI-1. Đối với thang điểm PALBI, chúng tôi chỉ ghi nhận trường hợp tử vong xảy ra ở nhóm PALBI-3 (chiếm 8,9%), không có trường hợp tử vong ở nhóm PALBI-1 và PALBI-2. Đồng thời điểm ALBI, điểm PALBI trung bình của nhóm có biến cố tử vong cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không có biến cố này với $p < 0,05$. Kết quả nghiên cứu tương đương với báo cáo của Chen X. và CS (2021) với điểm PALBI trung bình ở nhóm tử vong là $-1,47 \pm 0,35$, cao hơn so với nhóm không tử vong là $-1,94 \pm 0,36$ ($p < 0,001$) và tỷ lệ tử vong 15,4% ở nhóm PALBI-3 so với chỉ 1,7% ở nhóm PALBI-2 và 0% ở nhóm PALBI-1 [2].

Phân tích đường cong ROC, chúng tôi thu được AUROC của ALBI là 0,81 (95%CI: 0,68 - 0,93; $p < 0,001$), tại điểm cắt - 0,97 có độ nhạy 80% và độ đặc hiệu 75,0%; AUROC của PALBI là 0,8 (95%CI: 0,69 - 0,91; $p < 0,001$), tại điểm cắt - 1,63 có độ nhạy 86,7% và độ đặc hiệu 63,3%. Nghiên cứu của Zou D. và CS (2016) cũng cho thấy AUROC của ALBI trong dự báo tử vong ở 631 bệnh nhân XHTH do vỡ giãn TMTQ là 0,808 (95%CI:

0,0775 - 0,838, $p < 0,001$), giá trị điểm cắt tối ưu là -1,5273 với độ nhạy 92,86%, độ đặc hiệu 64,01% [8]. Đối với PALBI, nghiên cứu của Chen X. và CS (2021) trên 221 bệnh nhân nhận thấy điểm PALBI cũng có giá trị tốt trong tiên lượng nguy cơ tử vong 30 ngày đầu với AUROC là 0,827 (gần tương đương với kết quả nghiên cứu của chúng tôi) [2]. Như vậy, thang điểm ALBI và PALBI có giá trị tốt trong tiên lượng tử vong nội viện ở bệnh nhân xơ gan có biến chứng XHTH trên cấp tính do vỡ giãn TMTQ.

V. KẾT LUẬN

Đánh giá giá trị thang điểm ALBI, PALBI trong tiên lượng tái chảy máu sớm và tử vong nội viện ở 222 bệnh nhân xơ gan có XHTH do vỡ giãn TMTQ, chúng tôi nhận thấy: Thang điểm ALBI, PALBI đều có giá trị tốt trong tiên lượng tử vong nội viện với AUROC lần lượt là 0,81 (95%CI: 0,68 - 0,93; $p < 0,001$) và 0,80 (95%CI: 0,69-0,91; $p < 0,001$). Với tiên lượng tái chảy máu sớm cả 2 thang điểm chỉ có giá trị mức khá với AUROC của ALBI là 0,74 (95%CI: 0,63 - 0,85; $p < 0,001$) và PALBI là 0,70 (95%CI: 0,59 - 0,81; $p = 0,004$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Aluizio C.L., Montes C.G., Reis G.F.S.R. et al. (2021). Risk stratification in acute variceal bleeding: Far from an ideal score. Clinics, 76, e2921.
2. Chen X., Jiang M. (2021). Value of platelet-albumin-bilirubin score in predicting the short-term prognosis of patients with liver cirrhosis and acute upper gastrointestinal bleeding. J Clin Hepatol, 37(7): 1578-1581.
3. Elsafty R.E., Elsayy A.A., Selim A.F. et al.

- (2021). Performance of albumin-bilirubin score in prediction of hepatic encephalopathy in cirrhotic patients with acute variceal bleeding. *Egypt Liver J*, 11(1): 1–7.
4. **Elshaarawy O., Allam N., Abdelsameea E. et al. (2020).** Platelet-albumin-bilirubin score - a predictor of outcome of acute variceal bleeding in patients with cirrhosis. *World J Hepatol*, 12(3): 99–107.
5. **Faisal M.S., Singh T., Amin H. et al. (2020).** Role of platelet-albumin-bilirubin score in predicting re-bleeding after band ligation for acute variceal hemorrhage. *World J Hepatol*, 12(10): 880.
6. **Johnson P.J., Berhane S., Kagebayashi C. et al. (2015).** Assessment of Liver Function in Patients With Hepatocellular Carcinoma: A New Evidence-Based Approach—The ALBI Grade. *J Clin Oncol*, 33(6): 550.
7. **Roayaie S., Jibara G., Berhane S. et al. (2015).** PALBI-An Objective Score Based on Platelets, Albumin Bilirubin Stratifies HCC Patients Undergoing Resection & Ablation Better than Child’s. *Hepatology*, 624A–690A.
8. **Zou D., Qi X., Zhu C. et al. (2016).** Albumin-bilirubin score for predicting the in-hospital mortality of acute upper gastrointestinal bleeding in liver cirrhosis: A retrospective study. *Turk J Gastroenterol*, 27(2): 180–186.

KHẢO SÁT NỒNG ĐỘ ETHANOL TRÊN NHÓM NGƯỜI KHÔNG SỬ DỤNG RƯỢU BIA

**Đỗ Thị Mai Dung(*), Đặng Thị Hòa(*), Phạm Thảo Diệp(*),
Nguyễn Mai Phương(*), Phạm Phương Anh (*)**

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát nồng độ ethanol trong mẫu máu người không sử dụng rượu, bia và khuyến cáo khoảng tham chiếu sinh học nồng độ ethanol.

Đối tượng và phương pháp : 1237 người tham gia hiến máu tại trung tâm truyền máu bệnh viện Việt Đức. Nồng độ ethanol trong huyết tương được định lượng theo phương pháp động học enzym trên hệ thống máy Beckman Coulter,

hóa chất Biosystem. Đây là nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Kết quả: Có 1237 mẫu máu từ người hiến máu tại trung tâm truyền máu bệnh viện Việt Đức. Kết quả nồng độ ethanol có phân bố chuẩn. Mức nồng độ ethanol < 1,760 mmol/l là 33,6%, mức nồng độ 1,76-3 mmol/l 54,4%, mức nồng độ >3 là 12%. Nồng độ ethanol có giá trị thấp nhất là 0,293 mmol/l, cao nhất là 3,990 mmol/l, giá trị trung bình từ 2,124±0,712; ở nam là 2,266 ± 0,709, nữ là 1,971 ± 0,684, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Không có mối tương quan giữa nồng độ ethanol với các nhóm tuổi. Khoảng tham chiếu khuyến cáo là <4,000 mmol/l.

Kết luận: nồng độ ethanol của nhóm không sử dụng rượu bia có giá trị thấp nhất là 0,293

(*): *Khoa Sinh hóa-Bệnh viện Việt Đức*

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Thị Mai Dung

Email: domaidung70@yahoo.com

Ngày nhận bài: 19.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

mmol/l, cao nhất là 3,990 mmol/l. Không có mối tương quan giữa nồng độ ethanol với các nhóm tuổi. Khoảng tham chiếu khuyến cáo là <4,000 mmol/l.

Từ khóa: Ethanol, Ethanol nội sinh, không sử dụng rượu bia.

SUMMARY

EVALUATION OF ETHANOL CONCENTRATION ON NON-ALCOHOLIC DRINKERS

Objective: The aim of this paper is to examine the quantity of ethanol in human blood samples devoid of alcohol and beer and to provide a biological reference range for ethanol concentration.

Subjects and methods: This is a descriptive cross-sectional study of Beckman Coulter Biosystem chemicals using an enzyme kinetics approach. The ethanol concentration in plasma was measured. There were 1,237 blood samples from blood donors at the blood transfusion center of Viet-Duc Hospital.

Results: There were 1,237 blood samples from blood donors at the blood transfusion center of Viet-Duc Hospital in Vietnam. The data for ethanol concentration is standard a normal distribution. The ethanol concentration level of 1,760 mmol/l is 33,6%, the ethanol concentration level of 1,760 to 3,000 mmol/l is 54,4%, and the ethanol The group that did not consume alcohol had the lowest ethanol concentration at 0,293 mmol/l, while the highest concentration was 3,990 mmol/l. The concentration level for > 3 mmol/l is 12%. The lowest ethanol concentration is 0,293 mmol/l and the highest is 3,990 mmol/l. The average ethanol concentration is $2,124 \pm 0,712$ mmol/l; the difference between men and women is statistically significant. There is not correlation between age and ethanol

concentration. The recommended Reference Intervals is under 4,000 mmol/l.

Conclusion: The findings show that the group that did not consume alcohol had the lowest ethanol concentration at 0,293 mmol/l, while the highest concentration was 3,990 mmol/l. There is not correlation between age and ethanol concentration. The recommended Reference Intervals is under 4,000 mmol/l.

Keywords: Ethanol, endogenous Ethanol.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ethanol là hợp chất hữu cơ được sử dụng khá nhiều trong đời sống hàng ngày. Ethanol rất tốt cho hệ tiêu hóa nếu uống với lượng vừa phải, tuy nhiên nếu uống quá nhiều sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe. Có rất nhiều nghiên cứu gần đây cho thấy, việc tăng tiêu thụ rượu bia làm tăng nguy cơ gây ra chấn thương [1], và đây là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong và tàn tật trên toàn thế giới [7]. Theo thống kê của Tổ Chức y tế thế giới, Việt Nam là một trong số các quốc gia trên thế giới có mức tiêu thụ rượu bia tăng nhanh, đặc biệt là ở nam giới, trong năm 2016 mức tiêu thụ bình quân đầu người cao thứ 2 Đông Nam Á và thứ 3 của Châu Á [8].

Tuy nhiên ngoài lượng ethanol ngoại sinh từ bên ngoài đưa vào, bản thân trong cơ thể mỗi người vẫn có một lượng nhỏ nồng độ Ethanol nội sinh do cơ thể tổng hợp lên từ quá trình lên men của vi sinh vật đường ruột [6].

Trong những năm gần đây khoa Sinh hóa bệnh viện Việt Đức nhận chỉ đạo của Bộ y tế tham gia tư vấn, hỗ trợ các chuyên gia pháp lý giải quyết những thắc mắc về nồng độ ethanol trong tổ tưng.

Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu cụ thể về nồng độ ethanol nội sinh trong cơ thể người cũng như khoảng tham chiếu sinh học của xét nghiệm ethanol. Do đó chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với các mục tiêu:

1. *Khảo sát nồng độ ethanol trong mẫu máu người không sử dụng rượu, bia.*
2. *Khuyến cáo khoảng tham chiếu sinh học nồng độ ethanol.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

- Người hiến máu tại trung tâm truyền máu bệnh viện Việt Đức.

- Tiêu chuẩn lựa chọn:

• Những mẫu máu từ người khỏe mạnh đủ tiêu chuẩn hiến máu tại trung tâm truyền máu bệnh viện Việt Đức.

- Tiêu chuẩn loại trừ:

• Mẫu máu sau khi ly tâm có hiện tượng tán huyết, hoặc huyết tương đục.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1 Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang, tiến cứu từ tháng 3/2022-8/2022.

Cỡ mẫu nghiên cứu

Công thức tính cỡ mẫu

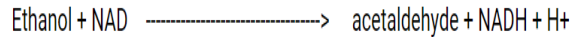
$$n = \frac{Z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 \sigma^2}{d^2}$$

- n là cỡ mẫu tối thiểu (1177 mẫu).
- $Z_{1-\alpha/2} = 1.96$ là giá trị từ phân bố chuẩn, được tính dựa trên mức ý nghĩa thống kê = 5%.
- σ là độ lệch chuẩn $\sigma = 0.35$ (Lấy từ nghiên cứu Endogenous Ethanol Production Levels in Saudi Arabia Residents).
- $d = 0.02$ là mức sai số tuyệt đối chấp nhận.

2.2. Phương pháp và hóa chất xét nghiệm

Phương pháp động học enzym

ADH



Ethanol và NAD được chuyển đổi thành acetaldehyd và NADH bởi ADH (alcoldehydrogenase). Các NADH được hình thành trong quá trình phản ứng làm thay đổi độ hấp thụ, nồng độ ethanol được đo ở bước sóng 340nm.

Xét nghiệm được thực hiện trên máy AU.5800 tự động của Beckman Coulter

Hóa chất của hãng Biosystem.

2.3/ Sử lý số liệu

Số liệu được xử lý trên phần mềm SPSS 25.

Các biến định lượng được trình bày theo giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (\bar{X} , SD), các biến định tính được trình bày theo giá trị %.

Kiểm định sự khác biệt sử dụng independent-samples T test, đánh giá mối tương quan sử dụng phân tích tương quan Pearson.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu mô tả cắt ngang tiến cứu. Nghiên cứu này đã được hội đồng chuyên môn, hội đồng y đức Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức thông qua.

Thu thập thông tin đầy đủ, trung thực, khách quan theo mục đích nghiên cứu.

Tất cả các thông tin về bệnh nhân đều được bảo mật, chỉ sử dụng cho nghiên cứu, không sử dụng với mục đích nào khác.

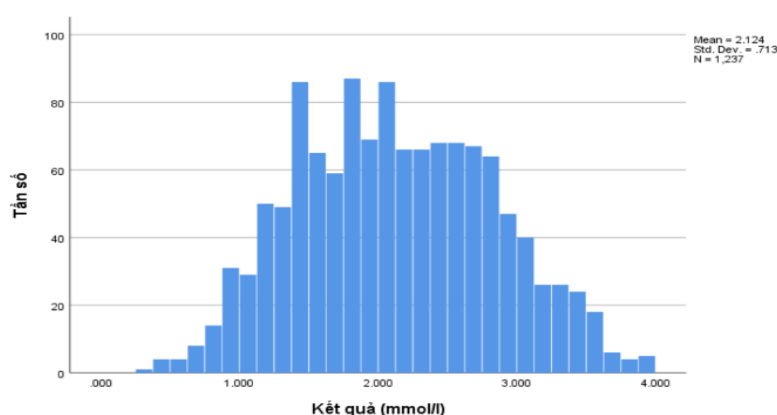
Kết quả thu được, được sử dụng trong tham khảo đánh giá kết quả ethanol ở bệnh nhân.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Giới, tuổi của nhóm đối tượng nghiên cứu

Giới \ Độ tuổi	18-30 n (%)	31-40 n (%)	41-50 n (%)	51-60 n (%)	Tổng n (%)
Nam	295(23,8)	210(17,0)	120(9,7)	18(1,5)	643(52,0)
Nữ	210(17,0)	213(17,2)	144(11,7)	27(2,1)	594(48,0)
Tổng	505(40,8)	423(34,2)	264(21,4)	45(3,6)	1237(100)

Nhận xét: nam có 643(52,0%), nữ có 594 (48,0%), nhóm tuổi 18-30 chiếm tỷ lệ lớn nhất (40,8%) vì đây là đối tượng sinh viên, đoàn viên thanh niên là nòng cốt của các hoạt động phong trào, thấp nhất là nhóm tuổi 51-60 (3,6%).



Biểu đồ 1: Biểu đồ phân bố kết quả nồng độ ethanol

Nhận xét: kết quả nồng độ ethanol trên nhóm không sử dụng rượu bia là biểu đồ phân bố chuẩn.

Bảng 2: Kết quả Skewness, Kurtosis, CV %

Thông số	Skewness	Kurtosis	CV %
Kết quả	0.070	0.590	20%
Tiêu chí đánh giá[11]	≤2	≤4	< 50%
Kết luận	nồng độ ethanol có phân bố chuẩn		

Nhận xét: bảng 1 cho ta biết giá trị tuyệt đối của Skewness, Kurtosis, CV % của nồng độ ethanol đều thỏa mãn tiêu chí của phân bố chuẩn theo AnShul Gupta[11].

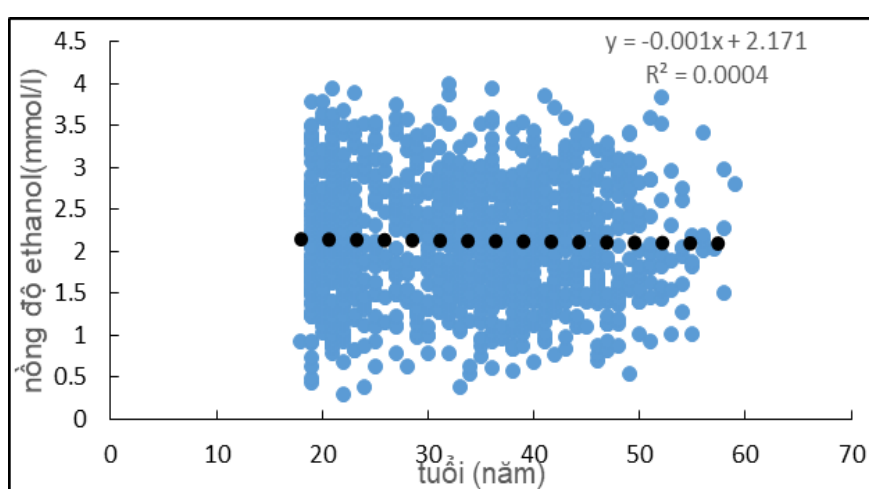
Bảng 3: Nồng độ ethanol trên nhóm không sử dụng rượu, bia

Biến số	SL(%)	Min (nồng độ)	Max (nồng độ)	Mean ± SD (nồng độ)	P
Giới tính					
Nam	643 (52,0)	0,293	3,990	2,266±0,709	p ^a < 0,01
Nữ	594 (48,0)	0,389	3,898	1,971±0,684	
Nhóm tuổi (năm)					
18-30	505 (40,8)	0,293	3,941	2,140±0,754	

31-40	423 (34,2)	0,389	3,990	2,109±0,676	$p^b > 0,5$
41-50	264 (21,4)	0,535	3,854	2,116±0,693	
51-60	45 (3,6)	0,920	3,842	2,129±0,688	
Min (tuổi): 18, Max (tuổi): 59, Mean ± SD (tuổi): 33,0±9,9					

SL: số lượng; SD: độ lệch chuẩn; Min: tuổi nhỏ nhất, nồng độ nhỏ nhất; Max: tuổi lớn nhất, nồng độ lớn nhất; a: kiểm định independent-samples T test; b: phân tích mối tương quan Pearson.

Nhận xét: Nồng độ ethanol thấp nhất là 0,293 mmol/l, nồng độ cao nhất là 3,990; nồng độ ethanol trung bình ở nam giới cao hơn so với nữ giới, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Nồng độ ethanol giữa các nhóm tuổi tương đối đồng đều nhau.



Biểu đồ 2: mối tương quan giữa nồng độ ethanol và tuổi

Nhận xét: không có mối tương quan giữa nồng độ ethanol và độ tuổi của các tình nguyện viên. $R^2 = 0,0004$.

Bảng 4: Phân bố nồng độ ethanol trên đối tượng nghiên cứu

Các mức nồng độ ethanol (mmol/l)	Min	Max	Mean ± SD	SL (%)
<1,760 (mmol/l)	0,293	1,759	1,340±0,302	415 (33,6)
1,760 -3,000 (mmol/l)	1,762	2,981	2,343±0,346	673 (54,4)
> 3,000 (mmol/l)	3,005	3,990	3,320±0,240	149 (12,0)
Tổng số			2,124±0,712	1237 (100,0)

Min: nồng độ thấp nhất, Max: nồng độ cao nhất, Mean: nồng độ trung bình, SD: độ lệch chuẩn, SL: số lượng.

Nhận xét: Mức nồng độ 1,760-3,000 mmol/l chiếm tỷ lệ lớn nhất là 54,4%, nồng độ ethanol của nhóm nghiên cứu trung bình từ 2,124±0,712mmol/l, biên độ dao động từ 0,293-3,990 mmol/l.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện trên 1237 người hiến máu, có 643 nam chiếm tỷ lệ 52,0%, nữ 594 chiếm tỷ lệ 48,0%. Do mô hình vận động hiến máu nhân đạo nhóm tuổi chủ yếu là học sinh, sinh viên với tuổi từ 18 – 30 tuổi, các nhóm tuổi còn lại có tỷ lệ thấp hơn lần lượt là nhóm tuổi 31-40, 41-50, nhóm tuổi có tỷ lệ thấp nhất là nhóm tuổi 51-59, tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là $33,0 \pm 9,9$, tuổi nhỏ nhất là 18 tuổi và tuổi lớn nhất là 59 tuổi. (Bảng 1, bảng 3).

Thông qua biểu đồ 1 và bảng 2 ta có thể thấy nồng độ ethanol có phân bố chuẩn.

Trong nhóm không sử dụng rượu bia, nam có nồng độ ethanol thấp nhất là 0,293 mmol/l, cao nhất là 3,990 mmol/l, nồng độ trung bình là $2,266 \pm 0,709$ mmol/l; nữ có nồng độ ethanol thấp nhất là 0,389 mmol/l, cao nhất là 3,898 mmol/l, nồng độ trung bình là $1,971 \pm 0,684$. Có sự khác biệt về nồng độ ethanol giữa nam và nữ. (Bảng 3). Nồng độ ethanol trong cơ thể phụ thuộc vào tốc độ hấp thu, tốc độ đào thải của ethanol, chế độ ăn uống do đó dẫn tới nồng độ ethanol của nam giới có thể cao hơn so với nữ giới.

Nồng độ ethanol giữa các nhóm tuổi tương đối đồng đều nhau, không có mối tương quan giữa nồng độ ethanol và tuổi. (Bảng 3. Biểu đồ 2). Kết quả nghiên cứu này phù hợp với nghiên cứu của Mostafa M Afify và các cộng sự [6].

Kết quả nồng độ ethanol được chia theo 3 mức, lần lượt là: $<1,760$ mmol/l; $1,760 - 3$ mmol/l và >3 mmol/l, mức nồng độ ethanol từ $1,760 - 3$ mmol/l chiếm tỷ lệ lớn nhất là 54,4%, mức nồng độ > 3 mmol/l chiếm tỷ lệ thấp nhất là 12,0%, nồng độ ethanol thấp

nhất là 0,293 mmol/l, cao nhất là 3,990 mmol/l là kết quả phù hợp với nghiên cứu của Lester[3]. nồng độ ethanol trung bình là $2,124 \pm 0,712$. (Bảng 4). Mức $<1,760$ mmol/l được nhà sản xuất hóa chất đưa ra là giới hạn dưới của khoảng đo. Có sự thay đổi nồng độ ethanol giữa các đối tượng trong nghiên cứu có thể là do chế độ ăn uống khác nhau trên từng người hiến máu. Ethanol nội sinh được hình thành từ quá trình chuyển hóa carbonhydrat ở đường tiêu hóa bởi hệ thực vật đường ruột, do đó chế độ ăn giàu carbonhydrat có thể làm tăng nồng độ ethanol nội sinh trong cơ thể, ngoài ra việc sử dụng các nước ép trái cây cũng có thể làm tăng nồng độ ethanol nội sinh trong máu do làm tăng quá trình lên men tại đường tiêu hóa [6].

Bằng phương pháp sắc ký, nghiên cứu của Mostafa M Afify và các cộng sự khi tiến hành nghiên cứu trên cộng đồng dân cư tại Ả rập năm 2015 mức nồng độ ethanol thấp nhất là 0mmol/l, mức nồng độ cao nhất là 0,33 mmol/l, nồng độ ethanol trung bình là $0,030 \pm 0,075$ mmol/l [6], so với nghiên cứu của A. W. Jones năm 1983 là $0,0085 \pm 0,0098$ mmol/l, Liebich và cộng sự năm 1982 là $0 - 0,846$ mmol/l [4]. Theo ISO 15189:2012, khoảng tham chiếu (KTC) là khoảng xác định của phân bố các giá trị lấy từ một tổng thể tham chiếu sinh học. KTC thường đặc trưng cho từng chủng tộc, quốc gia, độ tuổi, giới tính... KTC là một thành phần không thể thiếu trong nhận định kết quả xét nghiệm.

Nghiên cứu của chúng tôi nồng độ ethanol trung bình là $2,124 \pm 0,712$ mmol/l, nồng độ ethanol ở nam giới cao hơn so với nữ giới, trong đó nồng độ ethanol trung bình ở nam

giới là $2,266 \pm 0,709$ mmol/l nữ giới là $1,971 \pm 0,684$ mmol/l, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Theo hướng dẫn của CLSI EP28-A3c công bố năm 2010, đối với nghiên cứu có phân bố chuẩn thì khoảng tham chiếu được thiết lập theo công thức $KTC = \bar{X} \pm 2SD$, do đó KTC nồng độ ethanol là $2,124 \pm 2 \times 0,712$ (0,7-3,548), do giá trị nồng độ ethanol ở ngưỡng thấp không có ý nghĩa về mặt lâm sàng, và kết quả nồng độ ethanol của nhóm không sử dụng rượu bia có giá trị dao động từ 0,293- 3,990 mmol/l, kết hợp với báo cáo của Lester nồng độ này dao động từ 0-4,340 mmol/l[3], vì thế chúng tôi khuyến cáo KTC nồng độ ethanol là $< 4,000$ mmol/l.

V. KẾT LUẬN

Khảo sát nồng độ ethanol trên mẫu máu người không sử dụng rượu bia thu được có kết quả ethanol phân bố chuẩn.

Mức nồng độ ethanol trong khoảng 1,760-3 mmol/l chiếm tỷ lệ lớn nhất là 54,4%, nồng độ ethanol trung bình từ $2,124 \pm 0,712$ mmol/l, biên độ dao động từ 0,293 - 3,990 mmol/l, Có sự khác biệt về nồng độ ethanol giữa nam và nữ. Không có mối tương quan giữa nồng độ ethanol và các nhóm tuổi.

VI. KIẾN NGHỊ

Để xác định chính xác nồng độ ethanol nội sinh trên nhóm người không sử dụng rượu bia, cần có thêm nhiều nghiên cứu với nhiều phương pháp xét nghiệm khác nhau. Đồng thời khi trả lời kết quả nồng độ ethanol trong máu của người khi cần thiết, chúng ta

cần ghi rõ thực hiện trên thiết bị và phương pháp xét nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Cherpitel, C.J., et al.**, Relative risk of injury from acute alcohol consumption: modeling the dose-response relationship in emergency department data from 18 countries. *Addiction*, 2015. **110**(2): p. 279-88.
2. **Jones, A.W., G. Mårdh, and E. Änggård**, Determination of endogenous ethanol in blood and breath by gas chromatography-mass spectrometry. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1983. **18**: p. 267-272.
3. **Lester, D.J.Q.j.o.s.o.a.**, Endogenous ethanol: a review. 1961. **22**: p. 554-574. **40**(3): p. 206-215.
4. **Liebich, H.M., H.J. Buelow, and R. Kallmayer**, Quantification of endogenous aliphatic alcohols in serum and urine. *J Chromatogr*, 1982. **239**: p. 343-9.
5. **Logan, B.K. and A.W. Jones**, Endogenous Ethanol 'Auto-Brewery Syndrome' as a Drunk-Driving Defence Challenge. *Medicine, Science and the Law*, 2000.
6. **Ragab, A.R.**, Endogenous Ethanol Production Levels in Saudi Arabia Residents. *Journal of Alcoholism & Drug Dependence*, 2015. **03**(03).
7. **Sakran, J.V., et al.**, Care of the injured worldwide: trauma still the neglected disease of modern society. *Scandinavian Journal of Trauma, Resuscitation and Emergency Medicine*, 2012. **20**(1): p. 64.
8. **WHO**, Hỏi đáp về phòng chống tác hại của rượu bia

GIÁ TRỊ TIÊN LƯỢNG CỦA L-FABP NIỆU Ở BỆNH NHÂN NHIỄM KHUẨN HUYẾT CÓ TỔN THƯƠNG THẬN CẤP

Phạm Thị Minh Huyền¹, Nguyễn Thị Thu¹, Phạm Viết Tân¹,
Nguyễn Đình Quân¹, Đinh Mạnh Hà¹, Quách Xuân Hình¹, Nguyễn Gia Bình²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Tìm hiểu vai trò của L-FABP niệu trong tiên lượng ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết (NKH) có tổn thương thận cấp. **Đối tượng và phương pháp:** 102 bệnh nhân NKH được tiến hành định lượng L-FABP niệu bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục tại thời điểm vào điều trị tại khoa Hồi sức tích cực. **Kết quả:** Giá trị tiên lượng tử vong của nồng độ L-FABP niệu cao hơn so với điểm ApacheII, Sofa với diện tích dưới đường cong ROC tương ứng là 0,85 so với 0,7 và 0,74. Ở bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp, nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận với thời gian điều trị. Nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận mức độ trung bình với nồng độ Lactate huyết tương với hệ số tương quan Spearman $Rh0 = 0,72$. **Kết luận:** nồng độ L-FABP niệu có thể là xét nghiệm hữu ích trong theo dõi, tiên lượng bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp.

Từ khóa: L-FABP niệu, nhiễm khuẩn huyết, tổn thương thận cấp.

SUMMARY

THE PROGNOSTIC VALUE OF URINARY L-FABP IN SEPTIC PATIENTS WITH ACUTE KIDNEY INJURY

¹Bệnh viện TWQĐ 108,

²Bệnh viện Vinmec Times city

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Thị Minh Huyền

Email: minhhuynv108@gmail.com

Ngày nhận bài: 17.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 21.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

Objectives: to investigate the prognosis role of urinary L-FABP in septic patients with acute kidney injury. **Subjects and methods:** 102 septic patients were measured urine L-FABP by immunoassay turbidity method at the admission to the intensive care unit (ICU). **Results:** The mortality predictive value of urinary L-FABP was higher than that of Apache II score, Sofa score with the area under the ROC curve of 0.85 compared with 0.7 and 0.74, respectively. In septic patients with acute kidney injury, urinary L-FABP was highly positively correlated with length of ICU stay. Urinary L-FABP concentration was positively correlated with plasma lactate concentration with Spearman correlation coefficient $Rh0 = 0.72$. **Conclusions:** Urinary L-FABP level might be a useful test in monitoring and predicting septic patients with acute kidney injury.

Key words: urinary L-FABP, septic, acute kidney injury.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tổn thương thận cấp (Acute kidney injury, AKI) là biến chứng thường gặp ở bệnh nhân NKH, làm tăng đáng kể tỷ lệ tàn phế, tử vong và tăng nguy cơ phát triển bệnh thận mạn tính. Bệnh nhân NKH có biến chứng AKI có tỷ lệ tử vong đặc biệt cao, có thể lên tới 50- 90%. Việc chẩn đoán sớm, tiên lượng AKI đóng vai trò quan trọng giúp tăng cơ hội sống sót cho bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp [6]. Hiện nay việc chẩn đoán, tiên lượng tổn thương thận cấp chủ yếu

dựa vào creatinin huyết tương. Tuy vậy, creatinin là một chỉ số không thật sự đáng tin cậy trong AKI vì nhiều lý do khác nhau: creatinin phát hiện muộn và không chính xác sự giảm mức lọc cầu thận và tổn thương ống thận, đồng thời nồng độ creatinin huyết tương chịu ảnh hưởng bởi các yếu tố ngoài thận [1]. Việc chẩn đoán, tiên lượng AKI dựa vào creatinin huyết tương ở bệnh nhân NKH càng thiếu chính xác do giảm tưới máu cơ xương trong NKH làm giảm sản xuất creatinin, bù dịch nhanh ở bệnh nhân NKH dẫn tới pha loãng creatinin huyết tương. Kết quả làm nồng độ creatinin huyết tương thể hiện dưới mức các thay đổi về mức lọc cầu thận và tổn thương ống thận. Do đó việc nghiên cứu các marker có thể giúp chẩn đoán sớm AKI, cũng như tiên lượng, theo dõi tiến triển bệnh thu hút được nhiều sự quan tâm của các nhà khoa học. Trong đó L-FABP niệu được đánh giá là marker hiệu quả trong chẩn đoán sớm và tiên lượng mức độ nặng của AKI nói chung [8], cũng như AKI ở bệnh nhân NKH [2]. Các nghiên cứu về vai trò của L-FABP niệu ở bệnh nhân NKH trên thế giới còn khiêm tốn, chưa có nghiên cứu nào trên quần thể người Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu tìm hiểu vai trò của L-FABP niệu trong tiên lượng bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp với mong muốn cung cấp thêm thông tin về một marker tiềm năng trong theo dõi AKI ở bệnh nhân NKH.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 102 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết (NKH) điều trị tại khoa Hồi sức tích cực (intensive care unit, ICU) Bệnh viện TWQĐ 108 từ 8/2018 đến tháng 8/2020 với các tiêu chuẩn như sau:

1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân được chẩn đoán xác định là nhiễm khuẩn huyết.

1.2. Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân mắc một trong các bệnh sau: suy thận mạn, ung thư. Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

1.3. Tiêu chuẩn chẩn đoán

- Tiêu chuẩn chẩn đoán tổn thương thận cấp: theo tiêu chuẩn KDIGO- 2012.

- Tiêu chuẩn chẩn đoán NKH: theo Sepsis-3 (2016): Có ổ nhiễm khuẩn khởi phát; Triệu chứng rối loạn chức năng cơ quan: được xác định là thay đổi cấp tính của tổng điểm SOFA ≥ 2 điểm do hậu quả của nhiễm trùng.

- Chẩn đoán Shock nhiễm khuẩn: NKH kèm với hạ huyết áp tồn tại cần phải sử dụng thuốc vận mạch để giữ huyết áp động mạch trung bình 65mmHg và có Lactate huyết thanh $> 2\text{mmol/l}$ cho dù đã được hồi sức bù dịch thỏa đáng.

1.4. Mẫu nghiên cứu: chọn mẫu theo phương pháp chọn mẫu thuận tiện.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

2.2. Các bước tiến hành: Bệnh nhân thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn được thu thập số liệu theo mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất. Các bệnh nhân được lấy máu lúc vào khoa Hồi sức tích cực gồm 4 ml máu tĩnh mạch làm các xét nghiệm sinh hóa thường quy (Glucose, ure, creatinin, GOT, GPT, GGT, Bilirubin, Protein, Albumin), PCT và công thức máu, lấy 5 mL nước tiểu làm xét nghiệm L- FABP niệu, creatinin niệu.

2.3. Định lượng L-FABP niệu bằng

phương pháp miễn dịch đo độ đục có hiệu chỉnh cho nồng độ creatinin niệu, hóa chất của hãng Sisuiki (Nhật Bản), đo trên máy sinh hóa tự động Beckmann Coulter AU5800 tại khoa Sinh hóa- bệnh viện TWQĐ 108.

3. Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 25.0 để phân tích thống kê. Tính độ

nhạy và độ đặc hiệu của L-FABP niệu bằng phân tích ROC kết hợp với tính chỉ số Youden (J). Kiểm định sự khác biệt của 2 biến định lượng, phân phối không chuẩn bằng kiểm định Mann- Whitney test. Đánh giá mối tương quan giữa 2 biến định lượng bằng hệ số tương quan Spearman.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Phân nhóm		n	%
Giới	Nam	86	84,3
	Nữ	16	15,7
NKH	Shock NK	69	67,6
	Không shock NK	33	32,4
AKI	Có	41	40,2
	Không	61	59,8
	Tử vong	20	19,2
	Sống	82	78,8
Tuổi ($\bar{X} \pm SD$)		65 \pm 17,9	

Nhận xét: Trong nhóm đối tượng nghiên cứu giới nam chiếm ưu thế, phần lớn bệnh nhân NKH có shock NK, tỷ lệ có tổn thương thận cấp là 40,2%.

Bảng 2. Đặc điểm cận lâm sàng của các đối tượng nghiên cứu

Thông số cận lâm sàng	Sống (n= 82)	Tử vong (n= 20)	p
WBC (G/L)	10,45 [1,04-39,88]	10,01 [3,12-25,01]	0,98
Hb (g/L)	118 [58-175]	119 [95-153]	0,31
Ure (mmol/L)	10,48 [2,81-38,66]	9,76 [7,7-40,2]	0,48
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	90,5 [26-651]	157,5 [61-432]	0,06
PCT (ng/mL)	23,58 [2,79-100]	44,51 [0,82-160,68]	0,08
L-FABP niệu ($\mu\text{g/g cre}$)	132,08 [5,1-855,18]	586,6 [308,29-1518,69]	0,001

Chú thích: p: Mann Whitney test, trung vị [min-max].

Nhận xét: Chỉ có nồng độ L-FABP niệu khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm sống và nhóm tử vong. Còn các kết quả bạch cầu, huyết sắc tố, ure, creatinin, PCT huyết tương không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm.

2. Nồng độ L-FABP niệu và một số chỉ số cận lâm sàng ở nhóm bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp và nhóm không có tổn thương thận cấp

Bảng 3. Một số chỉ số cận lâm sàng ở nhóm tổn thương thận cấp và nhóm không có tổn thương thận cấp

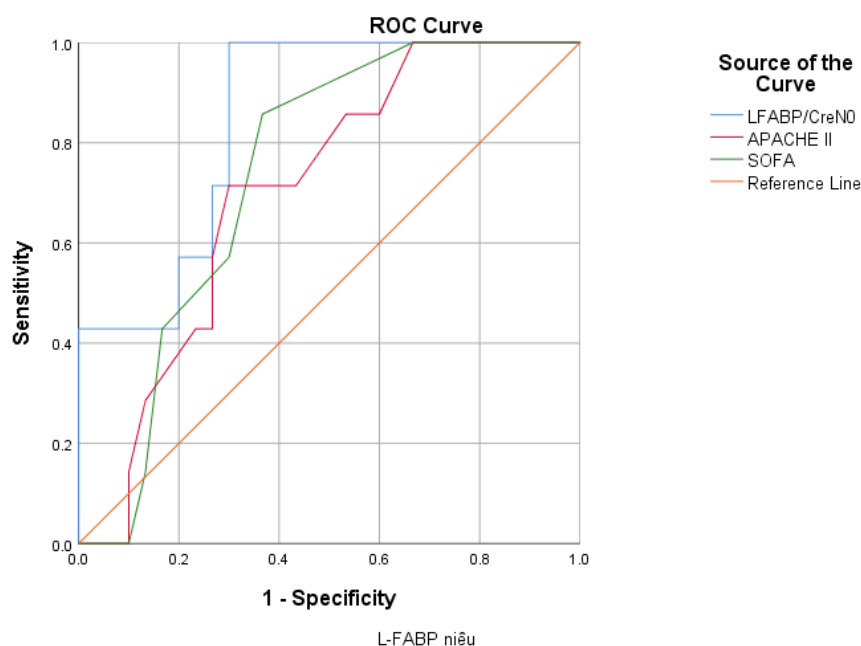
Chỉ số	AKI (n=41)	Không AKI (n=61)	p
L-FABP ($\mu\text{g/g cre}$)	607,25 [120,19-1518,69]	240,82 [5,1-843,09]	0,001
PCT (ng/mL)	28,56 [5,27-100]	52,01 [0,8-116]	0,38
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	188 [73-651]	88 [40-140,5]	0,001
Lactate (mmol/L)	5,1 [1,4-7,8]	3,1 [0,7-4,9]	0,02
Apache II	23 [15-28]	15,5 [7-33]	0,001
Điểm Sofa	9 [5-14]	6 [3-10]	0,001

Chú thích: p: Mann Whitney test, trung vị [min-max].

Nhận xét: Nồng độ L-FABP, creatinin huyết tương, lactate, điểm Apache II, Sofa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh nhân tổn thương thận cấp và nhóm không tổn thương thận cấp với $p = 0,001$ (Mann Whitney test).

3. Mối liên quan giữa nồng độ L-FABP niệu và một số yếu tố tiên lượng ở bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp

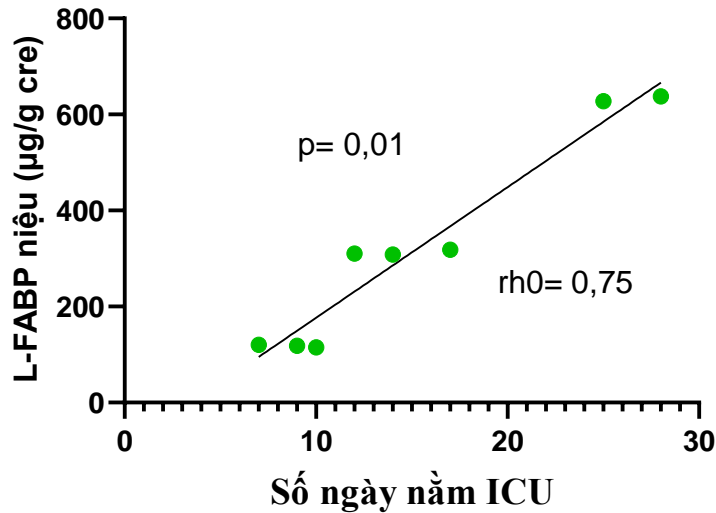
3.1. Nồng độ L-FABP và nguy cơ tử vong ở bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp



Hình 1. Liên quan giữa L-FABP niệu, điểm Apache II, Sofa với nguy cơ tử vong.

Nhận xét: Giá trị tiên lượng tử vong của nồng độ L-FABP niệu cao hơn so với điểm ApacheII, Sofa với diện tích dưới đường cong ROC tương ứng là 0,85 so với 0,7 và 0,74. Giá trị tiên đoán tử vong của L-FABP với cut-off 377,19 $\mu\text{g/g Creatinin}$ có độ nhạy 85,7%; độ đặc hiệu 70%.

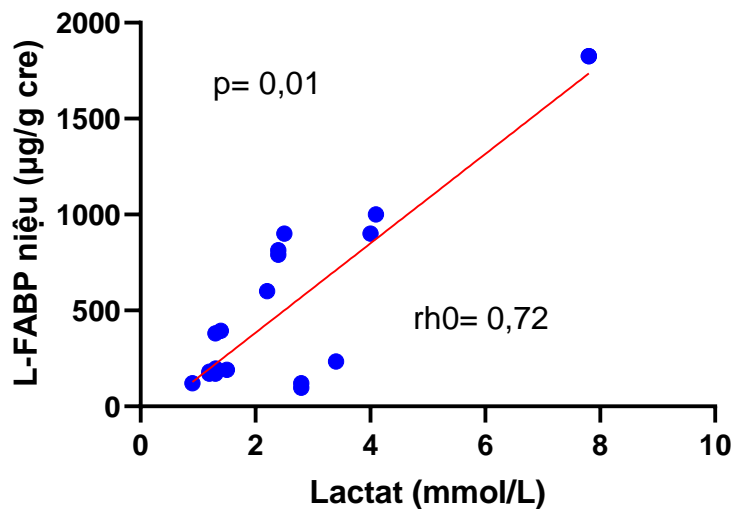
3.2. Liên quan giữa nồng độ L-FABP và thời gian nằm viện ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có tổn thương thận cấp



Hình 2: Tương quan nồng độ L-FABP niệu và thời gian nằm ICU

Nhận xét: Trong số bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp và sống trong thời gian điều trị tại khoa Hồi sức tích cực, nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận, tương đối chặt với thời gian nằm điều trị tại ICU.

3.3. Tương quan giữa nồng độ L-FABP với nồng độ Lactate



Hình 3. Tương quan giữa nồng độ L-FABP niệu và Lactate máu

Nhận xét: Nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận mức độ thuận với nồng độ Lactate huyết tương với hệ số tương quan Spearman $Rh0=0,72$.

IV. BÀN LUẬN

Rối loạn chức năng cơ quan trong NKH có liên quan với giảm tưới máu dẫn tới thiếu máu mô, kết quả làm thiếu oxy mô. L-FABP là protein vận chuyển acid béo tự do ở ống lượn gần tới ty thể để trải qua quá trình β oxy hóa cung cấp năng lượng cho tế bào biểu mô ống thận. L-FABP còn có vai trò chống oxy hóa trong điều kiện thiếu máu ở thận bằng cách gắn với các acid béo được tạo ra và bài tiết ra nước tiểu, qua đó ngăn quá trình peroxy hóa lipid làm lan truyền tổn thương tế bào. Do đó L-FABP được xem là chất chống oxy hóa nội sinh hiệu quả có vai trò quan trọng ngăn tổn thương ống lượn gần trong quá trình thiếu máu [8]. Vì vậy chúng tôi giả thiết rằng sự thay đổi nồng độ L-FABP niệu có liên quan với mức độ tổn thương cơ quan ở bệnh nhân NKH. Khi phân tích ở nhóm bệnh nhân shock NK và nhóm bệnh nhân không shock NK, kết quả nghiên cứu ghi nhận nồng độ L-FABP niệu ở nhóm shock NK cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không shock (bảng 3). Kết quả này phù hợp với điểm Apache II và Sofa khác nhau có ý nghĩa giữa 2 nhóm bệnh nhân. Như vậy L-FABP có thể là marker hữu ích trong việc tiên lượng bệnh nhân NKH.

Để đánh giá mức độ nặng cũng như tiên lượng tử vong ở bệnh nhân điều trị tại khoa Hồi sức tích cực, đặc biệt là bệnh nhân NKH các bác sỹ lâm sàng sử dụng một số hệ thống thang điểm trong đó phổ biến là Apache II (Acute Physiology, Age and Chronic Health Evaluation) và Sofa (Sequential Organ Failure Assessment) [7], [4]. Hai hệ thống thang điểm này đều gồm tổng hợp nhiều chỉ số quan trọng để đánh giá mức độ tổn thương

các hệ thống cơ quan trong cơ thể: tim mạch, hô hấp, gan, thận, thần kinh vì vậy giúp bác sỹ lâm sàng đánh giá khách quan mức độ tổn thương cơ quan, tiên lượng tử vong. Khi tìm hiểu vai trò của nồng độ L-FABP niệu trong việc tiên lượng tử vong ở bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp, kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ L-FABP niệu có giá trị tiên lượng tử vong cao hơn so với điểm ApacheII, Sofa với diện tích dưới đường cong ROC tương ứng là 0,85 so với 0,7 và 0,74. Giá trị tiên đoán tử vong của L-FABP với cut-off 377,19 $\mu\text{g/g}$ Creatinin có độ nhạy 85,7%; độ đặc hiệu 70%. Kết quả này một lần nữa khẳng định kết quả nghiên cứu của Doi (2010) tiến hành đo nồng độ L-FABP niệu trên 145 bệnh nhân NKH tại thời điểm vào điều trị tại khoa Hồi sức tích cực thấy rằng nồng độ L-FABP niệu tiên lượng tử vong chính xác hơn điểm Apache II và Sofa với diện tích dưới đường cong của L-FABP niệu là 0,99 so với Apache II và Sofa lần lượt là 0,92 và 0,81 [2]. Một nghiên cứu khác trên bệnh nhân NKH cũng ghi nhận L-FABP tiên lượng tử vong ngày thứ 14 tốt hơn NGAL, IL-18 với diện tích dưới đường cong lần lượt là 0,9; 0,83 và 0,83 [1]. Như đã biết L-FABP niệu tăng nhanh khi đáp ứng với thiếu oxy do giảm dòng máu tới mao mạch thận. Như vậy sự tăng nồng độ L-FABP niệu có thể phản ánh đáp ứng hệ thống của cơ thể với tình trạng thiếu oxy mô, cũng như tổn thương cơ quan một cách có hệ thống trong NKH. Tóm lại kết quả nghiên cứu cho thấy L-FABP niệu có thể là chỉ số tiên lượng tử vong hiệu quả ở bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp.

Để tìm hiểu mối liên quan của nồng độ L-FABP niệu với thời gian nằm điều trị tại

khoa Hồi sức tích cực, chúng tôi phân tích mối liên quan giữa nồng độ L-FABP niệu và thời gian nằm điều trị của nhóm bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp sống trong khoảng thời gian điều trị tại khoa hồi sức. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận với thời gian nằm điều trị. Kết quả này cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu của của Ivanisevic trên bệnh nhi tổn thương thận cấp sau phẫu thuật tim cho thấy nồng độ L-FABP niệu ở thời điểm sau phẫu thuật 6 giờ tương quan thuận với thời gian nằm viện [3].

Lactate là sản phẩm của quá trình đường phân. Trước đây lactate được xem là sản phẩm của quá trình đường phân trong điều kiện thiếu oxy. Tuy nhiên, gần đây các nghiên cứu cho thấy ở các tế bào phân chia nhanh như tế bào miễn dịch trong đáp ứng viêm chuyển hóa glucose thành lactat ngay cả trong điều kiện không thiếu oxy. Con đường chuyển hóa glucose theo con đường tạo lactate mặc dù tạo ra ít năng lượng hơn một cách đáng kể nhưng nó có một số lợi ích đối với chức năng miễn dịch. Vì vậy trong NKH có sự tăng đồng thời việc tiêu thụ glucose và tăng cường chuyển hóa glucose thành lactate để đáp ứng với đòi hỏi về năng lượng, nguyên liệu giúp hoạt hóa các tế bào miễn dịch. Do đó, nồng độ Lactate huyết tương là một chỉ số quan trọng được sử dụng để đánh giá mức độ nặng, đáp ứng điều trị, tiên lượng bệnh nhân NKH. Theo guidelines của Sepsis 3, lactate huyết thanh $> 2\text{mmol/L}$, bất chấp bồi phụ dịch thỏa đáng, được xem là một tiêu chuẩn mới để xác định shock NK. Khuyến cáo này dựa trên nhận thức rằng nồng độ lactate liên quan chặt chẽ và thuận

chiều với mức độ nặng của bệnh, tỷ lệ tàn phế và tử vong của sepsis. Nồng độ lactate cao có thể là tiên lượng tử vong, trong khi giảm lactate có liên quan với cải thiện kết quả lâm sàng [5]. Trong nghiên cứu này chúng tôi thấy rằng nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận với nồng độ Lactate huyết tương với hệ số tương quan Spearman $R=0,72$. Như đã biết rối loạn vi tuần hoàn trong NKH dẫn tới giảm tưới máu thận. Trong tình trạng thiếu oxy, L-FABP được điều khiển tăng tổng hợp để ngăn tổn thương ống lượn gần trong điều kiện thiếu máu. Cụ thể L-FABP gắn với acid béo và aldehyd và bài tiết chúng ra nước tiểu ngăn các acid không bão hòa lan truyền tổn thương tế bào thông qua quá trình peroxy hóa lipid [8]. Do đó nồng độ L-FABP niệu tăng khi tổn thương thận cấp trong NKH.

Tóm lại kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ L-FABP niệu có thể là chỉ số hữu ích trong theo dõi, tiên lượng bệnh nhân NKH có tổn thương thận cấp. Tuy nhiên cỡ mẫu trong nghiên cứu còn rất khiêm tốn, nghiên cứu đơn trung tâm, do đó cần tiến hành các nghiên cứu lớn hơn để đưa ra kết luận thuyết phục hơn.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ L-FABP niệu dự báo tử vong cao hơn Apache II và Sofa với diện tích dưới đường cong ROC tương ứng là 0,85 so với 0,7 và 0,74; nồng độ L-FABP niệu tương quan thuận với nồng độ Lactate huyết tương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Doi K, et al (2011). Evaluation of new acute kidney injury biomarkers in a mixed intensive care unit. Crit Care Med, 39(11): p. 2464-9.

2. **Doi K, et al (2010).** Urinary L-type fatty acid-binding protein as a new biomarker of sepsis complicated with acute kidney injury. *Crit Care Med*, 38(10): p. 2037-42.
3. **Ivanišević I, et al (2013).** L-FABP can be an early marker of acute kidney injury in children. *Pediatr Nephrol*, 28(6): p. 963-9.
4. **Lambden S, et al (2019).** The SOFA score-development, utility and challenges of accurate assessment in clinical trials. *Crit Care Clin*, 23(1): p. 374.
5. **Nolt B, et al (2018).** Lactate and Immunosuppression in Sepsis. *Shock*, 49(2): p. 120-125.
6. **Ryo Sato, Y.S, Gaku Takahashi, Masahiro Kojika, Yoshihiro Inoue, and S. Endo (2015).** A newly developed kit for the measurement of urinary liver-type fatty acid-binding protein as a biomarker for acute kidney injury in patients with critical care. *J Infect Chemother*, 21: p. 165-169.
7. **Sadaka F, et al (2017).** Predicting Mortality of Patients With Sepsis: A Comparison of APACHE II and APACHE III Scoring Systems. *J Clin Med Res*, 9(11): p. 907-910.
8. **Xu Y, et al (2015).** L-FABP: A novel biomarker of kidney disease. *Clin Chim Acta*. 445: p. 85-90.

SO SÁNH NỒNG ĐỘ VITAMIN A TRONG SỮA MẸ ĐƯỢC ĐO BỞI THIẾT BỊ XÁCH TAY TRÊN THỰC ĐỊA (iCheck-FLUORO) VỚI KỸ THUẬT TIÊU CHUẨN SẮC KÝ LỎNG HIỆU NĂNG CAO (HPLC)

Nguyễn Thị Diệp Anh¹, Phạm Thiện Ngọc²

TÓM TẮT

Vitamin A trong sữa mẹ (VASM) là một chỉ báo quan trọng về tình trạng vitamin A (Vit.A) của các bà mẹ cho con bú và của trẻ bú sữa mẹ. Sử dụng thiết bị xách tay (iCheck FLUORO) dùng để đo lượng Vit.A trong sữa mẹ sẽ tạo điều kiện thuận lợi cho việc đưa chỉ số hữu ích này vào nghiên cứu dinh dưỡng tại thực địa. **Mục tiêu:** So sánh nồng độ Vit.A trong sữa mẹ được đo bởi iCheck FLUORO với kỹ thuật HPLC. **Đối tượng và phương pháp:** 33 mẫu sữa được thu

thập ở bà mẹ sau sinh 1 tháng. Vit.A đã được đo trong vòng 2 giờ tại phòng thí nghiệm tại thực địa trước khi bảo quản -20°C ở thực địa sau đó chuyển về viện Dinh dưỡng bảo quản ở -80°C. Sau 5 tháng, mẫu được định lượng nồng độ Vit.A bởi iCheck FLUORO và HPLC. **Kết quả:** Nồng độ Vit.A được đo bằng iCheck FLUORO và HPLC trong các mẫu đông lạnh có tương quan chặt ($r = 0,94$, $p < 0,001$); độ dốc của đường hồi quy là 1.138 (iCheck > HPLC). **Kết luận:** Nồng độ Vit.A trong sữa mẹ được đo trên thiết bị iCheck FLUORO có kết quả tương đương với phương pháp HPLC và có thể được sử dụng thuận tiện tại nhà cho các bà mẹ hoặc trong các nghiên cứu tại thực địa.

Từ khóa: Vitamin A sữa mẹ, iCheck FLUORO, HPLC, Việt Nam.

¹Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia

²Đại học Phenikaa.

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Diệp Anh

Email: diepanhnin@gmail.com

Ngày nhận bài: 15.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

SUMMARY**COMPARISON OF A PORTABLE FIELD DEVICE (iCheck FLUORO) WITH THE STANDARD TECHNIQUE OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY (HPLC) FOR MEASURING BREAST-MILK VITAMIN A CONCENTRATION**

Breast milk vitamin A (BMVA) concentration is a vital indicator of vitamin A (VitA) status of lactating mothers and their breast-fed infants. Using portable device (iCheck FLUORO) for measuring vitamin A in breast-milk will greatly facilitate applying this useful indicator in nutrition studies. **Objective:** To compare vitamin A concentrations in breast-milk samples measured by the standard technique HPLC with those by iCheck FLUORO. **Subjects and methods:** 33 milk samples were collected at 4 weeks postpartum. Vitamin A was measured within 2 hours in the field laboratory before being frozen at $< -20^{\circ}\text{C}$ in the field and later at -80°C at the NIN in Hanoi. After 5 months, the samples were thawed and the vitamin A content was re-analyzed using the HPLC and iCheck FLUORO. **Results:** Vitamin A concentrations measured by iCheck FLUORO and HPLC in previously frozen samples were highly correlated ($r = 0.94$, $P < 0.001$); the slope of the regression was 1.138 (iCheck $>$ HPLC). **Conclusion:** Vitamin A concentrations measured by iCheck FLUORO have correlative results with those measured by HPLC method. It is easily operated in both mothers' home and in the field laboratory.

Key words: Breast milk vitamin A, iCheck FLUORO, HPLC.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu hụt Vit.A hiện vẫn đang là vấn đề có ý nghĩa sức khỏe cộng đồng (YNSKCD). Theo thống kê của WHO (2009), trên toàn thế giới có 5,2 triệu trẻ em dưới 5 tuổi và 9,8

triệu phụ nữ mang thai bị thiếu Vit.A, có tới 190 triệu trẻ em dưới 5 tuổi và 19,1 triệu phụ nữ mang thai có retinol huyết thanh thấp ($< 0,70$ mmol/L) [1]. Sự thiếu hụt này làm suy giảm khả năng miễn dịch dẫn đến trẻ dễ mắc các bệnh nhiễm trùng, tăng tỷ lệ tử vong, chủ yếu ở trẻ dưới 2 tuổi. Tại Việt Nam, tình trạng thiếu Vit.A tiền lâm sàng là vấn đề có ý nghĩa sức khỏe cộng đồng (YNSKCD), đặc biệt tại các vùng nông thôn. Theo số liệu tổng điều tra toàn quốc năm 2015 của viện Dinh dưỡng, tỷ lệ thiếu Vit.A tiền lâm sàng ở trẻ em trên toàn quốc là 13,0 %, nhóm trẻ dưới 12 tháng tuổi bị thiếu Vit.A là 22% ở mức nặng về YNSKCD [2].

Nồng độ Vit.A trong sữa mẹ là một chỉ số phản ánh tình trạng Vit.A của bà mẹ cho con bú, trẻ sơ sinh và trẻ nhỏ bú mẹ. Xác định nồng độ Vit.A trong sữa mẹ góp phần cung cấp thông tin quan trọng về thực trạng sức khỏe cộng đồng. Hầu hết các nghiên cứu đều sử dụng phương pháp HPLC để định lượng Vit.A trong sữa. Đây là phương pháp chuẩn nhưng phức tạp, đòi hỏi phải có phòng thí nghiệm tiêu chuẩn, nhân viên kỹ thuật có trình độ cao và cần nhiều thời gian để xử lý và phân tích mẫu [3].

iCheck FLUORO là một thiết bị huỳnh quang xách tay nhỏ gọn, dùng để định lượng nồng độ VitA trong huyết thanh cũng như trong sữa. Phương pháp sử dụng iCheck đơn giản, cho kết quả nhanh (sau năm phút), không đòi hỏi phải xử lý mẫu trước khi phân tích. Phương pháp đo đơn giản, tạo điều kiện tối ưu cho các nghiên cứu dịch tễ đánh giá nồng độ VitA trong sữa và huyết thanh triển khai trên cộng đồng. Cho tới nay, đã có một số tác giả nghiên cứu và công bố kết quả đánh giá phương pháp đo trên iCheck, và so sánh với phương pháp HPLC cho kết quả rất khả quan như kết quả công bố của tác giả

Schweiger và kết quả nghiên cứu của Engle-Stone và cs đều cho thấy, nồng độ Vit.A định lượng bằng hai phương pháp HPLC và iCheck có mối tương quan chặt [4, 5]. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu nào đánh giá phương pháp đo nồng độ VitA trong sữa mẹ bằng iCheck FLUORO, vì vậy nghiên cứu này được tiến hành nhằm so sánh nồng độ Vit.A trong sữa mẹ được phân tích bằng máy sắc ký lỏng hiệu năng cao (HPLC) với kết quả đo nhanh trên thiết bị iCheck FLUORO.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn lựa chọn

- Phụ nữ sinh sống tại huyện Cẩm Khê Phú thọ, tuổi từ 18 đến 35.
- Nuôi con bằng sữa mẹ. Không uống viên Vit.A liều cao trong vòng 1 tháng sau sinh.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Phụ nữ đã uống Vit.A liều cao, sinh con trên 35 ngày. Mắc bệnh cấp tính tại thời điểm thu thập mẫu.

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 1 năm 2012 đến tháng 9 năm 2014

Cỡ mẫu

- Cỡ mẫu: chúng tôi lựa chọn cỡ mẫu tối thiểu là 30, cộng thêm 10% và cỡ mẫu dùng so sánh hai phương pháp là 33 đối tượng.

Cách thu thập và xử lý mẫu

- Mẫu sữa mẹ được thu thập tại nhà đối tượng, trong vòng 30-35 ngày sau khi sinh. Bàu vú được vệ sinh sạch bằng khăn ẩm, 20 ml sữa mẹ được lấy bằng dụng cụ lấy sữa chuyên dụng trong điều kiện ánh sáng yếu. Mẫu sữa được bảo quản ngay vào thùng lưu mẫu có chứa đá làm mát, tránh ánh sáng. Sữa được vận chuyển từ nhà đối tượng về phòng thí nghiệm tại thực địa để phân tích và lưu

mẫu. Thời gian vận chuyển trong vòng 60 phút.

- Mẫu sữa sau khi về tới phòng thí nghiệm được trộn đều, sau đó được chia ra 2 ống; một ống dùng để đo ngay nồng độ VitA bằng iCheck (**mẫu tươi**) ống còn lại được bảo quản trong tủ đá -20°C sau 2 tuần mẫu được chuyển về viện Dinh dưỡng và bảo quản ở -80°C. Sau 5 tháng, 33 mẫu (**đông đá**) được đo Vit.A bằng HPLC và iCheck.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

Để đánh giá ảnh hưởng của quá trình bảo quản mẫu lên hàm lượng Vit.A trong sữa mẹ: Định lượng Vit.A trong mẫu sữa ngay tại thực địa (**mẫu tươi**) và sau 5 tháng mẫu được bảo quản ở -80°C (**mẫu đông đá**) cũng được định lượng lại nồng độ Vit.A trên cùng 1 phương pháp là iCheck FLUORO.

- **Định lượng VitA trong sữa bằng thiết bị iCheck FLUORO** theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Ngay khi trộn đều để đồng nhất chất béo trong mẫu sữa, 0,5 ml sữa (sữa tươi và mẫu sữa sau khi rã đông) được tiêm vào lọ IEX MILA, lắc mạnh trong khoảng 30 giây sau đó để yên 5 phút (lọ được lau sạch trước khi cho vào đo), đưa lọ IEX MILA vào thiết bị iCheck để đo lường. Hàng ngày ống blank được đo đảm bảo kết quả <20 µg Vit.A/L. Các ống gồm: calibrator và control ở 3 nồng độ thấp, trung bình và cao được đo hàng ngày, nồng độ đảm bảo đạt trong phạm vi tuyến tính.

- **Định lượng VitA trong sữa bằng phương pháp HPLC:** VitA trong mẫu sữa (sữa sau khi rã đông) được định lượng trên hệ thống HPLC (Alliance: Water 2695; Water 2475; Water: 2996). Các mẫu sữa sau khi già đông được trộn đều trước khi hút 1ml, tiến hành phản ứng xà phòng hóa trong môi trường kiềm (KOH) trong 1 giờ ở 80°C. Cho axit acetic để trung hòa KOH, thêm

dung dịch nội chuẩn (retinyl acetate trong ethanol) và ete dầu vào để tách mẫu. Thôi khô mẫu bằng khí nitơ sau đó tái tạo mẫu bởi methanol. Sử dụng cột C18 để phân tích mẫu. Kết quả được đọc bởi phổ huỳnh quang và phổ UV.

❖ Việc định lượng VitA trong sữa mẹ được đo 2 lần ở mỗi lần thực hiện, trên cả 2

phương pháp. Sử dụng kết quả trung bình của 2 lần đo để tính toán kết quả.

2.3. Xử lý số liệu

Phần mềm SPSS 15.0 được dùng để phân tích. Hệ số tương quan hạng Pearson và biểu đồ Bland-Altman được dùng để đánh giá 2 phương pháp.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Kết quả so sánh nồng độ VitA trong sữa mẹ được phân tích bằng HPLC với kết quả đo nhanh trên thiết bị iCheck.

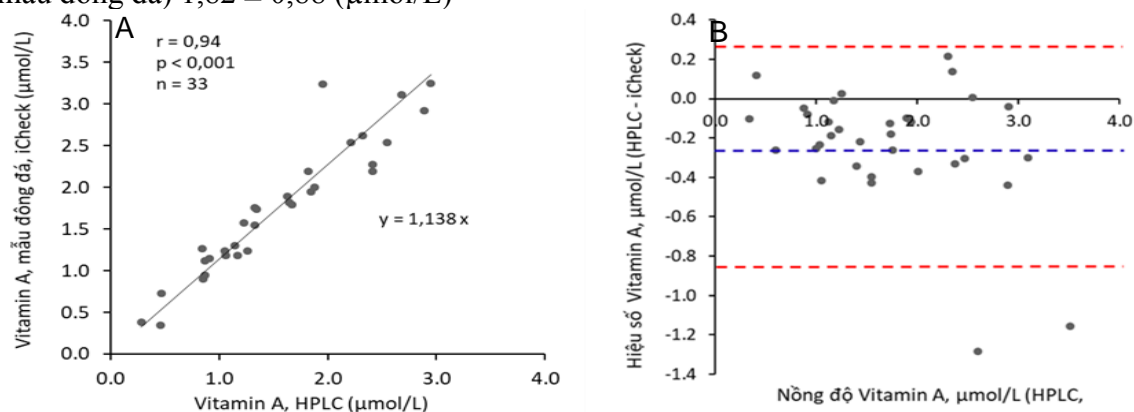
Bảng 1: Trung bình nồng độ Vitamin A đo ở các thời điểm khác nhau

	Nồng độ Vitamin A trong sữa mẹ ($\mu\text{mol/L}$)		
	Mẫu tươi đo ở iCheck	Mẫu đông đá đo ở iCheck	Mẫu đông đá đo ở HPLC
TB \pm SD	1,86 \pm 0,88	1,82 \pm 0,88	1,58 \pm 0,76
Max	3,70	4,09	2,95
Min	0,33	0,35	0,28

Trung bình hiệu số ($\mu\text{mol/L}$) TB \pm SD

iCheck mẫu tươi – iCheck đông đá	0,04 \pm 0,28
HPLC - iCheck mẫu đông đá	-0,23 \pm 0,30

Kết quả bảng 1 cho thấy, trung bình nồng độ Vit.A đo bằng phương pháp HPLC là 1,58 \pm 0,76 ($\mu\text{mol/L}$) thấp hơn so với trung bình nồng độ Vit.A tương ứng đo bởi thiết bị iCheck trên cả mẫu tươi và mẫu sau khi đã bảo quản âm sâu. Kết quả trung bình nồng độ Vit.A ở mẫu tươi là: 1,86 \pm 0,88 ($\mu\text{mol/L}$) cao hơn so với trung bình nồng độ Vit.A ở mẫu đã đông đá (mẫu đông đá) 1,82 \pm 0,88 ($\mu\text{mol/L}$)

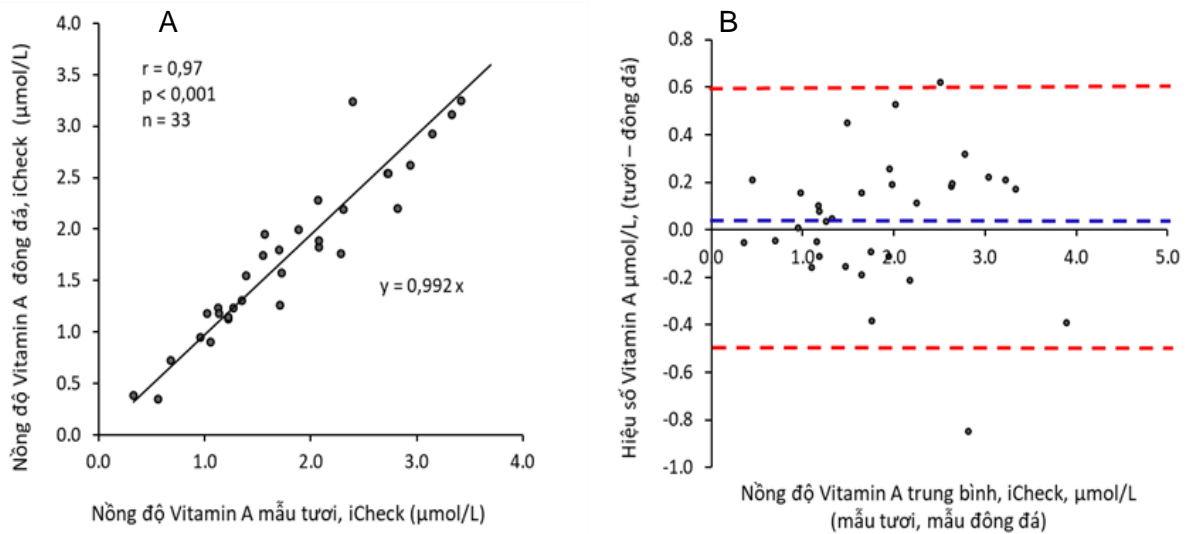


Hình 1: (A) Tương quan tuyến tính giữa hàm lượng Vit.A trong sữa mẹ đo bằng iCheck (mẫu đông đá) với HPLC. (B) Biểu đồ Bland-Altman so sánh sự khác biệt hàm lượng Vit.A trong sữa mẹ đo bằng iCheck mẫu đông đá với HPLC

Kết quả cho thấy, nồng độ Vit.A trong mẫu sữa đông đá được đo bằng iCheck (mẫu đông đá) tương quan chặt với hàm lượng Vit.A đo bằng HPLC với $r = 0,94$; $p < 0,001$ (biểu đồ A, hình 1).

Sự chênh lệch nồng độ Vit.A sữa mẹ đo bằng HPLC và iCheck được biểu diễn bằng

biểu đồ Bland-Altman. Đường kẻ chấm ở giữa trong hình 1B, chỉ ra trung bình sự khác biệt giữa nồng độ Vit.A đo bằng HPLC và iCheck, hai đường kẻ chấm phía trên và phía dưới chỉ ra sự khác biệt trung bình $\pm 2SD$ là $(-0,23 \pm 0,6 \mu\text{mol/L})$.



Hình 2: (A) Tương quan tuyến tính hàm lượng Vit.A trong sữa đo bằng iCheck giữa mẫu tươi với mẫu đông đá. (B) Biểu đồ Bland-Altman so sánh sự khác biệt hàm lượng Vit.A trong sữa đo bằng iCheck giữa mẫu tươi với mẫu đông đá

Hình 2 (A) cho thấy, kết quả nồng độ Vit.A sữa mẹ được đo bằng iCheck giữa mẫu tươi với mẫu đã đông đá có tương quan chặt chẽ với $r=0,97$; $p < 0,001$.

Sự chênh lệch nồng độ Vit.A sữa mẹ giữa **mẫu tươi** và **mẫu đông đá** được đo bởi iCheck được biểu diễn bằng biểu đồ Bland-Altman. Đường kẻ chấm ở giữa trong biểu đồ B hình 2, chỉ ra trung bình sự khác biệt giữa nồng độ VitA trong **mẫu tươi** so với **mẫu đông đá**, hai đường kẻ chấm phía trên và phía dưới của biểu đồ chỉ ra sự khác biệt trung bình $\pm 2SD$ ($0,04 \pm 0,56 \mu\text{mol/L}$).

Độ chính xác và độ xác thực của phương pháp iCheck được đánh giá thông qua việc thống kê kết quả đo nồng độ control ở 3 mức trong 33 ngày. Kết quả được trình bày trong bảng 1 cho thấy, phương pháp đo này tối ưu cho những mẫu có nồng độ Vit.A trong khoảng từ $1,5 \mu\text{mol/L}$ đến $3 \mu\text{mol/L}$ với hệ số biến thiên $< 10\%$ và sai số đạt khoảng 5 đến dưới 5%. Với nồng độ Vit.A thấp dưới $0,9 \mu\text{mol/L}$ cần phải cân nhắc đo phương pháp khác.

Bảng 2. Đánh giá độ chính xác và độ xác thực của phương pháp đo iCheck

Lần thực hiện	Chất kiểm tra ($\mu\text{mol/L}$)		
	Mức thấp	Trung bình	Mức cao
1	0,74	1,52	2,87
2	0,78	1,46	2,92
...
33	0,71	1,48	2,88
Trung bình	0,74	1,49	2,90
SD	0,09	0,11	0,11
CV%	12,2	7,4	3,8
Nồng độ chuẩn $\pm 10\%$	0,84 $\pm 0,084$	1,57 $\pm 0,157$	2,83 $\pm 0,283$
Sai số (%)	11,9	5,1	2,5

IV. BÀN LUẬN

iCheck FLUORO là một thiết bị huỳnh quang xách tay do hãng Bioanalyt GmbH, Teltow sản xuất tại Đức. Đây là một thiết bị nhỏ gọn, xác định nhanh thuận tiện, nồng độ Vit.A trong sữa mẹ ngay tại thực địa. Dựa vào nồng độ của 3 chất kiểm tra, nghiên cứu đã đánh giá độ chính xác và độ xác thực của phương pháp đo trên thiết bị iCheck. Kết quả cho thấy, phương pháp đo này tối ưu cho những mẫu có nồng độ Vit.A trong khoảng từ 1,5 $\mu\text{mol/L}$ đến 3 $\mu\text{mol/L}$ với hệ số biến thiên < 10% và sai số chỉ 5 đến dưới 5%. Tuy nhiên với nồng độ Vit.A thấp dưới 0,9 $\mu\text{mol/L}$ hệ số biến thiên và sai số khoảng 10% do vậy cần cân nhắc so với các phương pháp khác.

Đánh giá công tác bảo quản mẫu, kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ Vit.A sữa mẹ được đo bằng iCheck giữa mẫu tươi với mẫu đông đá có tương quan chặt chẽ với $r=0,97$; $p < 0,001$. Trung bình chênh lệch nồng độ

Vit.A trong sữa mẹ được đo ngay (mẫu tươi) với nồng độ Vit.A đo lại trong mẫu bảo quản (iCheck **mẫu tươi** – iCheck **đông đá**) là: $0,04 \pm 0,28 \mu\text{mol/L}$. Như vậy kết quả định lượng bởi HPLC và iCheck trên mẫu đông đá hoàn toàn có thể tin cậy được.

Kết quả đánh giá phương pháp định lượng Vit.A bằng iCheck cho thấy, nồng độ Vit.A đo bởi iCheck có mối tương quan chặt với nồng độ Vit.A đo bằng phương pháp HPLC với hệ số tương quan $r=0,94$. Kết quả này phù hợp với công bố của Schweigert và cs thực hiện năm 2011 trên 16 mẫu sữa mẹ và 21 mẫu sữa bò cho thấy, nồng độ VitA đo bằng hai phương pháp HPLC và iCheck có mối tương quan chặt với $r > 0,96$ [4], và theo kết quả của Engle-Stone và cs (2013) trên 154 mẫu sữa mẹ, kết quả cho thấy nồng độ VitA đo bằng hai phương pháp HPLC và iCheck có mối tương quan chặt $r=0,85$ [5].

Quá trình định lượng Vit.A bằng HPLC ngoài việc đòi hỏi trang thiết bị của phòng thí

nghiệm phức tạp, kỹ thuật viên có trình độ cao, nhiều thời gian thực hiện, phương pháp này đòi hỏi quá trình bảo quản mẫu sữa mẹ từ khi thu thập tới quá trình xử lý và phân tích mẫu, phải đảm bảo đúng quy trình và tránh ánh sáng để hạn chế quá trình mất Vit.A. Mặc dù rất phức tạp nhưng cho tới nay phương pháp HPLC vẫn được đánh giá là phương pháp tiêu chuẩn. Kết quả nghiên cứu cho thấy, trung bình nồng độ Vit.A được đo bằng phương pháp iCheck có phần cao hơn nồng độ VitA đo bằng HPLC với trung bình hiệu số (HPLC - iCheck mẫu đông đá) là: $-0,23 \pm 0,30 \mu\text{mol/L}$. Cho tới nay chưa có chương trình ngoại kiểm tra chất lượng để đánh giá hiệu suất cho xét nghiệm Vit.A trên cả hai phương pháp. Do vậy nhóm tác giả đưa ra giả thuyết, có thể có yếu tố nhiễu nào đó đã gây tăng nhẹ kết quả khi đo ở phương pháp iCheck.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ Vit.A trong sữa mẹ được đo trên thiết bị iCheck FLUORO có kết quả tương đương với phương pháp HPLC và có thể

được sử dụng thuận tiện tại nhà cho các bà mẹ hoặc trong các nghiên cứu tại thực địa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **World Health Organization** (2009), “Global prevalence of vitamin A deficiency in populations at risk 1995-2005. WHO Global Database on Vitamin A Deficiency”. Geneva, Switzerland; World Health Organization.
2. **Viện Dinh dưỡng** (2015), “Số liệu điều tra về vi chất dinh dưỡng năm 2014-2015” , trang Web: viendinhduong.vn
3. **Zahar M, Smith DE** (1990), “Vitamin A quantification in fluid dairy products: rapid method for vitamin A extraction for high-performance liquid chromatography”, *Journal of dairy science*, 73: 3402-3407.
4. **Schweigert FJ, Frey SK, Mothes R, Dary O, Juarez P, Lascano V** (2011), “A new test kit's potential for the rapid analysis of vitamin A in human and cow milk”. *Sight and Life Magazine*; 25: 18–22.
5. **Engle-Stone R, Haskell MJ, La Frano MR, Ndjebayi AO, Nankap M and Brown KH** (2014), “Comparison of breast milk vitamin A concentration measured in fresh milk by a rapid field assay (the iCheck FLUORO) with standard measurement of stored milk by HPLC”.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ KHÁNG THỂ SARS-COV-2 SAU KHI TIÊM VẮC XIN COVID-19 THEO CÁC MÔ HÌNH TIÊM CHỦNG KHÁC NHAU TẠI HÀ NỘI

**Triệu Thùy Anh¹, Bùi Văn Long¹, Đoàn Thị Mai¹, Vũ Anh Tuấn¹,
Bùi Văn Thương¹, Phạm Văn Trân², Nguyễn Thị Kim Len¹,
Trịnh Thị Quế¹, Nguyễn Anh Trí¹**

TÓM TẮT

Mục tiêu của đề tài là xác định nồng độ kháng thể kháng virus SARS-COV-2 sau khi tiêm vaccin theo các mô hình, từ đó đưa ra khuyến cáo tần suất tiêm phòng đối với virus SARS-CoV-2. **Đối tượng:** gồm 472 người có độ tuổi từ 12 trở lên đã tiêm phòng 3 liều vaccin chống CoVid. **Phương pháp nghiên cứu:** Các đối tượng được tiêm các loại vaccine là AZD1222 (AstraZeneca), BNT162b2 (Pfizer) và mRNA-1273 (Moderna). Hai liều đầu được tiêm bằng vaccin AZD1222 và các liều sau được tiêm 1 trong 3 loại vaccin AZD1222, BNT162b2 hoặc mRNA-1273. Lấy máu tĩnh mạch định lượng nồng độ kháng thể kháng virus SARS-CoV-2 theo phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang trên máy Cobas 8000 sử dụng kit tương ứng của hãng Roche. **Kết quả:** Nồng độ kháng thể ở nữ giới cao hơn nam giới ($p = 0,048$). Có sự khác biệt về nồng độ kháng thể khi tiêm các loại vaccin khác nhau với $p < 0,001$, cao nhất ở nhóm tiêm 2 liều AZD1222 + mRNA-1273, thấp nhất ở nhóm không tiêm liều bổ sung. Có sự khác biệt về nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S ở nhóm có nhiễm và không

nhiễm virus, nồng độ kháng thể ở nhóm có nhiễm CoVid 19 vẫn còn duy trì ở mức cao sau 300 ngày còn nồng độ ở nhóm không nhiễm Covid 19 giảm rõ rệt ngay sau 150 ngày. **Kết luận:** Sau tiêm vaccin, nồng độ kháng thể ở nữ cao hơn ở nam, các loại vaccin khác nhau tạo đáp ứng miễn dịch khác nhau trong đó cao nhất ở nhóm tiêm 2 liều AZD1222 + mRNA-1273, và thấp nhất ở nhóm tiêm 3 liều AZD1222. Các mô hình tiêm chủng đều có nồng độ kháng thể kháng SARSCOV 2 S giảm dần theo thời gian sau 100-150 ngày.

Từ khóa: SARS- COV-2, kháng thể, vaccin.

SUMMARY

STUDY ON SARS-COV-2 ANTIBODY LEVELS AFTER VACCINATION AGAINST COVID-19 ACCORDING TO DIFFERENT VACCINATION MODELS IN HANOI

The objective of the study is to determine the concentration of antibodies against SARS-COV-2 virus after vaccination, thereby making recommendations on vaccination frequency for SARS-COV-2 virus. **Subjects:** 472 people 12 years of age and older who have been vaccinated with 3 doses of anti-CoVid vaccine. **Methods:** Subjects were vaccinated with the vaccines AZD1222 (AstraZeneca), BNT162b2 (Pfizer) and mRNA-1273 (Moderna). The first two doses were administered with the AZD1222 vaccine

¹Bệnh viện đa khoa MEDLATEC

²Bệnh viện Quân y 103 - Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Trịnh Thị Quế

Email: que.trinhthi@medlatec.com

Ngày nhận bài: 15.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 20.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

and the following doses were administered with one of the three vaccines AZD1222, BNT162b2, or mRNA-1273. Quantification of anti-SARS-COV-2 antibody levels in venous blood by electroluminescence chemiluminescence method on Cobas 8000 machine using the corresponding Roche kit. **Results:** Antibody concentrations were higher in women than in men ($p = 0.048$). There was a difference in antibody levels when injected with different vaccines with $p < 0.001$, the highest in the group receiving 2 doses of AZD1222 + mRNA-1273, the lowest in the group not receiving additional doses. There was a difference in the concentration of SARS-COV-2 S antibodies in the infected and uninfected groups, the antibody levels in the group infected with CoVid 19 remained high after 300 days, while the concentration in the group without CoVid 19 infection remained high after 300 days. markedly decreased after 150 days. **Conclusion:** After vaccination, antibody levels in women were higher than in men. Different vaccines produced different immune responses, in which the highest was in the group receiving 2 doses of AZD1222 + mRNA-1273 and the lowest in the group receiving 3 doses of AZD1222. All vaccination models had anti-SARSCOV 2S antibody levels that gradually decreased over time after 100-150 days.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tính đến ngày 05/09/2022, COVID-19 đã lây lan đến hơn 200 quốc gia và vùng lãnh thổ, lây nhiễm cho 603 triệu người với 6484136 trường hợp tử vong trên toàn thế giới, tỷ lệ tử vong chiếm 1.07% [7]. Theo số liệu thống kê của Bộ Y tế Việt Nam, số ca nhiễm COVID-19 trong cả nước tính tới cùng ngày là 11439613 người, tử vong 43129 người, tỷ lệ tử vong khoảng 0,38% [1]. Theo một nghiên cứu thuần tập ở Israel

năm 2021 đã chỉ ra, hiệu quả của miễn dịch tạo ra do vaccine giúp giảm 94% nguy cơ nhập viện; 94% nguy cơ biến chứng nặng; và 94% nguy cơ tử vong; tương đương với hiệu quả bảo vệ của miễn dịch tự nhiên: giảm 95% nguy cơ tái nhiễm; 94% nguy cơ nhập viện; và 96% nguy cơ biến chứng nặng [3]. Đến thời điểm hiện nay có nhiều loại vaccine phòng COVID-19 được đưa vào sử dụng, trong đó có 06 loại được Bộ Y tế cấp phép tại Việt Nam, bao gồm: (1) AZD1222 (Oxford/AstraZeneca) có bản chất là vaccine chứa vector DNA adenovirus tinh tinh tái tổ hợp; (2) Gam-COVID-Vac (SPUTNIK V) bản chất là vaccine chứa vector adenovirus loại rAd26 và rAd5; (3) BBIBP-CorV (VeroCell) bản chất là vaccine bất hoạt; (4) BNT162b2 (Comirnaty) và (5) mRNA-1273 (Moderna), cùng có bản chất là vaccine mRNA. Các vaccine có nguồn gốc, bản chất và cơ chế tác động khác nhau nên tạo ra nồng độ kháng thể khác nhau sau khi tiêm phòng và từ đó khả năng bảo vệ của mỗi vaccine cũng khác nhau. Do vậy chúng tôi tiến hành đề tài với mục tiêu xác định nồng độ kháng thể kháng virus SARS-COV-2 sau khi tiêm vaccin theo các mô hình, từ đó đưa ra khuyến cáo tần suất tiêm phòng đối với virus SARS-COV-2.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu gồm 472 người có độ tuổi từ 12 trở lên đã tiêm phòng 3 liều vaccin chống CoVid 19 ; 328 người nhiễm CoVid-19. Các loại vaccin đã được sử dụng để tiêm chủng bao gồm: AZD1222 (AstraZeneca), BNT162b2 (Pfizer) và mRNA-1273 (Moderna).

Mô hình tiêm chủng chúng tôi đưa ra nghiên cứu là hai liều đầu được tiêm bằng vaccin AZD1222 và các liều sau được tiêm 1

trong 3 loại vaccin AZD1222, BNT162b2 hoặc mRNA-1273. Thời gian nghiên cứu từ tháng 9 năm 2021 đến tháng 9 năm 2022.

- Địa điểm nghiên cứu: thu thập mẫu của người dân tại 30 quận, huyện trên địa bàn thành phố Hà Nội.

- Khám lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng, chọn đối tượng tham gia nghiên cứu tại Bệnh viện đa khoa Medlatec hoặc trong hệ

thống y tế của Medlatec Group trên địa bàn thành phố Hà Nội.

- Lấy 2ml máu chống đông bằng Heparin, xét nghiệm trong vòng 1 giờ sau khi nhận mẫu. Định lượng nồng độ kháng thể SARS-COV-2 trên máy Cobas 8000 (Roche) theo nguyên lý hóa miễn dịch điện hóa phát quang.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm đối tượng tham gia nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm nhóm đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm của đối tượng tham gia nghiên cứu	
Tuổi (năm)	46,14 ± 15,96
Giới (Nam/ nữ)	200/272
Chưa nhiễm Covid 19	76
Nhiễm sau mũi tiêm cuối	127
Nhiễm trước mũi tiêm cuối	269

Nhận xét: Tuổi trung bình tham gia nghiên cứu là 46,14 ± 15,96 tuổi. Tỷ lệ chưa nhiễm covid trong nhóm đối tượng tham gia nghiên cứu thấp: 76/472 (16%).

Bảng 3.2: Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	n	Mean U/mL	SD	p
Tổng	472	11205,89	11472,82	0,153
< 18 tuổi	6	7185,00	7216,92	
18 – 60 tuổi	351	10569,54	9370,16	
> 60 tuổi	115	13357,93	16285,16	

Nhận xét: Không có sự khác biệt nồng độ kháng thể ở các nhóm tuổi khác nhau

Bảng 3.3: Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 theo giới

Giới	n	Mean U/mL	SD	p
Tổng	472	11205,89	11472,82	0,048
Nam	200	9993,58	9860,59	
Nữ	272	12097,29	12469,38	

Nhận xét: Nồng độ kháng thể ở nữ giới cao hơn nam giới, với p = 0,048

3.2. Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 theo từng mô hình nghiên cứu

Bảng 3.4. Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S theo liều tiêm thứ 3

Mô hình tiêm	n	Mean U/mL	SD	Median
Tổng	472	11205,89	11472,82	8885,5

Không tiêm liều 3	76	7376,40	6734,31	5565
3 liều AZD1222	157	9585,80	9602,81	7169
2 liều AZD1222 + BNT162b2	213	12660,78	10494,92	10418
2 liều AZD1222+mRNA-1273	26	20263,69	25882,77	10660
p		<0,001		

Nhận xét: Có sự khác biệt về nồng độ kháng thể khi tiêm các loại vaccin khác nhau với $p < 0,001$, cao nhất ở nhóm tiêm 2 liều AZD1222 + mRNA-1273, thấp nhất ở nhóm không tiêm liều bổ sung.

3.3. Đánh giá nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S ở nhóm có nhiễm bệnh và không nhiễm bệnh

Bảng 3.5. So sánh nồng độ kháng thể ở nhóm có nhiễm và không nhiễm virus

Mô hình tiêm	Kháng thể S nhóm nhiễm				Kháng thể S nhóm không nhiễm				P
	n1	mean	SD	Median	n2	mean	SD	Median	
Tổng	328	12461,03	11147,72	9958	144	8346,96	11726,82	3856	<0,001
Không tiêm liều 3	53	8889,62	7209,19	7187	23	3889,42	3678,79	2746	<0,001
3 liều AZD1222	118	10542,79	9295,19	8660	39	6690,31	10054,42	3133	0,029
2 liều AZD1222 + BNT162b2	147	14664,7	10173,88	12178	66	8197,5	9870,83	4477	<0,001
2 liều AZD1222 + mRNA-1273	10	21630,80	33413,79	11151,5	16	19409,25	21085,93	10440	0,836

Nhận xét: có sự khác biệt về nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S ở nhóm có nhiễm và không nhiễm virus ở các mô hình: không tiêm liều 3 với $p < 0,001$; 3 liều AZD1222 với $p = 0,04$; tiêm 2 liều AZD1222 và 1 liều BNT162b2 với $p < 0,001$ nhưng không có sự khác biệt ở nhóm có nhiễm và không nhiễm ở mô hình tiêm 2 liều AZD1222 và 1 liều bổ sung mRNA-1273.

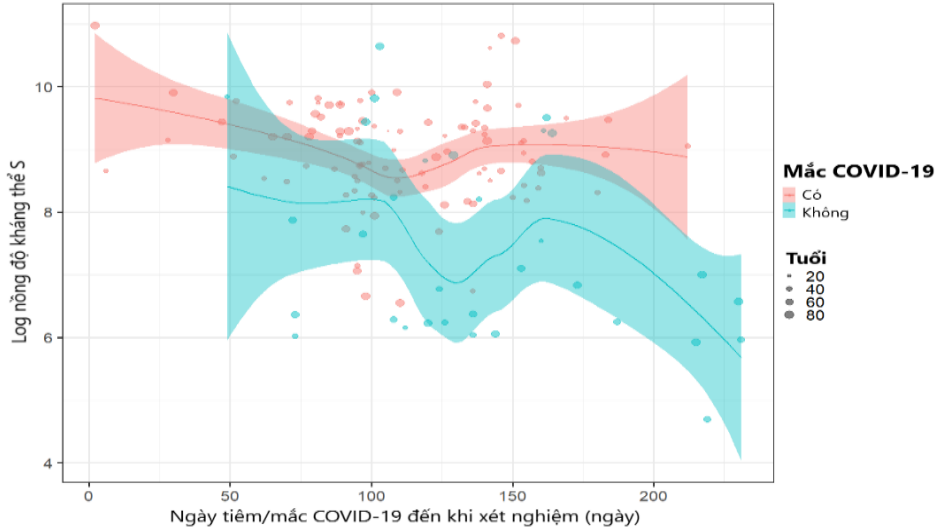
3.4. Đánh giá nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S ở thời điểm trước hay sau tiêm liều cuối

Bảng 3.6. Nồng độ kháng thể theo thời điểm nhiễm virus.

Thời điểm tiêm	n	(Mean \pm SD) U/mL	p
Không nhiễm bệnh	76	10087,06 \pm 14587,10	0,444
Sau tiêm liều cuối	127	20455,47 \pm 24003,24	
Trước tiêm liều cuối	269	18978,16 \pm 20557,27	
p		<0,001	

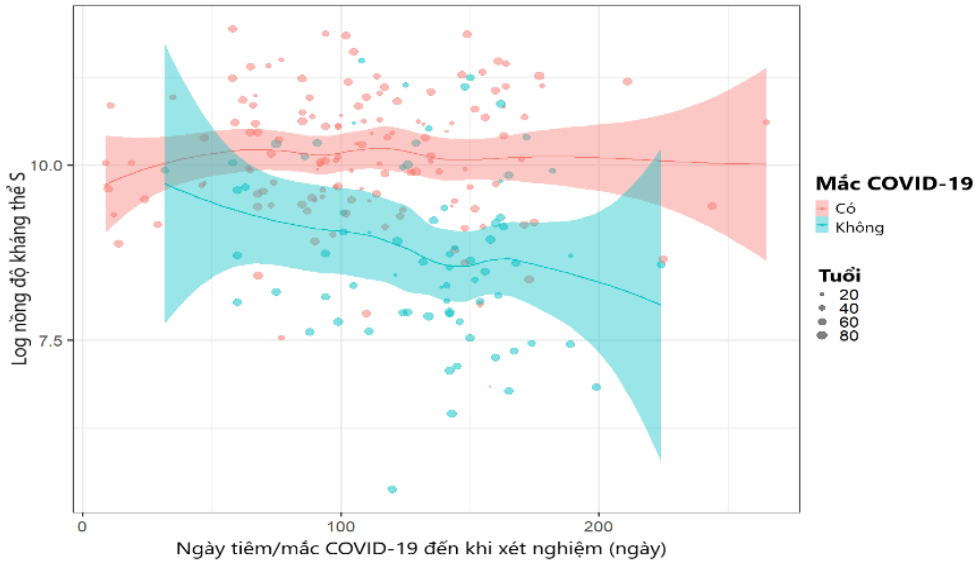
Nhận xét: không có sự khác biệt giữa nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S ở thời điểm nhiễm virus trước khi tiêm liều cuối hay sau khi tiêm liều cuối với $p=0,444$.

3.5. Đánh giá nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S theo thời gian tiêm phòng.



Hình 1: Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S tính từ thời điểm tiêm liều cuối cùng ở nhóm có nhiễm và không nhiễm CoVid 19 theo mô hình tiêm 3 liều AZD1222.

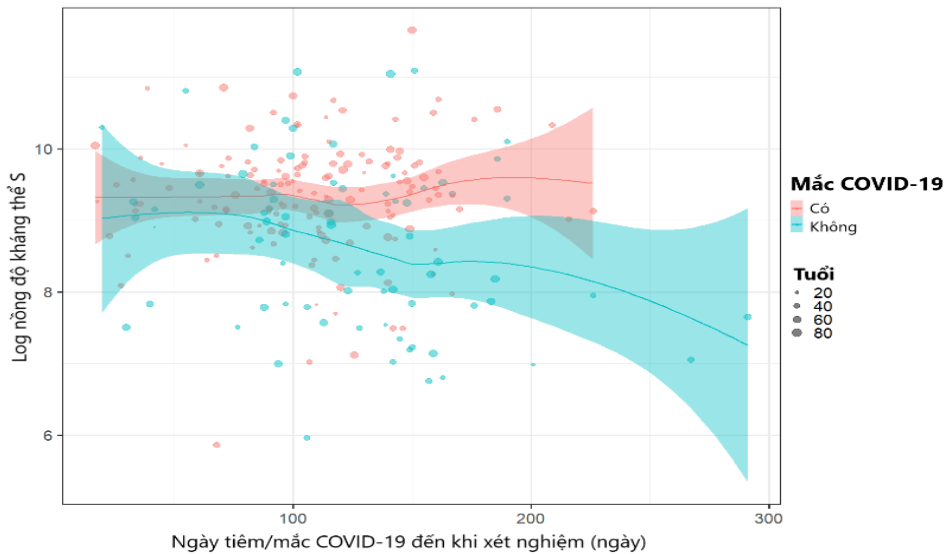
Nhận xét: Sau tiêm 3 liều vaccin AZD1222 thì nồng độ kháng thể ở nhóm có nhiễm CoVid 19 vẫn còn duy trì ở mức cao sau 300 ngày còn nồng độ ở nhóm không nhiễm CoVid 19 bắt đầu giảm sau 150 ngày tiêm liều cuối và đang tiếp tục giảm sau 300 ngày.



Hình 2: Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S tính từ thời điểm tiêm liều cuối cùng ở nhóm có nhiễm và không nhiễm CoVid 19 theo mô hình tiêm 2 liều AZD1222 và 1 liều BNT162b2.

Nhận xét: sau tiêm 2 liều vaccin AZD1222 và 1 liều BNT162b2 thì nồng độ kháng thể ở nhóm có nhiễm CoVid 19 vẫn còn duy trì ở mức cao sau 300 ngày còn nồng độ ở nhóm

không nhiễm CoVid 19 bắt đầu giảm sau 100 ngày tiêm liều cuối và đang tiếp tục giảm cho đến ngày làm xét nghiệm.



Hình 3: Nồng độ kháng thể SARS-COV-2 S tính từ thời điểm tiêm liều cuối cùng ở nhóm có nhiễm và không nhiễm CoVid 19 theo mô hình tiêm 2 liều AZD1222 và 1 liều mRNA-1273.

Nhận xét: sau tiêm 2 liều vaccin AZD1222 và 1 liều mRNA-1273 thì nồng độ kháng thể ở nhóm có nhiễm CoVid 19 vẫn còn duy trì ở mức cao sau hơn 200 ngày còn nồng độ ở nhóm không nhiễm CoVid 19 bắt đầu giảm sau 100 ngày tiêm liều cuối và đang tiếp tục giảm cho đến ngày làm xét nghiệm. Như vậy kháng thể tạo ra sau nhiễm CoVid 19 đạt được mức nồng độ cao hơn và duy trì kéo dài hơn so với kháng thể tạo ra do tiêm phòng.

IV. BÀN LUẬN

Đã có nhiều nghiên cứu chỉ ra, có sự khác biệt về khả năng sinh kháng thể ở những độ tuổi khác nhau. Nhưng cho đến nay, khi đánh giá về khả năng tạo kháng thể ở người cao tuổi so với nhóm người trẻ tuổi, các nghiên cứu vẫn chưa tìm được sự đồng thuận. Nghiên cứu của chúng tôi với các đối tượng đều đã được tiêm vaccin COVID-19 và có

hoặc không có tiền sử nhiễm COVID-19, nồng độ kháng thể cao nhất tập trung ở nhóm ≥ 60 tuổi tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p=0,153$, kết quả này tương đồng với tác giả A.Bates (2022) nghiên cứu trên nhóm đối tượng nhiễm COVID-19 và được tiêm bổ sung 2 liều vaccin [2].

Hệ miễn dịch đóng vai trò chủ chốt trong việc chống lại các tác nhân nhiễm trùng. Tuy nhiên, phản ứng chống nhiễm trùng lại không giống nhau giữa hai giới. Đã có nhiều bằng chứng chỉ ra, bộ gen có tác động nhất định vào cơ chế hoạt động của các thành phần trong hệ miễn dịch. Cụ thể, nhiễm sắc thể (NST) X chứa các gen mã hóa toll-like receptor 7 (TLR7), một thụ thể biểu hiện trên tế bào đuôi gai và tế bào B, có chức năng nhận biết tác nhân nhiễm trùng do virus (bao gồm cả COVID-19) và kích hoạt phản ứng

với interferon loại I (IFN) [5]. Do vậy, nữ giới với 2 NST X có mức độ biểu hiện TLR7 cao hơn nam giới (chỉ có 1 NST), làm tăng cường các phản ứng miễn dịch cơ thể chống lại virus SARS-CoV-2. Nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra có sự khác biệt về nồng độ kháng thể SARS COV 2S giữa nam và nữ và nồng độ kháng thể sau tiêm phòng ở nữ tạo ra cao hơn ở nam giới. (bảng 3.3).

Ở những giai đoạn cao điểm của dịch, do sự phân bố và nguồn cung cấp các loại vaccin không đều, nhiều mô hình tiêm chủng vaccin khác nhau đã được đưa ra và cũng có một số nghiên cứu đánh giá so sánh hiệu quả của những mô hình này. Trong phân tích thống kê của Wing Ying Au cho thấy, mô hình 2 liều cơ bản vaccin vector + 1 liều tăng cường mRNA cho hiệu quả phòng bệnh 88% [8]. Tiêm liều tăng cường bằng vaccin khác loại tạo được nồng độ kháng thể cao hơn so với tiêm cùng loại, mở ra triển vọng cho việc kết hợp các nhóm vaccin khác nhau trong các kế hoạch tiêm chủng. Khả năng sinh miễn dịch của vaccin nhóm mRNA cao hơn so với các nhóm vaccin còn lại. Khác với vaccin sống giảm độc lực và vaccin virus bất hoạt, vaccin mRNA chỉ mã hoá chính xác một kháng nguyên đích duy nhất và do vậy kích hoạt đáp ứng miễn dịch trực tiếp với kháng nguyên đó, thông qua cả cơ chế thể dịch và tế bào. So với vaccin bản chất DNA, mRNA hiệu quả hơn và an toàn hơn nhờ quá trình biểu hiện gen mã hoá không yêu cầu sự xâm nhập vào nhân tế bào, do vậy khả năng gây biến đổi lên hệ gen gần như không có. Cùng thuộc nhóm vaccin mRNA, mRNA-1273 kích hoạt sản sinh kháng thể với vùng RBD, NTD, phản ứng thực bào của bạch cầu và

hoạt động của các tế bào NK mạnh mẽ hơn so với BNT162b2, do đó nồng độ kháng thể ở đối tượng được tiêm vaccin mRNA-1273 cao hơn [4].

Tiêm vaccin và nhiễm bệnh tự nhiên đều có thể tạo ra miễn dịch chống lại SARS-CoV-2. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ kháng thể của nhóm bị nhiễm bệnh trước liều cuối và nhóm nhiễm bệnh sau khi đã tiêm liều cuối cùng; kết quả này đồng thuận với nghiên cứu của Timothy A. Bates và cộng sự trên 104 đối tượng gồm 3 nhóm, nhóm 1: 31 người có tình trạng nhiễm bệnh sau khi hoàn thành đủ liều tiêm phòng (“breakthrough infection”); nhóm 2: 31 người được tiêm phòng đủ hai liều sau khi đã khỏi COVID-19 và nhóm 3: 42 người đã tiêm phòng và chưa từng có tiền sử nhiễm bệnh; cho thấy nồng độ kháng thể trung hoà ở nhóm 1 và 2 cao hơn hẳn nhóm 3, đồng thời không có sự khác biệt giữa nhóm 1 và 2 [2]. Như vậy, nhiễm COVID-19 trước hoặc sau khi tiêm phòng đều giúp củng cố miễn dịch so với việc chỉ tiêm hai liều cơ bản. Hình 1,2,3 cho thấy nồng độ kháng thể đạt được sau tiêm các loại vaccin ở cả 3 mô hình đều duy trì tốt hơn ở nhóm có nhiễm CoVid 19 so với nhóm không nhiễm CoVid 19. Nồng độ kháng thể S đều có xu hướng giảm dần theo thời gian ở cả 3 ở đối tượng tiêm đủ 3 liều theo 3 mô hình nhưng không có nhiễm CoVid 19. Mô hình tiêm 3 liều vaccin AZD1222 có thời gian bắt đầu giảm sau 150 ngày, mô hình tiêm 2 liều vaccin AZD1222 và 1 liều vaccin BNT162b2 hoặc 1 liều vaccin mRNA-1273 có nồng độ kháng thể bắt đầu giảm sau 100 ngày. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Joanna

[6].Nồng độ kháng thể S giảm dần theo thời gian vì vậy việc tiêm phòng là rất cần thiết, bất kể tiền sử đã từng mắc bệnh hay chưa. Vaccin cũng giúp giảm tỉ lệ biến chứng nặng và tử vong, do đó tiêm phòng trước khi nhiễm bệnh tự nhiên sẽ an toàn hơn.

V. KẾT LUẬN

- Sau tiêm vaccin phòng CoVid 19 thì kháng thể được tạo ra ở nữ cao hơn ở nam với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $p < 0,05$.

- Các loại vaccin khác nhau tạo đáp ứng miễn dịch khác nhau trong đó cao nhất ở nhóm tiêm 2 liều AZD1222 + mRNA-1273 và thấp nhất ở nhóm tiêm 3 liều AZD1222.

- Các mô hình tiêm chủng đều có nồng độ kháng thể kháng SARSCOV 2 S giảm dần theo thời gian sau 100-150 ngày.

Khuyến nghị: Do nồng độ kháng thể sau tiêm giảm dần theo thời gian nên tiêm phòng nhắc lại liều bổ sung sau 3-5 tháng tính từ lúc tiêm liều cuối.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Bộ Y tế.** Trang tin về dịch bệnh viêm đường hô hấp cấp COVID-19 2022. Bộ Y tế. <https://nCoV.moh.gov.vn/>. Công bố ngày 5 tháng 9, 2022. Truy cập ngày 10 tháng 9, 2022.
- Bates TA, McBride SK, Leier HC, et al.** Vaccination before or after SARS-CoV-2 infection leads to robust humoral response and antibodies that effectively neutralize variants. *Science Immunology*. 2022;7(68):eabn8014. doi:10.1126/sciimmunol.abn8014
- Goldberg Y, Mandel M, Woodbridge Y, et al.** Similarity of Protection Conferred by Previous SARS-CoV-2 Infection and by BNT162b2 Vaccine: A 3-Month Nationwide Experience From Israel. *Am J Epidemiol*. 2022;191(8):1420-1428. doi: 10.1093/aje/kwac060.
- Kaplonek P, Cizmeci D, Fischinger S, et al.** mRNA-1273 and BNT162b2 COVID-19 vaccines elicit antibodies with differences in Fc-mediated effector functions. *Sci Transl Med*. 2022 May 18;14(645):eabm2311. doi: 10.1126/scitranslmed.abm2311.
- Schurz H, Salie M, Tromp G, Hoal EG, Kinnear CJ, Möller M.** The X chromosome and sex-specific effects in infectious disease susceptibility. *Hum Genomics*. 2019;13(1):2. doi:10.1186/s40246-018-0185-z
- Szczepanek J, Skorupa M, Goroncy A, et al.** Anti-SARS-CoV-2 IgG against the S Protein: A Comparison of BNT162b2, mRNA-1273, ChAdOx1 nCoV-2019 and Ad26.COV2.S Vaccines. *Vaccines*. 2022;10(1):99. doi:10.3390/vaccines10010099
- WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard 2022.** World Health Organization. <https://CoVid19.who.int/>. Published September 5, 2022. Accessed September 10, 2022.
- Wing Ying Au, Peter Pak-Hang Cheung.** Effectiveness of heterologous and homologous CoVid-19 vaccine regimens: living systematic review with network meta-analysis. *The BMJ*. 2022; 377 doi: <https://doi.org/10.1136/bmj-2022-069989>

ĐẶC ĐIỂM ALANINE AMINOTRANSFERASE, ASPARTATE TRANSFERASE VÀ BILIRUBIN TOÀN PHẦN Ở BỆNH NHÂN NHIỄM COVID-19 MỨC ĐỘ NẶNG VÀ NGUY KỊCH TẠI BỆNH VIỆN DÃ CHIẾN TRUYỀN NHIỄM 5G

Đỗ Sơn Hải*, Nguyễn Thị Diệu Liên**, Tống Thọ Thắng*, Lê Thanh Sơn*

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá đặc điểm Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate transferase (AST) và Bilirubin toàn phần ở bệnh nhân (BN) COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch điều trị tại Bệnh viện dã chiến truyền nhiễm 5G.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thuần tập, hồi cứu trên 156 BN COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch điều trị tại Khoa Hồi sức cấp cứu - Bệnh viện Dã chiến Truyền nhiễm 5G- Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 8 đến tháng 11/2021.

Kết quả: 48,7% BN có tổn thương gan (ALT >40 U/l), trong đó chủ yếu ở mức độ nhẹ (ALT trong khoảng 41- 79 U/l). Định lượng bilirubin toàn phần, ALT và AST có xu hướng tăng dần từ nhóm bình thường, nhóm tổn thương gan mức độ nhẹ, mức độ vừa đến mức độ nặng, khác biệt có ý nghĩa thống kê. Thời gian sống trung bình của nhóm BN không có tổn thương gan là $17,96 \pm 1,57$ ngày cao hơn ở nhóm có tổn thương gan là $11,89 \pm 0,89$ ngày, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p=0,0073$.

Kết luận: BN COVID- 19 mức độ nặng và nguy kịch trong nhóm nghiên cứu phần lớn có tổn thương gan mức độ nhẹ (ALT trong khoảng

41- 79 U/l).Tổn thương gan càng nặng thì nồng độ của ALT, AST và bilirubin toàn phần càng tăng cao.Tuy nhiên, chỉ có sự thay đổi của ALT và AST có ý nghĩa lâm sàng, còn sự thay đổi của Bilirubin toàn phần chỉ có ý nghĩa thống kê. Thời gian sống trung bình nhóm không tổn thương gan cao hơn nhóm tổn thương gan.

Từ khoá: Alanine aminotransferase; Aspartate transferase; Total bilirubin; COVID-19

SUMMARY

CHARACTERISTICS OF ALANINE AMINOTRANSFERASE ,ASPARTATE TRANSFERASE AND TOTAL BILIRUBIN IN SEVERE AND CRITICAL COVID-19 PATIENTS TREATED AT INFECTIOUS FIELD HOSPITAL NO.5G

Objectives: To evaluate the characteristics of Alanine aminotransferase (ALT), Aspartate transferase (AST) and Total bilirubin in severe and critical COVID-19 patients, who were treated in Infectious Field Hospital No.5G.

Subjects and methods: A respective cohort study on 156 severe and critical COVID-19 patients in ICU of Infectious Field Hospital No.5G- Hochiminh city from August to November 2021.

Results: 48.7% of patients had a liver damage (ALT >40 U/l), almost at a mild level (ALT ranged from 41-79UI).Concentration of total bilirubin,ALT and AST tended to increase gradually from the normal group, the group with mild liver damage, moderate to severe liver

*Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân Y

**Bệnh viện Đa khoa Hà Đông, Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Sơn Hải

Email: dosonhai@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 20.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

damage; the difference was statistically significant. The mean survival time of the group without liver damage (17.96 ± 1.57 days) was higher than the group with liver damage (11.89 ± 0.89 days); the difference was statistically significant with $p = 0.0073$.

Conclusion: Severe and critical COVID-19 patients in the study mostly had mild liver damage (ALT ranged from 41- 79 U/l). The more severe the liver damaged, the higher the concentration of ALT, AST and total bilirubin increased. However, only the change of ALT and AST was clinically significant, while the change of total bilirubin was only statistically significant. The mean survival time in the group without liver damage was higher than in the group with liver damage.

Keywords: Alanine aminotransferase; Aspartate transferase; Total bilirubin; COVID-19

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đại dịch COVID-19 là một đại dịch bệnh truyền nhiễm với tác nhân là virus SARS-CoV2 và các biến thể của nó đang diễn ra trên phạm vi toàn cầu. Khởi nguồn vào cuối tháng 12 năm 2019 với tâm dịch đầu tiên tại thành phố Vũ Hán, tính đến tháng 8 năm 2021 đã có hơn 200.000.000 ca mắc COVID-19 và hơn 4 triệu người tử vong trên toàn thế giới. Ở Việt Nam, ngày 23 tháng 1 năm 2020 đã ghi nhận trường hợp nhiễm COVID-19 đầu tiên tại TP Hồ Chí Minh và cho đến nay con số này đã lên hơn 10 triệu người mắc, số ca tử vong được ghi nhận là hơn 43.000 ca.

Phổi là cơ quan bị tổn thương chính trong cơ chế gây bệnh của virus SARS-CoV2. Tuy nhiên, SARS-CoV2 cũng gây tổn thương cho nhiều hệ thống cơ quan khác như tim, thận và gan[1]. Khoảng 60% bệnh nhân đã được báo cáo có các mức độ tổn thương gan khác nhau do COVID-19 [2]. Trong vụ dịch đầu

tiên tại Trung Quốc, tăng alanine aminotransferase (ALT) và bilirubin toàn phần chiếm tỷ lệ lần lượt là 28% và 18% [3]. Trong đại dịch hiện nay, rối loạn chức năng gan đã được thấy ở 14–53% bệnh nhân mắc COVID-19, đặc biệt ở những bệnh nhân nhiễm mức độ nặng và nguy kịch[4]. Đặc biệt, các trường hợp tổn thương gan cấp tính khiến cho tỷ lệ tử vong cao hơn. Sự ảnh hưởng của SARS-COV2 tới gan liên quan đến tác dụng gây chết tế bào trực tiếp của virus do tạo phản ứng miễn dịch mất kiểm soát. Ngoài ra, virus còn tạo môi trường cho nhiễm khuẩn huyết và tổn thương gan do thuốc sử dụng trong quá trình điều trị. Nhiều nghiên cứu lâm sàng đã ghi nhận mối tương quan giữa tổn thương chức năng gan thời điểm nhập viện và mức độ nặng của bệnh nhân COVID-19 [5,6,7].

Trong làn sóng lớn lây lan của đại dịch, vào tháng 8 năm 2021 vừa qua tại thành phố Hồ Chí Minh, bệnh viện dã chiến truyền nhiễm 5G đã được Học viện Quân Y thành lập tại quận 6 để thu dung cấp cứu điều trị bệnh nhân COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch. Qua thực tiễn ngày đêm chiến đấu với dịch bệnh tại đây, chúng tôi nhận thấy rằng, việc nghiên cứu đặc điểm tổn thương gan, đặc biệt là sự biến thiên của ALT, AST và bilirubin toàn phần ở bệnh nhân COVID-19 là một yêu cầu cấp thiết để phục vụ cho việc đánh giá một cách tổng quan các tác động của virus đối với bệnh nhân; cũng như làm rõ được mối tương quan của bệnh lý gan do mắc SARS-COV2 với tỉ lệ sống còn của người bệnh. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài này nhằm mục tiêu: *Đánh giá đặc điểm alanine aminotransferase, aspartate transferase và bilirubin toàn phần ở bệnh nhân COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch tại bệnh viện dã chiến 5G.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Các bệnh nhân được chẩn đoán COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch, được điều trị tại khoa Hồi sức cấp cứu- Bệnh viện Dã chiến truyền nhiễm 5G -Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 8 đến tháng 11 năm 2021

* Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân:

- Xét nghiệm dịch tỵ hầu dương tính với SARS-CoV-2 theo phương pháp RT-PCR.

- Bệnh nhân được chẩn đoán COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch theo phân loại của Bộ Y tế trong quyết định số 250/QĐ-BYT:

+Mức độ nặng: Hô hấp có dấu hiệu viêm phổi kèm theo bất kỳ một trong các dấu hiệu sau: nhịp thở > 25 lần/phút; khó thở nặng, co kéo cơ hô hấp phụ; SpO₂ < 94% khi thở khí phòng. Chụp X-quang ngực và cắt lớp vi tính ngực: có tổn thương trên 50%. Siêu âm thấy hình ảnh sóng B nhiều, khí máu động mạch: PaO₂/FiO₂ khoảng 200-300.

+Mức độ nguy kịch: F0 có biểu hiện thở nhanh > 30 lần/phút hoặc < 10 lần/phút, có dấu hiệu suy hô hấp nặng, thở gắng sức nhiều, thở bất thường hoặc cần hỗ trợ hô hấp bằng thở oxy dòng cao (HFNC), thở máy. Ý thức người bệnh giảm hoặc hôn mê. Huyết áp tụt, tiểu ít hoặc vô niệu. Kết quả X-quang ngực và cắt lớp vi tính ngực phát hiện có tổn thương trên 50%. Siêu âm hình ảnh sóng B nhiều, khí máu động mạch: PaO₂/FiO₂ < 200, toan hô hấp, lactat máu > 2 mmol/L.

-Bệnh nhân > 18 tuổi.

- Gia đình hoặc người đại diện hợp pháp đồng ý tham gia nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn loại trừ:

- Có tiền sử uống rượu.

- Có bệnh lý gan từ trước.

2. Phương pháp nghiên cứu

* Thiết kế nghiên cứu và cỡ mẫu:

- Nghiên cứu thuần tập, hồi cứu, mô tả cắt ngang.

- Cỡ mẫu thuận tiện, tiến hành thu thập dữ liệu trên bệnh án của các BN COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch điều trị tại Khoa Hồi sức cấp cứu, Bệnh viện Dã chiến Truyền nhiễm 5G trong thời gian nghiên cứu.

* Nội dung nghiên cứu:

- Bệnh nhân vào viện được thăm khám lâm sàng, xét nghiệm sinh hóa máu, làm bệnh án theo mẫu thống nhất. Các chỉ số đánh giá đặc điểm tổn thương gan: AST, ALT, Bilirubin toàn phần được lấy từ thời điểm bệnh nhân mới nhập viện.

- Các chỉ tiêu trong nghiên cứu:

2.1. Một số đặc điểm lâm sàng:

- Tuổi, giới

- Tiền sử tiêm vaccine COVID-19

- Các bệnh đồng mắc: chia thành các nhóm bệnh nền đồng mắc, một bệnh nhân có thể đồng mắc nhiều bệnh

2.2. Đánh giá đặc điểm alanine aminotransferase, aspartate transferase và bilirubin toàn phần

- Nghiên cứu của chúng tôi áp dụng phân độ mức độ tổn thương gan theo Phipps [3]: Tổn thương gan khi có biểu hiện tăng men gan ALT quá ngưỡng cao của giá trị bình thường, chia thành 3 mức độ:

+ Mức độ nhẹ: Tăng ALT < 2 lần ngưỡng cao của giá trị bình thường.

+ Mức độ vừa: Tăng ALT 2 - 5 lần ngưỡng cao của giá trị bình thường.

+ Mức độ nặng: Tăng ALT > 5 lần ngưỡng cao của giá trị bình thường.

Ngưỡng cao của giá trị bình thường ALT là 40U/l.

- Lập bảng mức độ tổn thương gan theo tiêu chuẩn trên, chia thành các nhóm: bình thường, nhẹ, vừa, nặng. Kiểm định mối liên quan giữa mức độ tổn thương gan và chỉ số

AST trung bình, chỉ số bilirubin toàn phần trung bình của bệnh nhân COVID-19

2.3. Đặc điểm tổn thương gan liên quan tới tỷ lệ sống, tỷ lệ tử vong:

- Lập bảng tỷ lệ sống, tỷ lệ tử vong
- Lập bảng và kiểm định mối liên quan giữa tỷ lệ sống và các chỉ số: tuổi trung bình, ALT, AST và bilirubin toàn phần trung bình của bệnh nhân COVID-19

- Ước tính Kaplan Meier sống còn giữa nhóm bệnh nhân có tổn thương gan và nhóm không có tổn thương gan

* *Xử lý số liệu:*

- Xử lý số liệu bằng máy vi tính với phần mềm SPSS 22.

- Áp dụng thuật toán kiểm định χ^2 để đánh giá mối tương quan. Kiểm định này có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

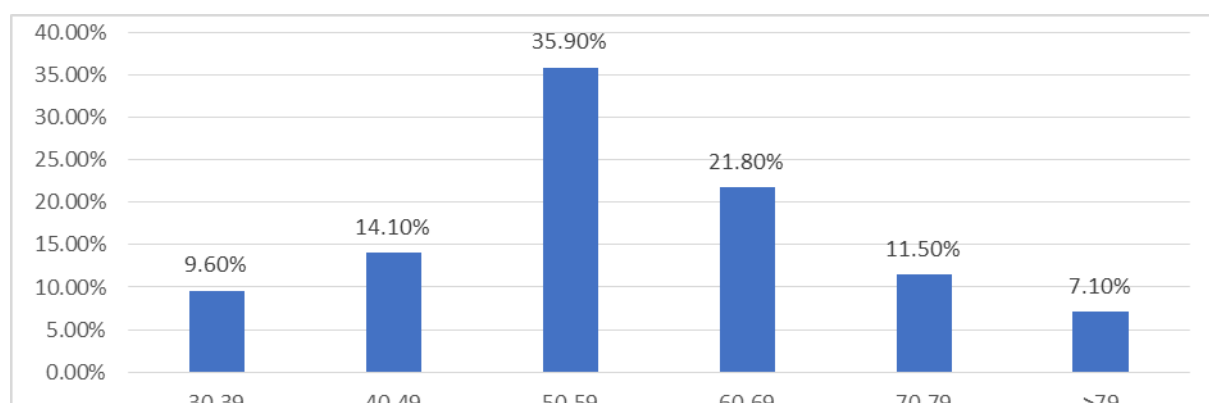
1. Một số đặc điểm lâm sàng:

*Tuổi

- Tuổi trung bình: $68,30 \pm 10,32$.

- Tuổi thấp nhất: 33.

- Tuổi cao nhất: 91.



Biểu đồ 3.1: Phân bố bệnh nhân nghiên cứu theo tuổi

Độ tuổi từ 50 -59 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (35,90%) với 56 bệnh nhân.

*Giới: Tỷ lệ nữ cao hơn nam, nữ chiếm 54,5% (85 bệnh nhân)

*Tiền sử tiêm vaccine

- Số bệnh nhân chưa tiêm vaccine chiếm tỷ lệ cao nhất (64,7%)

- Đã tiêm 1 mũi : 34 bệnh nhân (21,8%)

- Đã tiêm 2 mũi: 21 bệnh nhân (13,5%)

*Các bệnh đồng mắc

Bảng 3.1: Các bệnh đồng mắc

Bệnh đồng mắc	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Suy thận	5	3,2
Bệnh lý thần kinh	11	7,1
Đột quỵ não	10	6,4
Suy tim	6	3,8
Tăng huyết áp	53	34,0
Đái tháo đường	41	26,3
Không mắc	30	19,2
Tổng	156	100,0

Tăng huyết áp là bệnh đồng mắc chiếm tỷ lệ cao nhất (34%), sau đó đến đái tháo đường (26,3%), Suy thận có tỷ lệ thấp nhất (3,2%).

2. Đánh giá đặc điểm alanine aminotransferase, aspartate transferase và bilirubin toàn phần

Bảng 3.2: Tỷ lệ mức độ tổn thương gan (Theo Phipps)[3]

Mức độ tổn thương gan	ALT (U/L)	Số lượng bệnh nhân	Tỷ lệ (%)
Bình thường	22,16 ± 9,11	80	51,3
Nhẹ	59,78 ± 12,38	39	25,0
Vừa	131,9 ± 28,5	25	16,0
Nặng	451,3 ± 187,9	12	7,7

Kết quả cho thấy: 48,7% bệnh nhân tổn thương gan (ALT>40 U/l). Trong đó chủ yếu ở mức độ nhẹ: ALT trong khoảng 41-79U/l (25,0%), tiếp theo là tổn thương mức độ vừa: ALT trong khoảng 80- 200U/l (16,0%) và thấp nhất là tổn thương mức độ nặng: ALT>200U/l (7,7%).

Bảng 3.3: Mối liên quan giữa mức độ tổn thương gan và chỉ số AST, bilirubin toàn phần của bệnh nhân COVID-19

Giá trị	Bình thường	Nhẹ	Vừa	Nặng	P
n (%)	80 (51,3)	39 (25,0)	25 (16,0)	12 (7,7)	
Bilirubin toàn phần (μmol/L)	9,36 ± 1,70	10,23 ± 2,72	13,84 ± 3,81	16,35 ± 4,51	0,00032
AST (U/L)	33,27 ± 15,71	61,57 ± 28,37	105,4 ± 92,5	1.315 ± 1.011	0,00078

AST và Bilirubin toàn phần có xu hướng tăng dần từ nhóm bình thường đến nặng, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Tuy nhiên chỉ số Bilirubin toàn phần vẫn nằm trong ngưỡng bình thường ($< 21 \mu\text{mol/L}$).

3. Đặc điểm tổn thương gan liên quan tới tỷ lệ sống, tỷ lệ tử vong:

Bảng 3.4: Tỷ lệ bệnh nhân sống và tử vong

Nhóm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Sống	31	19,87
Tử vong	125	80,13
Tổng	156	100

Tỷ lệ sống khá thấp 19,87%, còn tử vong lên đến 80,13%

Bảng 3.5: Mối liên quan giữa tỷ lệ sống với tuổi và các chỉ số ALT,AST, Bilirubin toàn phần của bệnh nhân COVID-19

Giá trị	Tổng số BN (n = 156)	Tử vong (n = 125)	Sống (n = 31)	p
	X̄ ± SD			
Tuổi	68,30 ± 10,32	69,5 ± 11,6	54,3 ± 12,8	0,00067

Bilirubin TP (μmol/L)	10,3 ± 2,9	11,4 ± 3,1	10,1 ± 1,3	0,32
AST (U/L)	134,6 ± 51,2	167,9 ± 123,8	46,7 ± 35,2	0,22
ALT (U/L)	76,1 ± 64,4	94,3 ± 58,6	55,9 ± 37,7	0,2

Tuổi trung bình nhóm BN tử vong ($69,5 \pm 11,6$) cao hơn nhóm sống ($54,3 \pm 12,8$), có ý nghĩa thống kê với $p = 0,00067 < 0,05$. Bilirubin toàn phần, AST và ALT không khác biệt giữa nhóm sống và nhóm tử vong.

***Ước tính Kaplan Meier thời gian sống**

+ Ước tính Kaplan Meier cho thấy thời gian sống trung bình của nhóm không có tổn thương gan $17,96 \pm 1,57$ ngày, trong khi đó ở nhóm có tổn thương gan là $11,89 \pm 0,89$ ngày.

+ Kiểm định Log Rank cho thấy thời gian sống trung bình nhóm không tổn thương gan dài hơn nhóm có tổn thương gan, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0073$.

IV. BÀN LUẬN

1. Một số đặc điểm lâm sàng

- Tuổi, giới và tiêm phòng vaccine:

Qua số liệu của biểu đồ 3.1: Tuổi trung bình: $68,30 \pm 10,32$. Trong đó độ tuổi từ 50 - 59 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (35,90%). Theo thống kê dân số của thành phố Hồ Chí Minh năm 2021 của viện nghiên cứu phát triển thành phố Hồ Chí Minh [8], số lượng người trong các nhóm tuổi từ 30-39 và 40-49 là cao nhất, độ tuổi trung bình từ 25 – 29 tuổi. Tuy nhiên cơ cấu về nhóm tuổi và độ tuổi trung bình của nghiên cứu chúng tôi lại khá cao ($68,30 \pm 10,32$). Nguyên nhân là do đối tượng nghiên cứu là những bệnh nhân nặng và nguy kịch, điều trị tại khoa Hồi sức cấp cứu của Bệnh viện dã chiến 5G- thường là người cao tuổi nguy cơ mắc các bệnh lý nền như tăng huyết áp, đái tháo đường, suy thận,...nên dễ chuyển nặng. Còn nhóm tuổi

trẻ thì thường mắc COVID-19 nhẹ, có khi không có triệu chứng và không phải nhập viện, nên ít nằm trong đối tượng nghiên cứu.

Trong nghiên cứu, tỷ lệ BN nữ nhiều hơn (54,5%) và đa phần các bệnh nhân chưa tiêm phòng vaccine COVID 19 (64,7%). Theo kết quả điều tra dân số của viện nghiên cứu phát triển TP. Hồ Chí Minh (2021) [8], tỷ lệ nữ giới chiếm 51,3%, do đó kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với tỷ lệ dân số thời điểm đó. Theo nghiên cứu của Guo Guang Ma trên 109 bệnh nhân COVID-19 ở Bệnh viện Nhân dân Đại học Vũ Hán (Hồ Bắc, Trung Quốc) từ 31/1 đến 29/2/2020 [5] thì số lượng nữ giới là 58 người, chiếm tỉ lệ 53,2%, Cũng so sánh với tình hình thực tế ,tại thời điểm thu thập số liệu nghiên cứu là tháng 8 đến tháng 11 năm 2021, vaccine COVID-19 còn chưa phổ biến ở nước ta, do đó tỉ lệ tiêm phòng vaccine COVID-19 còn thấp.

- Bệnh đồng mắc:

Phần lớn gặp BN tăng huyết áp (34%), tiếp theo là đái tháo đường (26,3%). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của Bloom với tỷ lệ tăng huyết áp chiếm đa số (23%) [4]. Singh,S. và cộng sự nghiên cứu tỷ lệ các bệnh đồng mắc của BN COVID-19 thấy: tăng huyết áp chiếm phần lớn (22,75%), tiếp theo là đái tháo đường (10,67%), các bệnh lý tim mạch chiếm 5,4% [9].

2. Đánh giá đặc điểm alanine aminotransferase, aspartate transferase và bilirubin toàn phần

Theo kết quả nghiên cứu từ bảng 3.2 và 3.3: 51,3% BN không có tổn thương gan và

48,7% BN có tổn thương gan, trong đó chủ yếu tổn thương mức độ nhẹ (25%), tiếp theo là tổn thương mức độ vừa (16,0%) và thấp nhất là tổn thương mức độ nặng (7,7%). Bilirubin toàn phần, AST, ALT có xu hướng tăng dần từ nhóm bình thường đến nhóm nặng, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Kết quả này phù hợp với báo cáo của Phipps nghiên cứu tổn thương gan cấp ở BN COVID-19, thực hiện trên 3381 bệnh nhân tại ba bệnh viện trong mạng lưới NewYork - Presbyterian: 22% mức độ nhẹ; 6,2% vừa; 1,7% nặng. So sánh các chỉ số giữa 3 nhóm nhẹ - vừa - nặng thấy: AST tăng dần (37 - 66 - 91 U/L), bilirubin toàn phần tăng dần (14 - 15 - 16 $\mu\text{mol/L}$), sự khác biệt cũng có ý nghĩa thống kê [3]. Nghiên cứu của Lin Fu về tổn thương gan cấp tính và mối liên quan của nó với nguy cơ tử vong của bệnh nhân COVID-19 thực hiện trên 350 bệnh nhân COVID-19 tại Bệnh viện Union thuộc Đại học Khoa học và Công nghệ Hoa Trung-Vũ Hán và Bệnh viện Nhân dân số 2 -Phụ Dương-An Huy thu được kết quả là: bilirubin toàn phần tăng dần (10,4; 10,9 và 12,6 $\mu\text{mol/L}$) ở 3 nhóm phân loại theo mức độ COVID-19 (nhóm thông thường, nhóm nặng, nhóm nguy kịch), khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ [7].

Tuy nhiên chúng tôi cũng nhận thấy rằng, trong nghiên cứu của chúng tôi và các tác giả nói trên, sự biến thiên của Bilirubin toàn phần ở bệnh nhân Covid 19 là không thực sự đáng kể. Chỉ số này dù có khác biệt giữa các nhóm nhưng vẫn nằm trong ngưỡng bình thường ($< 21 \mu\text{mol/L}$) do đó sự thay đổi này chỉ có ý nghĩa thống kê chứ ít có ý nghĩa lâm sàng. Trong khi đó, sự biến thiên của ALT và AST thể hiện rõ ràng hơn và do đó cũng có ý nghĩa trên lâm sàng hơn để đánh giá tổn thương gan.

3. Đặc điểm tổn thương gan liên quan

tới tỷ lệ sống, tỷ lệ tử vong

Ở bảng 3.4 ta thấy: tỷ lệ tử vong trong nhóm nghiên cứu khá cao, lên tới 80,13%. Điều này có thể lý giải là do các bệnh nhân đều được chẩn đoán nhiễm COVID-19 mức độ nặng và nguy kịch với nhiều bệnh lý kết hợp, điều trị tại bậc thang cuối cùng là khoa hồi sức cấp cứu, có tổn thương phổi nặng, phần lớn phải can thiệp đặt ống nội khí quản và thở máy nên tiên lượng xấu.

Mối liên quan giữa tỷ lệ sống với tuổi và các chỉ số ALT, AST, Bilirubin toàn phần được thể hiện ở bảng 3.5 : Có khác biệt về tuổi trung bình giữa nhóm tử vong ($69,5 \pm 11,6$) và nhóm sống ($54,3 \pm 12,8$) với $p=0,00067 < 0,05$; tuy nhiên không có sự khác biệt giữa nhóm sống và nhóm tử vong về các chỉ số AST, ALT, bilirubin toàn phần. Theo nghiên cứu của Jia-Xin Shen về các yếu tố nguy cơ và tiên lượng ở bệnh nhân COVID-19 và tổn thương gan trên 356 bệnh nhân mắc COVID-19 ở Bệnh viện Nhân dân số 3 Nghi Xương- Hồ Bắc từ 17/1 đến 26/2 /2020: tuổi trung bình tăng dần giữa 2 nhóm sống và tử vong là: $49,78 \pm 17,7$; $62,85 \pm 15,29$, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ [6]. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của chúng tôi. Tuy nhiên, về đặc điểm tổn thương gan, tác giả lại thấy rằng, dù chỉ số ALT tăng dần giữa hai nhóm và không có ý nghĩa thống kê ($p=0,895$), nhưng chỉ số AST giữa nhóm sống và nhóm tử vong lại thay đổi có ý nghĩa thống kê [6]. Nguyên nhân của sự khác biệt này là do đối tượng bệnh nhân trong 2 nghiên cứu . Sự lựa chọn bệnh nhân của chúng tôi là bệnh nhân nặng và nguy kịch ở bệnh viện đã chiến 5G vào cuối năm 2021 với chủng delta chiếm đa số; còn trong nghiên cứu của Jia-Xin Shen thực hiện vào giai đoạn đầu năm 2020 khi dịch mới bùng phát nên việc tiếp nhận và điều trị

bệnh nhân chưa có sự phân loại ở các mức độ khác nhau.

Ước tính Kaplan Meier trong nghiên cứu cho thấy thời gian sống trung bình của nhóm không có tổn thương gan là $17,96 \pm 1,57$ ngày, trong khi đó ở nhóm có tổn thương gan là $11,89 \pm 0,89$ ngày. Kiểm định Log Rank cho thấy thời gian sống trung bình của nhóm không tổn thương gan dài hơn nhóm tổn thương gan, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0073$. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Yang và cộng sự : thời gian sống của nhóm có tổn thương gan là $10,1 \pm 3,4$ ngày [10]. Nhóm tác giả cũng công bố đồ thị Kaplan-Meier cho thấy BN có tổn thương gan có tỷ lệ sống thấp hơn có ý nghĩa so với BN không có tổn thương gan (kiểm định log-rank $\chi^2 = 15,801$; $p < 0,01$) [10]

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 156 BN COVID- 19 nặng và nguy kịch điều trị tại bệnh viện dã chiến 5G, chúng tôi thấy: tỷ lệ tổn thương gan là 48,7% (ALT>40U/l), trong đó chủ yếu ở mức độ nhẹ : ALT trong khoảng 41-79U/l (25,0%), tiếp theo là tổn thương mức độ vừa: ALT trong khoảng 80- 200U/l (16,0%) và thấp nhất là tổn thương mức độ nặng: ALT>200U/l (7,7%). Định lượng bilirubin toàn phần, ALT và AST có xu hướng tăng dần từ nhóm bình thường, nhóm tổn thương gan mức độ nhẹ, mức độ vừa đến mức độ nặng, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Tuy nhiên, chỉ có sự thay đổi của ALT và AST có ý nghĩa lâm sàng, còn sự thay đổi của Billirubin toàn phần chỉ có ý nghĩa thống kê. Ước tính Kaplan Meier cho thấy thời gian sống trung bình của nhóm BN không có tổn thương gan là $17,96 \pm 1,57$ ngày, dài hơn ở nhóm có tổn thương gan là

$11,89 \pm 0,89$ ngày, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,0073$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Anastasiou OE, et al. (2021), Mild versus severe liver injury in SARS-CoV-2 infection. *Dig Dis*; 39 (1):52-57.
2. Guo-Guang Ma, Y XS, Ling Wu (2020), Effect of liver injury on prognosis and treatment of hospitalized patients with COVID-19 pneumonia. *Annals of Translational Medicine*; 9 (1):10.
3. Phipps MM, et al. (2020), Acute liver injury in COVID-19: Prevalence and association with clinical outcomes in a large U.S cohort, *Hepatology*; 72 (3):807-817.
4. Bloom PP, et al. (2021), Liver biochemistries in hospitalized patients with COVID-19, *Hepatology*; 73 (3):890-900.
5. Ma GG, et al. (2021), Effect of liver injury on prognosis and treatment of hospitalized patients with COVID-19 pneumonia, *Ann Transl Med*; 9 (1):10.
6. Shen JX, et al. (2021), Risk factors and prognosis in patients with COVID-19 and liver injury: A retrospective analysis, *J Multidiscip Health*; 14:629-637.
7. Lin Fu JF, Shen Xu (2020), Acute liver injury and its association with death risk of patients with COVID-19, *medRx iv*; 2:22.
8. Thống kê dân số Thành phố Hồ Chí Minh (2021), Viện nghiên cứu phát triển thành phố Hồ Chí Minh.
9. Singh, S. and A. Khan (2020), Clinical characteristics and outcomes of coronavirus disease 2019 among patients with preexisting liver disease in the United States: A Multicenter Research Network Study, *Gastroenterology*; 159(2): p. 768-771 e3.
10. Yang, H.Y., B. Jin, and Y.L. Mao (2020), Liver injury in COVID-19: What do we know now, *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 19(5): p. 407-408.

SỰ LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ FAT-SPECIFIC PROTEIN 27 (FSP27) VỚI MỘT SỐ CHỈ SỐ CHUYỂN HÓA LIPID VÀ GLUCOSE TRONG HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2 CHẨN ĐOÁN LẦN ĐẦU

Hoàng Thị Minh^{1,2}, Đặng Thành Chung¹, Huỳnh Quang Thuận¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Fat-specific Protein 27 (FSP27) là một protein đóng vai trò quan trọng trong cân bằng năng lượng, FSP27 sụt giảm có thể góp phần gây tích lũy chất béo ngoài mô mỡ dẫn đến kháng insulin. Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát nồng độ và mối liên quan của FSP27 huyết tương với các chỉ số chuyển hóa lipid và glucose ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện trên 98 đối tượng là người khỏe mạnh (nhóm chứng) và 103 bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu, chưa được điều trị (nhóm bệnh). Nồng độ FSP27 huyết tương được định lượng bằng phương pháp ELISA. Xác định mối liên quan của nồng độ FSP27 với các chỉ số phản ánh chuyển hóa lipid và glucose. **Kết quả:** Nồng độ FSP27 ở nhóm bệnh đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu thấp so với nhóm chứng khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với $p = 0.51$. Không có mối liên quan giữa nồng độ FSP27 huyết tương với các chỉ số nhân trắc học, cholesterol TP, HDL-C, LDL-C, glucose,

HbA1C, insulin và HOMA-IR ở cả nhóm bệnh và nhóm chứng. **Kết luận:** Không có sự khác biệt về nồng độ FSP27 huyết tương ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu so với nhóm chứng. Không có mối liên quan giữa nồng độ FSP27 huyết tương với các chỉ số chuyển hóa lipid và glucose ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu.

Từ khóa: Đái tháo đường típ 2 mắc mới, FSP27.

SUMMARY

RELATIONSHIP BETWEEN FAT-SPECIFIC PROTEIN 27 (FSP27) CONCENTRATION WITH SOME INDICATORS OF METABOLISM LIPID AND GLUCOSE IN TYPE 2 DIABETES AT THE FIRST DIAGNOSIS

Objective: Fat-specific Protein 27 (FSP27) is a protein that plays an important role in energy balance, and a decrease in FSP27 may contribute to fat accumulation in addition to adipose tissue leading to insulin resistance. The objective of this study was to investigate plasma concentrations and associations of FSP27 with indices of lipid and glucose metabolism in patients with type 2 diabetes at first diagnosis. **Subjects and Methods:** A cross-sectional descriptive study was performed on 98 healthy subjects (control group) and 103 patients with type 2 diabetes at the first diagnosis, without any treatment (patient group). Plasma FSP27 concentration was quantified by ELISA method. Determine the

¹Bệnh viện Quân y 103,

²Nghiên cứu sinh bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Huỳnh Quang Thuận

Email: huynhquangthuan2002@yahoo.com

Ngày nhận bài: 13.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 18.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

relationship of FSP27 concentration with indicators reflecting lipid and glucose metabolism. **Results:** The concentration of FSP27 in the group with type 2 diabetes at the first diagnosis was low compared with the control group, the difference was not statistically significant with $p = 0.51$. There was no relationship between plasma FSP27 levels and anthropometric indices, cholesterol TP, HDL-C, LDL-C, glucose, HbA1C, insulin and HOMA-IR in both the patient and control groups. **Conclusion:** There was no difference in plasma FSP27 levels in patients with type 2 diabetes at first diagnosis compared with controls and no relationship between plasma FSP27 concentration and lipid and glucose metabolism indices in patients with type 2 diabetes at first diagnosis.

Keywords: New incidence of type 2 diabetes, FSP27.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đái tháo đường là bệnh lý mạn tính phổ biến trên toàn thế giới. Sự gia tăng tỷ lệ mắc đáng báo động đã thúc đẩy nghiên cứu tìm hiểu cơ chế bệnh sinh của bệnh đái tháo đường típ 2, trong đó có mối liên quan giữa chuyển hóa lipid và glucose. Các bằng chứng khoa học trong thập kỷ gần đây cho thấy mối quan hệ này rất phức tạp, rối loạn chuyển hóa lipid không chỉ là hậu quả mà còn là nguyên nhân của rối loạn chuyển hóa glucose [1].

Việc tìm ra những dấu ấn sinh học tham gia điều hòa chuyển hóa lipid và kháng insulin có vai trò vô cùng quan trọng, nhất là ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2. Fat-specific Protein 27 (FSP27) còn có tên gọi khác là cell death-inducing DFFA-like effector c (CIDEC), một loại protein liên kết với giọt lipid đóng vai trò chính trong dự trữ sinh lý của chất béo [2]. Trong những năm

gần đây, FSP27 được xác định là chất điều hòa quá trình phân giải lipid, một thành phần dị hóa của quá trình chuyển hóa chất béo cung cấp năng lượng cho nhu cầu trao đổi chất [3]. Nghiên cứu này thực hiện nhằm mục đích khảo sát nồng độ FSP27 trong huyết tương và mối liên quan của nó với các số về chuyển hóa lipid và glucose ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu tại Việt Nam.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện trên 98 đối tượng là người khỏe (nhóm chứng) và 103 bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu tại bệnh viện quân y 103 từ 08/2021 đến 06/2022.

Nhóm chứng là những người không bị đái tháo đường hoặc tiền đái tháo đường theo tiêu chuẩn của ADA 2019, BMI, huyết áp và các chỉ số xét nghiệm trong giới hạn bình thường. Không có bệnh lý khác kèm theo. Có tuổi và giới tương đồng với nhóm bệnh. Nhóm bệnh: tuổi đời > 30, được chẩn đoán đái tháo đường típ 2 lần đầu, chưa được điều trị.

Loại khỏi đối tượng nghiên cứu nếu bệnh nhân có một trong các yếu tố sau: Bệnh nhân không phù hợp với tiêu chuẩn chọn. Bệnh nhân đang sử dụng các thuốc có ảnh hưởng tới nồng độ glucose máu như: thuốc lợi tiểu nhóm thiazid, corticoid, thuốc chẹn beta giao cảm, thuốc tránh thai có estrogen... Bệnh nhân ĐTĐ típ 2 bị xơ gan, suy thận, hội chứng thận hư, viêm thận bể thận, nhồi máu cơ tim, ung thư. Bệnh nhân không đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tất cả các bệnh nhân đều được hỏi bệnh về tiền sử như triệu chứng khởi phát bệnh,

tăng huyết áp, tiền sử sử dụng thuốc, ... Khám lâm sàng phát hiện các bệnh lý kết hợp, đo chiều cao, cân nặng, tính chỉ số BMI, đo vòng bụng, mạch, huyết áp. Các mẫu máu được lấy theo một quy trình thông nhất. Bệnh nhân được yêu cầu nhịn ăn từ 22h tối hôm trước đến 7h sáng hôm sau để lấy mẫu máu. Ông chống đông heparin được sử dụng để lấy máu phân tích các chỉ số sinh hóa. Ông chống đông EDTA dùng để lấy mẫu xét nghiệm HbA1C và ANGPTL3.

Các chỉ số sinh hóa được phân tích trên hệ thống máy xét nghiệm tự động AU5800 của hãng Beckman, Hoa Kỳ). %HbA1c được định lượng bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao trên máy PREMIER9210 của hãng Trinity Biotech, Hoa Kỳ. Insulin huyết tương được định lượng bằng phương pháp

hóa phát quang trên hệ thống máy DXI 800 của hãng Beckman, Hoa Kỳ. FSP27 được định lượng bằng phương pháp ELISA, sử dụng bộ KIT thương mại sẵn có của hãng MyBioSource, Hoa Kỳ. Chỉ số kháng insulin (HOMA - IR: Homeostasis Model Assessment insulin Resistance), được tính theo công thức[4]: $HOMA-IR = FPG (mmol/L) \times Fasting IRI (mIU/L) / 22,5$.

2.3. Phân tích thống kê

Quản lý các số liệu bằng phần mềm Microsoft Office Excel 2019. Số liệu được xử lý theo thuật toán thống kê y học, sử dụng phần mềm SPSS 22.0.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thông qua hội đồng đạo đức của Học viện Quân y.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm của các đối tượng trong nghiên cứu này được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm chứng (n =98)	Nhóm bệnh (n =103)	P
Nam	59 (60,2 %)	66 (64,1%)	> 0,05
Nữ	39 (39,8%)	37 (35,9%)	
Tuổi (năm)	50,71 ± 6,36	52,51 ± 9,26	>0,05
Huyết áp tâm thu	116,38± 5,2	127,52 ± 12,68	0,000
Huyết áp tâm trương	71,22 ± 6,05	79,51 ± 10,37	0,000
BMI	21,58 ± 0,84	23,493 ± 1,18	0,000
Glucose máu lúc đói (mmol/l)	4,94 ± 0,38	12,82 ± 3,66	0,000
HbA1C (%)	4,98 ± 0,36	9,76 ± 2,17	0,000
Cholesterol TP (mmol/L)	4,67 ± 0,34	5,59 ± 1,27	0,000
HDL-C (mmol/L)	1,31 ± 0,20	1,11 ± 0,2	0,000
LDL-C (mmol/L)	2,22 ± 0,21	3,47 (2,44-4,09)	0,000
Triglycerid(mmol/L)	1,18 ± 0,29	2,67 (1,54-4,21)	0,000
Insulin (mIU/L)	6,01 (4,32-6,87)	6,37 (4,67-7,92)	0,024
HOMA-IR	1,32 (0,92-1,56)	3,56 (2,51-4,6)	0,000
Ure (mmol/L)	4,79 ± 1,09	5,48 ± 0,83	0,000

Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	76,44 \pm 15,04	78,96 \pm 13,18	0,208
Aicd uric ($\mu\text{mol/L}$)	317,19 \pm 60,16	328,61 \pm 61,17	0,172
GOT (U/L)	20,95 (13,98-33,88)	23,6 (18,7-32,45)	0,002
GPT (U/L)	18,29 (18,24-23,57)	29,3 (20,09-44,51)	0,000
GGT (U/L)	23,02 (17,64-32,78)	46,49 (37,36-98,56)	0,000

Các kết quả nghiên cứu ở Bảng 1 cho thấy giữa nhóm chứng và nhóm bệnh có sự tương đồng về tuổi và giới. Độ tuổi trung bình của nhóm chứng là 50,71 \pm 6,36 (năm), nhóm bệnh là 52,51 \pm 9,26 (năm). Nồng độ creatinin và acid uric khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nhóm bệnh và nhóm chứng. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đối với huyết áp, BMI, glucose máu lúc đói, HbA1C, lipid máu, insulin máu lúc đói, HOMA-IR, ure máu, men gan giữa nhóm bệnh và nhóm chứng ($P < 0,05$).

3.3. Nồng độ FSP27

Nồng độ FSP27 của đối tượng nghiên cứu được thể hiện trong Bảng 2

Bảng 2. So sánh nồng độ FSP27 của đối tượng nghiên cứu

FSP27 (ng/L)	Nhóm chứng	Nhóm bệnh	P
Trung vị	250,05	282,78	0,51
Giá trị nhỏ nhất	6,25	3,54	
Giá trị lớn nhất	4887,05	3557,91	
Tứ phân vị 1	175,09	190,62	
Tứ phân vị 2	250,05	282,78	
Tứ phân vị 3	472,99	501,54	

Các kết quả ở Bảng 2 cho thấy nồng độ FSP27 của nhóm bệnh và nhóm chứng khác biệt không có ý nghĩa thống kê với ($p > 0,05$).

3.3. Sự liên quan giữa nồng độ FSP27 huyết tương với các chỉ số về chuyển hóa lipid và glucose

Sự tương quan giữa nồng độ FSP27 với các chỉ số lipid và chuyển hóa glucose được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3. Sự tương quan giữa nồng độ FSP27 với các chỉ số lipid và chuyển hóa glucose

Chỉ số	Nhóm chứng		Nhóm bệnh	
	r	p	r	p
Glucose (mmol/L)	-0,048	0,64	0,004	0,966
HbA1C (%)	-0,001	0,966	-0,018	0,853
Insulin (mIU/mL)	0,051	0,615	-0,023	0,819
HOMA-IR	0,029	0,78	0,005	0,957
Cholesterol TP(mmol/L)	-0,024	0,813	0,043	0,669
HDL-C (mmo/L)	-0,009	0,928	0,03	0,761
LDL-C (mmol/L)	-0,153	0,132	0,011	0,91
Triglycerid (mmol/L)	-0,109	0,287	0,008	0,935

Các kết quả ở Bảng 3 cho thấy các hệ số tương quan giữa nồng độ FSP27 trong huyết tương và các thông số về chuyển hóa lipid, chuyển hóa glucose giữa nhóm bệnh và nhóm chứng. Ở nhóm bệnh và nhóm chứng: không thấy có sự liên quan giữa FSP27 với bất cứ chỉ số nào được đề cập ở trên.

IV. BÀN LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam xác định nồng độ FSP27 trong huyết tương của người khỏe mạnh và bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu. Kết quả của chúng tôi cho thấy nồng độ FSP27 trong huyết tương của nhóm bệnh và nhóm chứng khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê. Khi xét mối tương quan giữa nồng độ FSP27 với một số chỉ số lipid huyết tương, %HbA1c, glucose, HOMA-IR, insulin thì không thấy có mối tương quan ở cả nhóm bệnh và nhóm chứng.

FSP27 đóng một vai trò quan trọng trong việc dự trữ chất béo trong mô mỡ, đặc biệt là ở người. Cơ chế điều hòa thông qua việc thúc đẩy quá trình lưu trữ sinh lý của chất béo trong mô mỡ [5]. Giảm nồng độ FSP27 làm suy giảm tín hiệu insulin, Các nghiên cứu trên tế bào mỡ của người đã chứng minh rằng sự suy giảm FSP27 bằng cách sử dụng siRNA làm suy giảm độ nhạy insulin và sự biểu hiện quá mức của FSP27 bảo vệ tế bào khỏi sự đề kháng insulin do acid béo tự do (FFA) gây ra [6]. Từ đây có thể tiên đoán rằng ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 và/hoặc rối loạn lipid máu sẽ có nồng độ FSP27 thấp trong huyết tương. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi kết quả nồng độ FSP27 ở nhóm đái tháo đường típ 2 chưa điều trị khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với người khỏe mạnh. Các nghiên cứu trên thế giới cho đến hiện tại chỉ mới tập

trung nghiên cứu biểu hiện của FSP27 ở mô mỡ. Nghiên cứu xác định nồng độ FSP27 trong máu người còn rất hạn chế. Moreno và cộng sự khi nghiên cứu trên 80 đối tượng béo phì cho thấy mức FSP27 trong mỡ nội tạng thấp hơn đáng kể so với những người gầy [7]. Mỡ nội tạng, đặc biệt là ở những đối tượng béo phì, có liên quan đến một số bất thường bao gồm kháng insulin và được cho là yếu tố chính của FFA vào hệ thống tuần hoàn. Ngoài ra, biểu hiện gen của FSP27 trong mô mỡ nội tạng có tương quan nghịch với chỉ số khối cơ thể, khối lượng chất béo, glucose lúc đói, insulin và HOMA IR ở bệnh nhân béo phì, cho thấy vai trò chức năng của FSP27 trong béo phì và kháng insulin. Mặc dù có ít mối liên hệ khác biệt hơn giữa mỡ dưới da và các bất thường nêu trên ở cùng một bệnh nhân, nhưng mức độ gen và protein của FSP27 đã tăng lên đáng kể sau khi giảm cân giữa các bệnh nhân. Phù hợp với những nghiên cứu này, các kết quả trước đó cũng chứng minh rằng mức FSP27 có liên quan tích cực với độ nhạy insulin ở các đối tượng béo phì [8]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, khi phân tích về sự liên quan giữa nồng độ FSP27 trong huyết tương với các chỉ số lipid máu, glucose máu lúc đói, HbA1c, insulin lúc đói, HOMA-IR, chúng tôi chưa thấy mối liên quan. Có thể vì sự khác biệt nồng độ của FSP27 trong mô mỡ và trong huyết tương. Cho đến hiện tại cũng chưa có nghiên cứu đánh giá, so sánh nồng độ của FSP27 trong mô mỡ và trong huyết tương. Vì vậy trong tương lai có thể tiến hành thêm các nghiên cứu theo hướng này.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ FSP27 huyết tương ở bệnh nhân đái tháo đường típ 2 chẩn đoán lần đầu khác biệt không có ý nghĩa thống kê so với nhóm

chứng. Chưa thấy mối liên quan giữa nồng độ FSP27 huyết tương với các chỉ số phản ánh chuyển hóa lipid và glucose ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 mới mắc.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Parhofer KG.** Interaction between Glucose and Lipid Metabolism: More than Diabetic Dyslipidemia. *Diabetes Metab J* 2015 Oct; **39**(5): 353-362.
2. **Puri V and Czech MP.** Lipid droplets: FSP27 knockout enhances their sizzle. *J Clin Invest* 2008 Aug; **118**(8): 2693-2696.
3. **Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP.** Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nat Rev Mol Cell Bio* 2008 May; **9**(5): 367-377.
4. **Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, et al.** Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985 Jul; **28**(7): 412-419.
5. **Karki S.** FSP27 and Links to Obesity and Diabetes Mellitus. *Curr Obes Rep* 2019 Sep; **8**(3): 255-261.
6. **Grahn THM, Kaur R, Yin J, et al.** Fat-specific protein 27 (FSP27) interacts with adipose triglyceride lipase (ATGL) to regulate lipolysis and insulin sensitivity in human adipocytes. *J Biol Chem* 2014 Apr 25; **289**(17): 12029-12039.
7. **Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, et al.** CIDEC/FSP27 and PLIN1 gene expression run in parallel to mitochondrial genes in human adipose tissue, both increasing after weight loss. *Int J Obes (Lond)* 2014; **38**: 865-872.
8. **Puri V, Ranjit S, Konda S, et al.** Cidea is associated with lipid droplets and insulin sensitivity in humans. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008 Jun 3; **105**(22): 7833-7838.

ẢNH HƯỞNG CỦA ĐA HÌNH ĐƠN NUCLEOTID IFITM3 rs12252 VÀ TMPRSS2 rs12329760 ĐẾN MỨC ĐỘ NGHIÊM TRỌNG CỦA BỆNH COVID-19

Nguyễn Thị Ngọc Bích¹, Trần Văn Khánh² và Nguyễn Thị Ngọc Lan^{1,3}

TÓM TẮT

¹Bộ môn Hóa sinh – Đại học Y Hà Nội

²Trung tâm nghiên cứu Gen và Protein – Đại học Y Hà Nội

³Đơn vị xét nghiệm kỹ thuật cao, Khoa xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Ngọc Lan
Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 20.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

Đa hình gen của các gen Protein xuyên màng loại 2 (TMPRSS2) và Protein màng kích thích interferon loại 3 (IFITM3) đã được nhiều nghiên cứu chỉ ra có liên quan đến sự khác biệt về mức độ nghiêm trọng của các bệnh nhân COVID-19 gây ra do virus SARS-CoV-2. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào hai đa hình đơn nucleotide của các gen này bao gồm IFITM3 rs12252 và TMPRSS2 rs12329760. Kết quả cho thấy SNP rs12252 của gen IFITM3 có liên quan đến mức độ nghiêm trọng của bệnh nhân

COVID-19. Trong khi đó, chúng tôi không tìm thấy bất kỳ mối liên quan nào giữa SNP rs12329760 của gen TMPRSS2 với mức độ nghiêm trọng của các bệnh nhân COVID-19 trong tất cả các mô hình gen.

Từ khóa: COVID-19, SARS-CoV-2, Đa hình đơn nucleotide, TMPRSS2, rs12329760, IFITM3, rs12252, Mức độ nghiêm trọng

SUMMARY

THE EFFECT OF IFITM3 rs12252 AND TMPRSS2 rs12329760 TO THE SEVERITY OF COVID-19 DISEASE

The human protein transmembrane protease serine-type 2 (TMPRSS2) plays a key role in SARS-CoV-2 infection, as it is required to activate the virus' spike protein, facilitating entry into target cells. Meanwhile, the interferon-induced transmembrane protein 3 (IFITM3) plays a critical role in the adaptive and innate immune response by preventing membrane hemifusion between the host and viral cell cytoplasm. Recent evidence has linked the TMPRSS2 gene and the IFITM3 gene to the outcomes of coronavirus disease 2019 (COVID-19). In this study, we focus on two polymorphisms of these genes including IFITM3 rs12252 and TMPRSS2 rs12329760. The results showed that the SNP rs12252-C variant was associated with the severity of COVID-19 infection. However, our findings did not support the associations between the TMPRSS2 rs1229760 gene polymorphism and COVID-19 severity in any of the gene models.

Keyword: COVID-19, SARS-CoV-2, Gene polymorphism, TMPRSS2, rs12329760, IFITM3, rs12252, Severity

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Với tốc độ và quy mô lây nhiễm lớn, bệnh viêm đường hô hấp cấp do chủng mới của

virus corona (COVID-19) đã được tổ chức y tế thế giới tuyên bố là đại dịch vào ngày 11 tháng 3 năm 2020. Nguyên nhân gây bệnh COVID-19 đã được phân lập và được xác định là do một chủng virus Corona mới, được đặt tên là virus gây hội chứng hô hấp cấp tính nghiêm trọng Coronavirus-2 (SARS-CoV-2).¹ Với khả năng lây nhiễm mạnh, virus SARS-CoV-2 đã nhanh chóng lây lan ra khắp thế giới, khiến hàng trăm triệu người mắc và hàng triệu người tử vong. Virus lây truyền chủ yếu qua đường giọt bắn, dịch tiết đường hô hấp và tiếp xúc trực tiếp với đường hô hấp trên. Lâm sàng của bệnh rất đa dạng và khác nhau giữa các bệnh nhân, có thể từ không có triệu chứng hoặc biểu hiện triệu chứng nhẹ như sốt, ho, đau đầu, ngạt mũi đến biểu hiện các triệu chứng nặng, nguy kịch như viêm phổi, suy hô hấp nặng và thậm chí tử vong. Đặc biệt, tỷ lệ tử vong cao hơn hẳn ở nhóm bệnh nhân nặng và nguy kịch. Bởi vậy, việc nghiên cứu làm sáng tỏ các yếu tố ảnh hưởng đến nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng là rất cần thiết, là cơ sở cho việc đưa ra các biện pháp nhằm giảm thiểu số ca mắc COVID-19 nghiêm trọng, từ đó giúp giảm tỷ lệ tử vong của bệnh.

TMPRSS2 là một protein enzyme protease xuyên màng loại II, gồm 492 acid amin, có chức năng quan trọng trong quá trình gắn và hòa màng của virus SARS-CoV-2. Cụ thể TMPRSS2 đóng vai trò như một trung gian giúp virus xâm nhập vào tế bào sau khi protein S của virus liên kết với thụ thể bề mặt ACE2 có trên bề mặt tế bào cơ thể chủ. TMPRSS2 giúp các tiểu đơn vị trong protein S của virus SARS-CoV-2 tách nhau ra và đây là điều cần thiết cho quá trình hòa màng và nhập bào của phức hợp thụ thể ACE2-virus.² IFITM3 là protein xuyên màng loại 3, thuộc họ protein kháng virus cảm ứng

interferon. Gene IFITM3 là một gene kích thích interferon, interferon lại đóng vai trò là hàng rào bảo vệ đầu tiên của cơ thể chống lại virus. Vì vậy, gene IFITM3 đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch kháng lại virus SARS-CoV-2. Protein IFITM3 có mặt chủ yếu ở tiêu thể và lysosome, nó ngăn cản sự hợp nhất một phần của màng tế bào virus và màng tế bào chủ ở nhiều loại virus có vỏ như cúm A, Ebola, Marburg hay SARS-CoV-2.³

Một loạt các nghiên cứu được tiến hành từ đầu đại dịch đã chỉ ra đa hình đơn nucleotid trong gene TMPRSS2 và IFITM3 có liên quan đến mức độ biểu hiện bệnh COVID-19, trong đó có TMPRSS2 rs12329760 - một trong những SNP đã được báo cáo có khả năng làm giảm chức năng của protein TMPRSS2 và IFITM3 rs12252 - một biến thể di truyền phổ biến ở các quần thể châu Á. Tuy nhiên có sự không đồng nhất giữa kết quả của các nghiên cứu đã được tiến hành, vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu này trên quần thể người Việt Nam với 2 mục tiêu: 1) Xác định phân bố đa hình đơn nucleotid của gen TMPRSS2 và IFITM3 trên bệnh nhân COVID-19. 2) Đánh giá mối liên quan giữa đa hình đơn nucleotid của gen TMPRSS2 và IFITM3 với nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu:

Đối tượng: 50 bệnh nhân COVID-19 trên 18 tuổi, được chẩn đoán nhiễm virus SARS-CoV-2 dựa vào kết quả xét nghiệm realtime RT-PCR được chia thành 2 nhóm dựa theo “Quyết định 3351/QĐ-BYT Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị covid-19 ban hành ngày 29/07/2020”:

- Nhóm 1: Bệnh nhân mắc COVID-19 không triệu chứng, triệu chứng lâm sàng nhẹ, vừa. Các bệnh nhân chưa được tiêm vắc xin phòng COVID-19 trước khi mắc bệnh.

- Nhóm 2: Bệnh nhân mắc COVID-19 biểu hiện triệu chứng lâm sàng nặng, nguy kịch hoặc tử vong. Các bệnh nhân không mắc các bệnh nền làm tăng nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng, không béo phì, không mang thai với bệnh nhân nữ.

Thiết bị và hóa chất sử dụng: Tách chiết DNA bằng kit QIAamp BLOOD MINI, khuếch đại gen bằng TaqMan™ Universal PCR Master Mix.

Thời gian nghiên cứu: tháng 7/2021 đến tháng 8/2022

Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Đa khoa tỉnh Bắc Giang, Bệnh viện Đa khoa tỉnh Bắc Ninh, Bệnh viện quốc tế Becamex Bình Dương, Bệnh viện COVID-19 Hà Nội; Trung tâm nghiên cứu Gen và Protein - Đại học Y Hà Nội, Bộ môn Hóa sinh – Đại học Y Hà Nội, Đơn vị xét nghiệm Kỹ thuật cao, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

2. Phương pháp nghiên cứu:

Phương pháp nghiên cứu: mô tả cắt ngang

Quy trình nghiên cứu:

- DNA tổng số được tách chiết từ mẫu máu 2ml máu chống đông EDTA theo kit QIAamp BLOOD MINI. Sử dụng máy NanoDrop 2000c để đo nồng độ DNA và độ tinh sạch được xác định thông qua tỷ lệ A260/280.

- Tiến hành phản ứng PCR khuếch đại đoạn các đoạn gen IFITM3 có chứa SNP rs12252 và đoạn gen TMPRSS2 có chứa SNP rs12329760. Thành phần phản ứng PCR (thể tích 10 µl) gồm: 2µl H₂O, 5 µl Taq DNA polymerase, 0,5 µl mỗi xuôi, 0,5 µl mỗi ngược, 2 µl DNA. Chu trình nhiệt của

phản ứng: 95°C trong 5 phút sau đó lặp lại 35 chu kỳ luân nhiệt: [95°C/30 giây, 58°C/30 giây, 72°C/30 giây], bước tiếp theo 72°C trong 10 phút. Bảo quản sản phẩm ở 4°C.

✓ Với SNP rs12252 của gen IFITM3 chúng tôi sử dụng cặp mồi có trình tự: Mồi xuôi: 5'- CACCACTAACAAGAT GAG CCTT -3'; Mồi ngược: 5'- AACAGG GACCAG ACGACAT -3'. Sản phẩm PCR thu được có kích thước 449 bp.

✓ Với SNP rs12329760 của gen TMPRSS2 chúng tôi sử dụng cặp mồi có trình tự: Mồi xuôi: 5'- GAGTGAAGTGTGCTGCCA -3'; Mồi ngược: 5'- TGTTTCTGCTGTCTGTTACTGT -3'. Sản phẩm PCR thu được có kích thước 593 bp.

- Điện di trên gel agarose 1,5% với điện thế 100V trong 30 phút để xác định sự có mặt của sản phẩm PCR.

- Tinh sạch sản phẩm PCR. Xác định IFITM3 SNP rs12252 và TMPRSS2 SNP rs12329760 bằng phương pháp Sanger.

3. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm phân tích SPSS 20.0 để phân tích thống kê. Tỷ lệ kiểu gen và alen trong nhóm nghiên cứu 1 và 2 được so sánh bằng cách sử dụng kiểm định χ^2 hoặc test Fisher (kiểm định 2 phía). Tiến hành phân tích mối liên quan của kiểu gen với nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng bằng hồi quy logistic đa biến để tính tỷ lệ chênh (OR) với khoảng tin cậy 95% (CI). Nếu giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu đã được Hội đồng Đạo đức trường Đại học Y Hà Nội chấp thuận số 546/GCN-HĐĐĐNCYH-ĐHYHN.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của nhóm đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm 1	Nhóm 2	P	
Giới tính: Nam	9 (36%)	13 (52%)	0,254	
	Nữ	16 (64%)		12 (48%)
Tuổi (năm): 18 - 29	4 (16%)	2 (8%)	0,326	
	30 - 49	17 (68%)		13 (52%)
	50 - 64	3 (12%)		7 (28%)
	≥ 65	1 (4%)		3 (12%)
Tuổi trung bình (năm)	40,04 \pm 11,52	47,04 \pm 13,20	0,051	
Chủng virus SARS-CoV-2 mắc phải	Delta			

Chú thích: Nhóm 1 gồm các bệnh nhân COVID-19 mức độ nhẹ, nhóm 2 gồm bệnh nhân nặng/nguy kịch/tử vong

Nghiên cứu tiến hành trên hai nhóm: nhóm 1 gồm 25 bệnh nhân COVID-19 mức độ nhẹ và nhóm 2 gồm 25 bệnh nhân COVID-19 nặng/ nguy kịch/ tử vong có độ tuổi và tỷ lệ giới tính tương ứng với nhóm 1. Sự khác biệt giữa tuổi trung bình, cũng như giữa các nhóm tuổi và tỷ lệ giới tính giữa 2 nhóm nghiên cứu không có ý nghĩa thống kê với p lần lượt là 0,051;

0,326 và 0,254. Ngoài ra, không có sự khác biệt về chủng virus SARS-CoV-2 mắc phải giữa các bệnh nhân tham gia nghiên cứu.

2. Mối liên quan giữa kiểu alen, kiểu gen và nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng

Bảng 2. Mối liên quan giữa SNP rs12252 của gen IFITM3 và nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng

Kiểu gen, kiểu alen		Nhóm 1		Nhóm 2		OR (95%CI)	p
		n	%	n	%		
Kiểu alen	T	19	38	30	60	0,049 (0,183-0,913)	0,028*
	C	31	62	20	40		
Kiểu gen	TT	5	20	7	28		0,014*
	TC	9	36	16	64		
	CC	11	44	2	8		
TT và TC+CC	TT	5	20	7	28	0,643 (0,173-2,388)	0,508
	TC+CC	20	80	18	72		
CC và TT+TC	CC	11	44	2	8	9,036 (1,741-46,890)	0,004*
	TT+TC	14	56	23	92		
TC và TT+CC	TC	9	36	16	64	0,316 (0,100-1,004)	0,048*
	TT+CC	16	64	9	36		

*p<0.05

Kết quả Bảng 2 cho thấy sự phân bố tỷ lệ alen T và C cũng như các kiểu gen TT, TC, CC giữa 2 nhóm nghiên cứu là khác biệt nhau có ý nghĩa thống kê. Nhóm mang kiểu gen CC có nguy cơ mắc COVID-19 nhẹ cao hơn nặng gấp khoảng 9 lần, kiểu gen TC là kiểu gen làm tăng nguy cơ mắc COVID-19 nặng so với các nhóm còn lại.

Bảng 3. Mối liên quan giữa SNP rs12329760 của gen TMPRSS2 và nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng

Kiểu gen, kiểu alen		Nhóm 1		Nhóm 2		OR (95%CI)	p
		n	%	n	%		
Kiểu alen	A	18	36	19	38	0,918 (0,407-2,067)	0,836
	G	32	64	31	62		
Kiểu gen	AA	4	16	4	16		1,000
	AG	10	40	11	44		
	GG	11	44	10	40		
AA và AG+GG	AA	4	16	4	16	1,000 (0,220-4,536)	1,000
	AG+GG	21	84	21	84		
GG và AA+AG	GG	11	44	10	40	1,179 (0,383-3,627)	0,774
	AA+AG	14	56	15	60		
AG và AA+GG	AG	10	40	11	44	0,848 (0,276-2,611)	0,774
	AA+GG	15	60	14	56		

Kết quả bảng 3 cho thấy sự phân bố tỷ lệ alen A và G giữa 2 nhóm nghiên cứu khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p=0,836$. Tỷ lệ các kiểu gen AA, AG, GG giữa 2 nhóm cũng không có sự khác biệt với $p=1,000$.

IV. BÀN LUẬN

Một loạt các nghiên cứu từ đầu đại dịch đã chỉ ra có rất nhiều yếu tố khác nhau có thể làm tăng nguy cơ mắc bệnh trầm trọng ở những bệnh nhân COVID-19. Những yếu tố đó bao gồm môi trường, điều kiện y tế, yếu tố liên quan đến virus SARS-CoV-2 và những yếu tố liên quan đến bản thân người bệnh (bao gồm chủng tộc, tuổi cao, giới nam, bệnh nền và kiểu gen).⁴ Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã cố gắng tuyển chọn những người tham gia nghiên cứu không có sự khác biệt về chủng virus SARS-CoV-2 mắc phải, đồng thời không có sự khác biệt về một số yếu tố liên quan đến bản thân người bệnh như tuổi, giới tính và bệnh nền (với $p>0,05$) để nhằm hạn chế tối đa những ảnh hưởng của các yếu tố nguy cơ này lên kết quả nghiên cứu.

Alen C của SNP rs12252 gen IFITM3 đã được phát hiện có liên quan đáng kể tới mức độ nghiêm trọng của bệnh cúm virus A H1N1 và H7N9 ở người châu Á và da trắng.³ Một số nghiên cứu khác về mối liên quan giữa SNP này với bệnh COVID-19 cũng đã cho thấy có mối liên quan giữa SNP rs12252 với mức độ nghiêm trọng của bệnh.⁵ Như trong nghiên cứu của Zhang và cộng sự trên nhóm người Trung Quốc, đã quan sát thấy tần suất mang alen rs12252 C cao hơn đáng kể ở những bệnh nhân mắc COVID-19 nặng ($N=24$) so với những bệnh nhân mắc COVID-19 nhẹ ($N=56$).⁵ Nghiên cứu khác

trên quần thể người Tây Ban Nha cũng chỉ ra rằng người mang alen C của SNP rs12252 có nguy cơ nhiễm SARS-CoV-2 tăng gấp 2 lần ($N=311$) so với nhóm tham chiếu ($N=440$).⁵ Tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả lại cho thấy alen C của SNP rs12252 dường như là một yếu tố bảo vệ. Cụ thể người mang kiểu gen CC có nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng giảm 9,036 lần so với người mang kiểu gen TC và TT ($p=0,004$). Kết quả này không tương đồng với nghiên cứu của Zhang, tuy nhiên lại phù hợp với kết quả của Mills tìm thấy mối liên hệ giữa rs12252 mang kiểu gen CC nhạy cảm với thể cúm nhẹ.⁶ Sự khác biệt này có thể giải thích là do sự khác biệt về các yếu tố chủng tộc bên cạnh đó có thể còn nhiều yếu tố tương tác về gen và môi trường nữa cần được tìm hiểu để làm sáng tỏ sự khác biệt này. Ngoài ra, do nghiên cứu của chúng tôi hiện mới dừng lại ở quy mô một nghiên cứu thăm dò, do đó cỡ mẫu của nghiên cứu còn rất khiêm tốn. Để có kết quả khẳng định về ảnh hưởng của alen này cần tiến hành một nghiên cứu tương tự trên cỡ mẫu lớn hơn.

SNP rs12329760 của gene TMPRSS2 đã được nhiều nghiên cứu báo cáo như một yếu tố bảo vệ khỏi nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng.⁷ Điều này được lý giải do SNP này làm giảm chức năng của protein TMPRSS2 - protein có vai trò quan trọng trong quá trình xâm nhập vào trong tế bào của virus SARS-CoV-2. Tuy nhiên, một số nghiên cứu khác lại cho kết quả không có mối liên quan giữa SNP này với mức độ bệnh của bệnh nhân.⁸ Trong nghiên cứu này, kết quả của chúng tôi cũng chỉ ra không có mối liên quan giữa SNP rs12329760 của gen

TMPRSS2 và nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng. Bỏ qua những yếu tố nhiễu khác chúng tôi chưa thể loại trừ một cách tuyệt đối như đã nêu ở trên, điều này một lần nữa cho thấy, có thể sự khác biệt về chủng tộc đã dẫn tới thay đổi các tác động về mặt di truyền.

V. KẾT LUẬN

Các cá thể mang alen C của SNP rs12252 ít có nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng hơn các cá thể không mang alen này với $p < 0,05$. Cá thể mang kiểu gen CC có nguy cơ mắc COVID-19 nghiêm trọng giảm 9,036 lần so với người mang kiểu gen TC và TT với $p = 0,004$.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng đồng thời cho thấy, SNP rs12329760 của gene TMPRSS2 không có liên quan với mức độ bệnh của bệnh nhân COVID-19.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. WHO Director-General's opening remarks at the mission briefing on COVID-19. <https://www.who.int/director-general/speeches/detail/who-director-general-s-opening-remarks-at-the-mission-briefing-on-covid-19>. Accessed April 21, 2021.
2. Davidson AM, Wysocki J, Batlle D. Interaction of SARS-CoV-2 and Other Coronavirus With ACE (Angiotensin-Converting Enzyme)-2 as Their Main Receptor. *Hypertens Dallas Tex* 1979. September 2020. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15256
3. Chen T., Xiao M., Yang J., Chen Y.K., Bai T., Tang X.J., Shu Y.L. Association between rs12252 and influenza susceptibility and severity: an updated meta-analysis. *Epidemiol. Infect.* 2018;1–9. doi: 10.1017/S0950268818002832.
4. Perone G. The determinants of COVID-19 case fatality rate (CFR) in the Italian regions and provinces: An analysis of environmental, demographic, and healthcare factors. *Sci Total Environ.* 2021;755:142523. doi:10.1016/j.scitotenv.2020.142523
5. Suh S, Lee S, Gym H, et al. A systematic review on papers that study on Single Nucleotide Polymorphism that affects coronavirus 2019 severity. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):47. doi:10.1186/s12879-022-07034-w
6. Mehrbod P, Eybpoosh S, Fotouhi F, Shokouhi Targhi H, Mazaheri V, Farahmand B. Association of IFITM3 rs12252 polymorphisms, BMI, diabetes, and hypercholesterolemia with mild flu in an Iranian population. *Virology J.* 2017;14(1):218. doi:10.1186/s12985-017-0884-4
7. Li J, Wang Y, Liu Y, et al. Polymorphisms and mutations of ACE2 and TMPRSS2 genes are associated with COVID-19: a systematic review. *Eur J Med Res.* 2022;27(1):26. doi:10.1186/s40001-022-00647-6
8. Schönfelder K, Breuckmann K, Elsner C, et al. Transmembrane serine protease 2 Polymorphisms and Susceptibility to Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus Type 2 Infection: A German Case-Control Study. *Front Genet.* 2021;12. Accessed September 23, 2022. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2021.667231>

MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA CÁC PROTEIN DINH DƯỠNG VỚI MỘT SỐ CHỈ SỐ ĐÁNH GIÁ NGUY CƠ NHIỄM TRÙNG CỦA BỆNH NHÂN NẪM VIỆN TẠI KHOA HSTC BỆNH VIỆN E

Hán Minh Thủy¹, Nguyễn Kim Chung², Trần Thanh Vân²
Vũ Thị Dương Liễu², Nguyễn Thị Bình Minh², Trần Minh Hiếu³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát tình trạng các protein dinh dưỡng: Albumin, prealbumin, protein toàn phần huyết tương của bệnh nhân tại khoa hồi sức tích cực (HSTC) và tìm mối tương quan giữa các protein dinh dưỡng với một số chỉ số đánh giá nguy cơ nhiễm trùng. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu hồi cứu kết hợp tiền cứu, mô tả, cắt ngang trên 122 bệnh nhân nằm viện tại khoa HSTC – Bệnh viện E từ tháng 1/2022 đến tháng 6 năm 2022. **Kết quả:** Trong số 122 bệnh nhân, có 77 nam (63,1%), 45 nữ (36,9%), tỷ lệ nam: nữ = 1,7:1, tuổi trung bình $68,48 \pm 17,76$ (16-99 tuổi). Tỷ lệ bệnh lý thường gặp nhất là viêm phổi (70,49%), sốc nhiễm khuẩn (35,26%), chấn thương sọ não (16,39%). Thời gian nằm viện điều trị trung bình $21,77 \pm 18,36$ ngày. Nồng độ albumin, prealbumin, protein toàn phần huyết tương trung bình lần lượt là $30,49 \pm 6,66$ g/l; $0,13 \pm 0,092$ g/l; $60,39 \pm 9,82$ g/l. Tỷ lệ giảm albumin, protein huyết tương là 77,9% và 46,3%. Tỷ lệ giảm prealbumin nặng, có nguy cơ suy dinh dưỡng cao, chiếm 48,4%. Các protein dinh dưỡng tương quan nghịch mức độ yếu có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) với chỉ số procalcitonin, hệ số tương quan: prealbumin ($r = -0,234$, $p = 0,001$),

albumin ($r = -0,293$, $p = 0,01$), ($r = -0,251$, $p = 0,006$). Trong 37 bệnh nhân có kết quả IL-6, IL-6 có mối tương quan nghịch mức độ vừa với albumin ($r = -0,512$, $p = 0,001$), protein toàn phần ($r = -0,487$, $p = 0,002$). Prealbumin có tương quan với IL-6 tuy nhiên mức độ yếu và chưa có ý nghĩa thống kê ($r = -0,251$, $p = 0,134$). **Kết luận:** Nồng độ albumin, prealbumin, protein toàn phần huyết tương của bệnh nhân nằm viện trung bình lần lượt là $30,49 \pm 6,66$ g/l, $0,13 \pm 0,092$ g/l, $60,39 \pm 9,82$ g/l. Các protein dinh dưỡng đều có mối tương quan nghịch với một số chỉ số nguy cơ nhiễm trùng như: procalcitonin, IL-6.

Từ khóa: Protein dinh dưỡng, nhiễm trùng, prealbumin, procalcitonin.

SUMMARY

THE CORRELATION BETWEEN NUTRITION PROTEINS AND SOME INDICATORS FOR ASSESSING INFECTION RISK OF HOSPITALIZED PATIENTS AT THE INTENSIVE CARE UNIT OF E HOSPITAL

Objectives: To investigate the status of nutrition proteins: albumin, prealbumin, total plasma protein of patients at the ICU and find the correlation between nutritional proteins with some indicators of infection risk. **Subjects and methods:** A retrospective combined prospective, descriptive, cross-sectional study was performed on 122 hospitalized patients at ICU, E Hospital from January 2022 to June 2022. **Result:** Out of 122 patients, there were 77 men (63,1%), 45

¹Tường Đại học Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội.

²Khoa Hóa sinh, Bệnh viện E

³Khoa Hồi sức tích cực-Bệnh viện E

Chịu trách nhiệm chính: Hán Minh Thủy

Email: hanminhthuy@gmail.com

Ngày nhận bài: 20.9.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

women (36,9%), giving a male to female ratio of 1,7:1, mean age $68,48 \pm 17,76$ (range from 16 to 99 years old). The most common disease rates were pneumonia (70,49 %), septic shock (35,26%), traumatic Brain Injury (16,39%). The average length of stay in hospital was $21,77 \pm 18,36$ days. The average plasma albumin, prealbumin, and total protein concentrations were $30,49 \pm 6,66$ g/l ; $0,13 \pm 0,092$ g/l; $60,39 \pm 9,82$ g/l, respectively. The rate of reduction of albumin, plasma protein was 77.9% and 46,3%. The rate of severe prealbumin reduction, with a high risk of malnutrition, accounted for 48,4%. Nutrition proteins were negatively correlated with statistical significance ($p < 0.05$) with procalcitonin index, include: prealbumin ($r = -0,234$, $p = 0,001$), albumin ($r = -0,293$), $p = 0,01$), ($r = -0,251$, $p = 0,006$). In 37 patients with IL-6 results, IL-6 had a moderately negative correlation with albumin ($r = -0,512$, $p = 0,001$) and total protein ($r = -0,487$, $p = 0,002$). Prealbumin had a correlation with IL-6, but the level was weak and not statistically significant ($r = -0,251$, $p = 0,134$). **Conclusion:** The average plasma albumin, prealbumin, and total protein concentrations of hospitalized patients were $30,49 \pm 6,66$ g/l, $0,13 \pm 0,092$ g/l, $60,39 \pm 9,82$ g/l, respectively. Nutrition proteins had a negative correlation with some infection risk indicators such as: procalcitonin, IL-6.

Keywords: nutrition proteins, infection, prealbumin, procalcitonin.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Hiệp hội dinh dưỡng lâm sàng và chuyển hóa Châu Âu (EPSEN) suy dinh dưỡng liên quan bệnh lý là tình trạng thường gặp ở bệnh nhân nội trú, đặc biệt là bệnh nhân mắc bệnh mạn tính và bệnh nhân nặng điều trị tại khoa hồi sức tích cực (HSTC) do tình trạng bệnh lý làm tăng cường quá trình

đị hóa các chất dinh dưỡng, điển hình là protein và tăng nhu cầu về năng lượng[1]. Ở Việt Nam, các nghiên cứu cho thấy tỷ lệ lớn hơn, lên tới 77% như nghiên cứu tại khoa thận nhân tạo, bệnh viện Bạch Mai[2]. Suy dinh dưỡng góp phần làm nặng mức độ bệnh, giảm khả năng phục hồi sau bệnh, kéo dài thời gian nằm viện, gây tăng chi phí điều trị thậm chí dẫn tới tăng tỷ lệ tử vong. Một trong các yếu tố gây ra hậu quả trên đó là cơ chế tương tác hai chiều giữa suy dinh dưỡng và nhiễm trùng.

Suy dinh dưỡng làm tăng đáng kể tính nhạy cảm và mức độ nghiêm trọng của các bệnh nhiễm trùng do sự suy giảm hệ thống miễn dịch, đặc biệt là miễn dịch qua trung gian tế bào với sự teo đi của các mô lympho[3]. Khả năng nhiễm khuẩn bệnh viện gặp ở bệnh nhân suy dinh dưỡng protein, năng lượng là rất cao, kèm theo các yếu tố nguy cơ nhiễm trùng của bệnh nhân nặng như thở máy dài ngày, ứ đọng dịch tiết, loét do tỳ đè...tạo điều kiện thuận lợi để nhiễm trùng phát triển. Ngược lại, trong quá trình viêm, nhiễm trùng, cơ thể kích hoạt đáp ứng viêm hệ thống, sản xuất các protein pha cấp và các chất trung gian hóa học, giảm tổng hợp các protein huyết tương làm trầm trọng thêm tình trạng thiếu hụt dinh dưỡng. Các protein gan hiện nay cũng đang được coi là dấu ấn đánh giá nguy cơ suy dinh dưỡng lâm sàng kết hợp với các bảng kiểm dinh dưỡng. Như vậy, việc tìm hiểu mối quan hệ giữa tình trạng nhiễm trùng và sự thay đổi nồng độ của các protein dinh dưỡng sẽ giúp bác sĩ có sự đánh giá chính xác hơn về mức độ thiếu hụt dinh dưỡng ở bệnh nhân có nhiễm trùng cũng như ảnh hưởng của tình trạng viêm nhiễm đến sự suy giảm protein. Do đó, nhóm nghiên cứu thực hiện đề tài "*Khảo sát mối tương quan giữa protein dinh dưỡng với một*

số chỉ số đánh giá nguy cơ nhiễm trùng của bệnh nhân nằm viện tại khoa HSTC bệnh viện E” với 2 mục tiêu: Khảo sát tình trạng các protein dinh dưỡng: Albumin, Prealbumin, protein toàn phần huyết tương của bệnh nhân tại khoa HSTC và Đánh giá mối tương quan giữa các protein dinh dưỡng với một số chỉ số đánh giá nguy cơ nhiễm trùng của bệnh nhân.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu:

Các bệnh nhân điều trị tại khoa Hồi sức tích cực bệnh viện E thỏa mãn :

• **Tiêu chuẩn lựa chọn:** Bệnh nhân có thời gian nằm viện điều trị tại khoa HSTC từ 5 ngày trở lên. Lựa chọn khoảng thời gian 5 ngày dựa trên khuyến cáo của Hiệp hội dinh dưỡng đường tiêu hóa và ngoài tiêu hóa Hoa Kỳ - ASPEN (bệnh nhân có sụt giảm dinh

dưỡng đáng kể sau 5 ngày không được đáp ứng đủ nhu cầu dinh dưỡng)

• Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh nhân dưới 18 tuổi do khác biệt về khoảng tham chiếu của các chỉ số xét nghiệm
- Bệnh nhân xuất viện, chuyển khoa, tử vong trước 5 ngày
- Bệnh nhân được truyền Albumin nuôi dưỡng trong vòng 14 ngày trước khi chọn vào nghiên cứu

2. Phương pháp nghiên cứu: Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang, tiến cứu kết hợp hồi cứu. Chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện. Thời gian nghiên cứu: tháng 1/2022 đến tháng 6/2022. Phân tích mẫu: Mẫu máu sau khi của bệnh nhân được thu thập sẽ ly tâm với tốc độ 3500v/5 phút và phân tích trên máy Beckman Coulter AU5800 và Roche Cobas 6000. Phân tích số liệu: Các số liệu được phân tích trên phần mềm SPSS 20.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung nhóm bệnh nhân nghiên cứu:

Bảng 3.1.1. Đặc điểm về tuổi và giới của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Mean \pm SD			Min	Max
	Tổng	Nam (n = 77)	Nữ (n=45)		
Tuổi (năm)	68,48 \pm 17,76	65 \pm 19,48	74,38 \pm 12,5	16	99
Giới (%)	100	63,1	36,9		

Độ tuổi tham gia nghiên cứu ở nhóm tuổi khá cao với trung bình là 68,48 tuổi, cao nhất là 99 tuổi, trong đó tuổi trung bình ở nữ cao hơn ở nam với 74,38 \pm 12,5 so với 65 \pm 19,48. Tỷ lệ nam giới (63,1%) nằm viện cao hơn nữ (36,9%), chênh lệch nam: nữ = 1,7:1.

Bảng 3.1.2. Phân bố bệnh nhân theo tình trạng bệnh lý

Bệnh lý	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Viêm phổi	86	70,49
Sốc nhiễm khuẩn/Nhiễm khuẩn huyết	43	35,26
Chấn thương sọ não	20	16,39
Đa chấn thương	17	13,93
Sau phẫu thuật	36	29,5
Đột quy	11	9,02
Ngộ độc	6	6

Nhóm bệnh nhân nghiên cứu điều trị tại khoa HSTC chủ yếu là nhóm bệnh nhiễm trùng: Viêm phổi (70,49%) và sốc nhiễm khuẩn trên nền nhiễm khuẩn huyết (35,26%), sau đó là bệnh lý chấn thương.

Bảng 3.1.3. Đặc điểm về thời gian nằm viện

Đặc điểm	Tổng	Min	Max	Mean \pm SD
Số ngày điều trị (ngày)	122	5	126	21,77 \pm 18,36

Trong 122 bệnh nhân, thời gian nằm điều trị tại khoa HSTC khá dài, trung bình 21,77 \pm 18,36 ngày, cao nhất là 126 ngày.

3.2. Đặc điểm về protein dinh dưỡng:

Bảng 3.2.1. Đặc điểm chung về nồng độ protein dinh dưỡng

Protein	Tổng	Min	Max	Mean \pm SD
Albumin (g/l)	122	14,4	46,1	30,49 \pm 6,66
Prealbumin (g/l)	122	0,01	0,41	0,13 \pm 0,092
Protein toàn phần (g/l)	121	37,7	83,7	60,49 \pm 9,82

Nhóm bệnh nhân nghiên cứu có nồng độ albumin và prealbumin lần lượt là 30,49 \pm 6,66 (g/l) và 0,13 \pm 0,092 (g/l), thấp hơn so với khoảng tham chiếu. Nồng độ protein toàn phần huyết tương thay đổi không đáng kể so với bình thường.

Bảng 3.2.2. Phân bố bệnh nhân theo mức độ giảm của prealbumin

Prealbumin	Giới tính		Tổng	p
	Nam (n = 77)	Nữ (n = 45)		
Có nguy cơ suy dinh dưỡng cao (<0,1g/l)	32 (54,27%)	27 (45,78%)	59 (48,4%)	0,148
Có nguy cơ suy dinh dưỡng nhẹ (0,1-0,2 g/l)	25 (65,78%)	13 (34,22%)	38 (31,1%)	
Bình thường (>0,2 g/l)	19 (76%)	6 (33%)	25 (20,5%)	

Tỷ lệ giảm prealbumin nặng, có nguy cơ suy dinh dưỡng cao, chiếm 48,4%, nguy cơ suy dinh dưỡng nhẹ 31,1%. Trong đó nam giới chiếm 54,27%, nữ giới chiếm 45,78%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở 2 giới.

Bảng 3.2.3. Phân bố bệnh nhân theo albumin và protein toàn phần

Protein	Giới		Tổng	p
	Nam (n = 77)	Nữ (n = 45)		
Albumin				
Giảm (<35 g/l)	58 (61,05%)	37 (38,95%)	95 (77,9%)	0,595
Bình thường (>35 g/l)	18 (66,6%)	9 (33,4%)	27 (21,2%)	
Protein toàn phần				
Giảm (<60g/l)	33 (58,93%)	23 (41,07%)	56 (46,3%)	0,521
Bình thường (60-80 g/l)	42 (64,61%)	23 (35,39%)	65 (53,7%)	

Tỷ lệ giảm albumin, protein huyết tương là 77,9% và 46,3%. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở 2 giới.

3.3. Mối tương quan giữa protein dinh dưỡng và một số chỉ số đánh giá nguy cơ nhiễm trùng:

Bảng 3.3.1. Tương quan của protein dinh dưỡng với chỉ số nguy cơ nhiễm trùng

Protein dinh dưỡng	Bạch cầu		Procalcitonin		IL-6	
	r	p	r	p	r	p
Prealbumin (g/l)	0,03	0,744	-0,234	0,001	-0,251	0,134
Albumin (g/l)	0,074	0,405	-0,283	0,01	-0,512	0,001
Protein toàn phần (g/l)	0,082	0,374	-0,251	0,006	-0,487	0,002

Từ bảng trên cho thấy mối tương quan giữa các chỉ số protein dinh dưỡng và bạch cầu rất thấp, không có ý nghĩa thống kê. Có mối tương quan nghịch mức độ yếu giữa các chỉ số protein dinh dưỡng và Procalcitonin với chỉ số r lần lượt là -0,234; -0,283; -0,251, mối tương quan đều có ý nghĩa thống kê. Trong 37 bệnh nhân có kết quả IL-6, IL-6 có mối tương quan nghịch mức độ vừa với albumin ($r = -0,512$, $p=0,001$), protein toàn phần ($r = -0,487$, $p=0,002$). Prealbumin có tương quan với IL-6 tuy nhiên mức độ yếu và chưa có ý nghĩa thống kê ($r = -0,251$, $p=0,134$).

IV. BÀN LUẬN

Trong thời gian nghiên cứu từ tháng 1/2022 đến tháng 6/2022, nhóm nghiên cứu thu thập được 122 trường hợp bệnh thỏa mãn đủ điều kiện lựa chọn vào nghiên cứu. Đa số bệnh nhân nghiên cứu có tuổi đời cao, trung bình là trên 60 tuổi ($68,48 \pm 17,76$), với người cao tuổi nhất là 99 tuổi. Đây cũng là nhóm đối tượng dễ bị ảnh hưởng bởi tình trạng suy dinh dưỡng bệnh lý và nhiễm trùng. Kết quả này tương đương với nghiên cứu của Nguyễn Thị Thư tại khoa hồi sức

truyền nhiễm tại bệnh viện 108[4]. Số bệnh nhân nam trong nghiên cứu là 77/122 chiếm 63,1%, nữ giới chiếm 36,9%, tỷ lệ nam: nữ trong nghiên cứu của chúng tôi là 1,7:1, gặp ở nam nhiều hơn nữ. Về đặc điểm bệnh lý, nhóm bệnh nhân nghiên cứu điều trị tại khoa HSTC chủ yếu là nhóm bệnh nhiễm trùng: Viêm phổi (70,49%) và sốc nhiễm khuẩn trên nền nhiễm khuẩn huyết (35,26%), sau đó là bệnh lý chấn thương (chấn thương sọ não 16,39%, đa chấn thương (13,93%). Trong đó, nhiều đối tượng có bệnh lý kèm theo là đái tháo đường và tăng huyết áp kết hợp với tình trạng tuổi cao, khiến cho các bệnh lý liên quan đến nhiễm trùng chiếm tỷ lệ lớn. Vì vậy, thời gian nằm điều trị nội trú tại bệnh viện khá dài, $21,77 \pm 18,36$ ngày, điều trị lâu nhất là 126 ngày. Điều này phù hợp với sự phân bố về tuổi và bệnh lý của nhóm đối tượng nghiên cứu.

Ngoài các chỉ số nhân trắc học về dinh dưỡng như chỉ số khối BMI, chu vi vòng cánh tay,..., các chỉ số hóa sinh cũng góp phần phản ánh tình trạng dinh dưỡng của bệnh nhân, đặc biệt nhóm bệnh nhân điều trị nội trú ở viện do sự kiểm soát chặt chẽ hơn về chế độ ăn và dịch truyền dinh dưỡng. Các

protein gan đang được coi là dấu ấn đánh giá nguy cơ suy dinh dưỡng lâm sàng kết hợp với các bảng kiểm dinh dưỡng nhằm mục đích theo dõi và can thiệp dinh dưỡng. Nồng độ albumin và prealbumin trong nghiên cứu lần lượt là $30,49 \pm 6,66$ (g/l) và $0,13 \pm 0,092$ (g/l), thấp hơn so với khoảng tham chiếu. Nồng độ protein toàn phần huyết tương thay đổi không đáng kể so với bình thường. Tỷ lệ giảm albumin, protein huyết tương là 77,9% và 46,3%. Kết quả này có sự chênh lệch so với các nghiên cứu khác, cụ thể nghiên cứu của Atrash hồi cứu trên 247 bệnh nhân nhập HSTC do các bệnh lý khác nhau thấy rằng mức albumin thấp nhất khi nhập viện là 8g/l và cao nhất là 43g/l. Tỷ lệ giảm albumin máu là 93,9% khi nhập viện và 99,4% sau 48 giờ[5]. Theo Bùi Thị Thanh Hà khảo sát tại Trung tâm HSTC – chống độc Bạch Mai có 45,2% các bệnh nhân giảm albumin máu[6]. Sự khác nhau này có thể giải thích do sự khác biệt về độ lớn của quần thể nghiên cứu, điều kiện chăm sóc tại khoa và bệnh lý kèm theo của đối tượng nghiên cứu. Bên cạnh đó, tỷ lệ giảm protein là 46,3%, vì protein toàn phần là đại lượng tổng hợp gồm nhiều thành phần protein do đó ít có sự thay đổi lớn về protein toàn phần và mất thời gian dài quan sát. Ngược lại, với đặc điểm thời gian bán hủy ngắn, prealbumin cho thấy ưu điểm hơn khi được sử dụng để khảo sát tình trạng dinh dưỡng. Trong nhóm nghiên cứu, tỷ lệ giảm prealbumin nặng, có nguy cơ suy dinh dưỡng cao, chiếm 48,4%, nguy cơ suy dinh dưỡng nhẹ 31,1%. Như vậy tỷ lệ giảm prealbumin là 79,5%. Tỷ lệ trên khá cao so với một số nghiên cứu như: Bùi Thị Thanh Hà (63%), Devoto (60%), Malcom Robinson

(50,6%)[7],[8]. Với đối tượng nghiên cứu chủ yếu là người cao tuổi có nhiều bệnh lý kèm theo dẫn tới tỷ lệ giảm prealbumin của nghiên cứu cao hơn so với các nghiên cứu khác.

Trong nhóm đối tượng nghiên cứu, bước đầu đã tìm thấy mối tương quan giữa sự giảm protein dinh dưỡng như: prealbumin, albumin, protein toàn phần và các chỉ số chỉ điểm cho sự nhiễm trùng hoặc đáp ứng viêm hệ thống của cơ thể. Phần lớn các mối tương quan là tương quan nghịch giữa các protein với Procalcitonin, bạch cầu và IL-6. Trong đó, prealbumin có hệ số tương quan $r = -0,234$, mang ý nghĩa thống kê $p=0,001$, albumin ($r = -0,293$, $p=0,01$), protein toàn phần ($r = -0,251$, $p=0,006$) với Procalcitonin. Trong 37 bệnh nhân có kết quả IL-6, IL-6 có mối tương quan nghịch mức độ vừa với albumin ($r = -0,512$, $p=0,001$), protein toàn phần ($r = -0,487$, $p=0,002$). Prealbumin có tương quan với IL-6 tuy nhiên mức độ yếu và chưa có ý nghĩa thống kê ($r = -0,251$, $p=0,134$). Đối với bạch cầu, mối tương quan với các protein không đáng kể. Một số nghiên cứu trên thế giới cũng đang quan tâm đến vấn đề liên hệ mật thiết giữa dinh dưỡng và nhiễm trùng này ở các bệnh lý đơn lẻ: bệnh lý thận cấp tính, đột quỵ thiếu máu, nhiễm khuẩn huyết... Đa phần thấy rằng, trong trạng thái nhiễm trùng, cơ thể tiêu tốn năng lượng và protein để đáp ứng với tình trạng viêm nhiễm dẫn tới có sự suy giảm nồng độ protein huyết tương. Ngược lại, đối với bệnh nhân đang tồn tại tình trạng thiếu hụt về dinh dưỡng, nguy cơ nhiễm trùng rất dễ xảy ra. Mặc dù trong nghiên cứu ở đây, các mối tương quan chưa chặt chẽ do có

nhiều yếu tố nhiều gây ảnh hưởng đến nồng độ protein như: tình trạng phù, ứ dịch, rối loạn điện giải, bệnh lý thận gây thất thoát protein... nhưng đã cung cấp cơ sở cho giả thuyết có mối tương quan giữa tình trạng giảm protein với các chỉ số đáp ứng viêm nhiễm, giúp bác sĩ lâm sàng nhìn nhận toàn diện hơn sự suy dinh dưỡng protein nặng lượng và mức độ nhiễm trùng của bệnh nhân.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ albumin, prealbumin, protein toàn phần huyết tương của bệnh nhân nằm viện trung bình lần lượt là $30,49 \pm 6,66$ g/l, $0,13 \pm 0,092$ g/l, $60,39 \pm 9,82$ g/l. Các protein dinh dưỡng đều có mối tương quan nghịch với một số chỉ số nguy cơ nhiễm trùng như: procalcitonin, IL-6.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Thị Thanh Hà**, Khảo sát tình trạng dinh dưỡng của bệnh nhân nằm viện tại Trung tâm chống độc bệnh viện Bạch Mai, Trường Đại học Dược Hà Nội, Luận văn dược sĩ, 2011.
2. **Nguyễn Thị Vân Anh, Trần Thị Phúc Nguyệt**, “Thực trạng tư vấn dinh dưỡng tại bệnh viện Bạch Mai năm 2008,” Tạp Chí Dinh Dưỡng Và Thực Phẩm, vol. 4, pp. 3–4, 2008.
3. **Thư N. T., Hiền N. T. T., Dũng T. V., and Phú N. Đ.**, “Đánh giá tình trạng dinh dưỡng và các yếu tố liên quan trên bệnh nhân nặng tại khoa hồi sức truyền nhiễm bệnh viện trung ương quân đội 108,” p. 7.
4. **A. K. Atrash and K. de Vasconcellos**, “Low albumin levels are associated with mortality in the critically ill: A retrospective observational study in a multidisciplinary intensive care unit,” South. Afr. J. Crit. Care, vol. 36, no. 2, p. 10.7196/SAJCC.2020.v36i2.422, Dec. 2020, doi: 10.7196/SAJCC.2020.v36i2.422.
5. **G. Devoto et al.**, “Prealbumin serum concentrations as a useful tool in the assessment of malnutrition in hospitalized patients,” Clin. Chem., vol. 52, no. 12, pp. 2281–2285, Dec. 2006, doi: 10.1373/clinchem.2006.080366.
6. **P. Singer et al.**, “ESPEN guideline on clinical nutrition in the intensive care unit,” Clin. Nutr., vol. 38, no. 1, pp. 48–79, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.clnu.2018.08.037.
7. “**SciELO - Brazil - Impact of malnutrition on immunity and infection Impact of malnutrition on immunity and infection.**” <https://www.scielo.br/j/jvatitd/a/QF8cJsh7MjgRNx9qd8Svqyp/?lang=en> (accessed Jun. 02, 2022).
8. **M. Robinson, E. Trujillo, K. Mogensen, J. Rounds, K. McManus, and D. Jacobs**, “Improving nutritional screening of hospitalized patients: the role of prealbumin,” J. Parenter. Enter. Nutr., vol. 27, no. 6, pp. 389–395, 2003, doi: 10.1177/0148607103027006389

SO SÁNH TƯƠNG ĐỒNG VỀ KẾT QUẢ SOI CẶN NƯỚC TIỂU TRÊN HỆ THỐNG MÁY TỰ ĐỘNG VÀ BẢNG KÍNH HIỂN VI THỦ CÔNG

Lê Hoàng Bích Nga¹, Nguyễn Quỳnh Hương¹ và Nguyễn Thị Ngọc Lan¹.

TÓM TẮT

Đánh giá sự tương đồng kết quả xét nghiệm từ hai hay nhiều phương pháp thực hiện cùng xét nghiệm là công việc cần thiết để đảm bảo chất lượng xét nghiệm, giúp cung cấp các kết quả xét nghiệm chính xác, tin cậy cho chẩn đoán và điều trị. **Mục tiêu nghiên cứu:** “Đánh giá độ tương đồng kết quả soi cặn giữa máy tiểu tự động với phương pháp thủ công bằng kính hiển vi quang học tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội”. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 101 mẫu nước tiểu từ các bệnh nhân có chỉ định xét nghiệm cặn nước tiểu tại bệnh viện được thu thập và tiến hành xét nghiệm đồng thời bằng hai phương pháp soi cặn nước tiểu thủ công và trên máy soi cặn tự động. Kết quả thu được được xử lý và so sánh bằng tỷ lệ tương đồng (Concordance rate) và hệ số tương đồng Weighted Kappa. **Kết quả:** Tỷ lệ tương đồng (Concordance rate) cao ở tất cả các chỉ số nghiên cứu, hệ số Weighted Kappa chỉ dao động ở mức độ trung bình khá với điểm Kappa cao nhất ở chỉ số Calci oxalat (0,67), sau đó là hồng cầu (0,55) và bạch cầu (0,50), điểm Weighted Kappa thấp đối với biểu mô vảy (0,42) và kém nhất là trụ bệnh (0,25).

Từ khóa: Xét nghiệm cặn nước tiểu, so sánh tương đồng, xét nghiệm cặn nước tiểu thủ công, máy phân tích nước tiểu tự động.

SUMMARY

THE COMPARISON OF URINE SEDIMENTS RESULTS USING AUTOMATIC ANALYZER AND MICROSCOPY

The comparison of methods experiment is critical for assessing the systematic errors that occur with real patient specimens, the agreement of the instruments and ensure the quality within one laboratory. **Methods:** 101 urine samples from patients with indications for urine sediment testing at the hospital were collected and tested simultaneously by two methods of manual and machine-based urine sediment analysis, automatic descaling. The obtained results are processed and compared by the similarity rate (Concordance rate) and the similarity coefficient Weighted Kappa. **Results:** Concordance rate are good in all researched indexes, the Weighted Kappa coefficient fluctuated only at a fairly average level with the highest Kappa score in the Calcium oxalate index (0,67). followed by erythrocytes (0,55) and white blood cells (0,50), low Weighted Kappa score for squamous epithelium (0,42) and worst for cast (0,25).

Keywords: Urine sediment test, similarity comparison, manual urine sediment test, automatic urinalysis machine.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nước tiểu có những thành phần hữu hình được tạo thành trong quá trình chuyển hóa hay bệnh lý và được đào thải qua thận ra nước tiểu. Xét nghiệm soi cặn nước tiểu để tìm các thành phần hữu hình trong nước tiểu

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Ngọc Lan

Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 20.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

như: hồng cầu, bạch cầu, tế bào biểu mô, các loại trụ hình, tinh thể. Khi để lắng cặn nước tiểu, những thành phần đó tập trung lại, có thể phát hiện bằng cách xét nghiệm lắng cặn nước tiểu dưới kính hiển vi. Xét nghiệm cặn lắng nước tiểu được thực hiện nhằm kiểm tra bệnh hoặc nhiễm trùng đường tiểu.

Phân tích cặn nước tiểu truyền thống bằng phương pháp thủ công chủ yếu được sử dụng trong các phòng xét nghiệm hoá sinh của đa số các bệnh viện hiện nay. Tuy nhiên, việc kiểm tra bằng kính hiển vi thủ công thường không chính xác, khó được chuẩn hoá, kết quả phụ thuộc vào rất nhiều yếu tố chủ quan, đòi hỏi đội ngũ kỹ thuật viên xét nghiệm nhiều kinh nghiệm.

Máy phân tích cặn nước tiểu tự động được thực hiện trong các phòng xét nghiệm lớn, có số mẫu nhiều, đồng thời chuẩn hoá phương pháp và tăng khả năng phát hiện các cặn lắng bất thường, cũng như tăng độ nhạy của phương pháp. Tuy nhiên, phòng xét nghiệm khi chuyển đổi từ phương pháp soi cặn bằng kính hiển vi thủ công sang hệ thống tự động cần đánh giá tương đồng kết quả xét nghiệm giữa hai phương pháp trước khi đưa vào sử dụng, nhằm tránh những sai lệch bất thường của kết quả xét nghiệm.

Các số liệu được xử lý và phân tích đánh giá độ tương đồng kết quả giữa 2 phương pháp theo hai thuật toán: Tỷ lệ tương đồng kết quả (Concordance rate %) và giá trị Kappa có trọng số (Weighted Kappa)[1]. Tỷ lệ tương đồng kết quả đánh giá được tỉ lệ phần trăm số kết quả tương đồng giữa hai phương pháp trên tổng số kết quả thu thập được bằng các lập bảng từng cặp về từng thành phần cặn nước tiểu gồm tên thông số và các dải kết quả của thông số đó, thu thập và thống kê số lượng mẫu có kết quả giống

và khác nhau ở 2 phương pháp và điền vào ô tương ứng. Tỷ lệ tương đồng được thể hiện dưới dạng tỷ lệ tương đồng (%) và tỷ lệ tương đồng trong khoảng chênh lệch phân loại ± 1 đơn vị khoảng chia của kết quả (%). Đây là phương pháp đánh giá khái quát, không loại trừ các trường hợp tương đồng ngẫu nhiên. Đồng ý ngẫu nhiên là trường hợp, khi đó, tập hợp các kết quả dương tính (cũng như âm tính) của phương pháp A giao với tập hợp các kết quả dương tính (cũng như âm tính) của phương pháp B một cách ngẫu nhiên theo xác suất [2]. Thống kê Kappa (hoặc thống kê Kappa của Cohen)[3], là phương pháp phân loại chéo của hai biến xác định trong dữ liệu so sánh theo cặp [4].

Đánh giá tương đồng khi sử dụng hệ số tương đồng Kappa gắn với trọng số có thể biểu diễn được các mức độ tương đồng khác nhau. Kappa có thể thấp mặc dù có mức độ tương đồng cao về tổng số mẫu. Kết hợp chỉ số Kappa có trọng số với tỷ lệ tương đồng Concordance rate có thể nhận biết được giữa hai phương pháp có tỉ lệ tương đồng cao có phải do ngẫu nhiên hay là thật sự tương đồng [2].

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

101 mẫu nước tiểu bệnh nhân có chỉ định soi cặn nước tiểu. Các mẫu được thu thập trong các ống nghiệm không có chất bảo quản và được phân tích trong vòng 2 giờ từ thời điểm thu thập mẫu.

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Địa điểm, thời gian nghiên cứu: Khoa xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, từ tháng 07/2021 – 11/2021.

2.3. Các chỉ số nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu thực hiện so sánh trên 10 chỉ số soi cặn nước tiểu là:

1. Hồng cầu	6. Tricalciphosphat
2. Bạch cầu	7. Uric acid
3. Biểu mô vảy	8. Trụ Hyalin
4. Biểu mô ống thận	9. Trụ bệnh
5. Calci oxalat	10. Tinh trùng

Kết quả được đánh giá sự tương đồng bằng Tỷ lệ tương đồng, và chỉ số Kappa có trọng số (K_w) như sau:

- Tỷ lệ tương đồng được tính theo công thức:

$$\text{Tỷ lệ tương đồng} = \text{Concordance rate (\%)} = \frac{\text{số lượng các cặp tương đồng}}{\text{số lượng các cặp tương đồng} + \text{không tương đồng}}$$

- Hệ số Cohen's Kappa được tính toán dựa vào Giá trị đồng thuận quan sát được giữa các biến đánh giá (P_0 : tổng tỷ lệ tương đồng) với xác suất giả định của khả năng đồng thuận ngẫu nhiên (P_e).

$$Kappa = \frac{\text{Tương đồng thực tại}}{\text{Tương đồng tiềm ẩn}} = \frac{P_0 - P_e}{1 - P_e} = 1 - \frac{1 - P_0}{1 - P_e}$$

- Kappa có trọng số (Weighted Kappa – K_w), là thuật toán xem xét đến khoảng chênh lệch về kết quả trong cùng 1 mẫu bệnh phẩm: Các kết quả có khoảng chênh lệch càng lớn giữa 2 phương pháp thì trọng số càng cao, các kết quả tương đồng có trọng số bằng 0[5]:

$$K_w = 1 - \frac{\sum_{i,j} w_{ij} p_{ij}}{\sum_{i,j} w_{ij} e_{ij}}$$

Trong đó: p_{ij} là xác suất quan sát được, $e_{ij} = p_i q_j$ là xác suất mong đợi và w_{ij} là trọng số (với $w_{ji} = w_{ij}$).

- Đánh giá mức độ tương đồng theo chỉ số Weighted Kappa như sau:

Hệ số Weighted Kappa	Mức độ tương đồng
0	Tương đồng ngẫu nhiên
< 0,2	Thấp
0,2 – 0,4	Dưới trung bình
0,4 – 0,6	Trung bình
0,6 – 0,8	Tốt
> 0,8	Xuất sắc
1	Tương đồng hoàn toàn

2.4. Quy trình nghiên cứu

- Lấy và xử lý mẫu: Mẫu nước tiểu ngẫu nhiên của bệnh nhân được đựng trong ống 10ml và 5ml với mỗi bệnh nhân, đầy đủ thông tin và mã code.

Tiến hành xét nghiệm đồng thời và độc lập bởi kỹ thuật viên bằng phương pháp thủ công và máy tự động trong thời gian tối đa 2 giờ.

- Phân tích cặn bằng phương pháp thủ công:

Xét nghiệm được thực hiện độc lập bởi 2 kỹ thuật viên có kinh nghiệm phân tích cặn nước tiểu. Ống bệnh phẩm 5ml sẽ được ly tâm 2000v/p trong 2p, đổ bỏ dịch nổi sau đó dàn cặn trên lam kính, soi dưới kính hiển vi quang học, vật kính 10x. Kỹ thuật viên định danh tế bào, cặn, đếm và phân loại vào các mức bán định lượng.

- Phân tích cặn trên máy tự động:

Phân tích cặn trên máy nước tiểu tự động Erba Laura XL với nguyên lý xét nghiệm của máy là nhận diện và định danh tế bào bằng hình ảnh, kết quả phân tích số lượng các tế bào cặn được trả dưới dạng bán định lượng. Mẫu bệnh phẩm 10ml được trộn đều, hút một lượng thể tích nhất định và dàn đều trên vi trường.

- Kết quả từ hai phương pháp sẽ được thu thập lại và xử lý bằng thuật toán trên phần mềm Excel Microsoft.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nhóm nghiên cứu đã thu thập được 101 mẫu nghiên cứu, trong đó đa phần các mẫu

chỉ có các chỉ số cận như hồng cầu, bạch cầu, tế bào biểu mô vảy, biểu mô ống thận, tinh thể calci oxalat. Các chỉ số cận như trụ bệnh, tinh trùng, trụ hyalin, tinh thể tricalciphosphat, cận acid uric ít gặp, hầu như không tìm thấy. Kết quả thu được như sau:

Bảng 3.1. Kết quả so sánh tương đồng chỉ số hồng cầu giữa phương pháp thủ công và máy Laura XL.

	Kính hiển vi thủ công					
	RBC (N/ μ L)	-	+	++	+++	++++
Erba laura xl	-	30	17	3	2	
	+	2	6	8	2	
	++		1	4		
	+++	1		5	4	
	++++			3	10	3
	Tỷ lệ tương đồng	46,5%				
Tỷ lệ tương đồng sai khác ± 1 đơn vị đo	89,1%					
Weighted Kappa	0,55627342					

Nhận xét: Hệ số Kappa bằng 0,56- tỷ lệ tương đồng thấp (46,5%) cho thấy mức độ đồng thuận ở mức độ trung bình với chỉ số hồng cầu, tỷ lệ tương đồng sai khác 1 đơn vị của hai phương pháp khá cao (89,1%). Các kết quả chỉ số hồng cầu của hai phương pháp có xu hướng lệch nhau 1 mức bán định lượng.

Thực hiện tương tự với các chỉ số còn lại, chúng tôi thu được kết quả như sau:

Bảng 3.2. Kết quả so sánh tương đồng 10 chỉ số cận nước tiểu giữa phương pháp thủ công và máy Laura XL

STT	Thông số	Tỷ lệ tương đồng	Tỷ lệ tương đồng chênh lệch ± 1 khoảng đơn vị	Hệ số Weighted Kappa	Đánh giá mức độ tương đồng
1	Hồng cầu	46,5%	89,1%	0,55	Trung bình
2	Bạch cầu	47,5%	86%	0,50	Trung bình
3	Biểu mô vảy	60,8%	90,2%	0,42	Trung bình
4	Calci oxalat	92,1%	98,02%	0,62	Tốt
5	Trụ bệnh	92%	94%	0,25	Thấp
6	Uric acid	97%	98%	0,00	Không đánh

7	Triphotphat	88%	100%	0,00	giá do cỡ mẫu nhỏ
8	Biểu mô ống thận	71.3%	93,1%	0,03	
9	Trụ hyalin	78.2%	80,2%	0,00	
10	Tinh trùng	100%	100%	0,00	

IV. BÀN LUẬN

Mức độ tương đồng của chỉ số Hồng cầu, Bạch cầu, Biểu mô vảy

Kết quả dương tính cho các tế bào hồng cầu và bạch cầu của phương pháp thủ công cao hơn so với máy tự động. Kết quả này do sự khác biệt về phương pháp, khi phương pháp thủ công ly tâm và thu cận tế bào nên có sự tập trung tế bào lớn, trong khi đó, máy tự động thực hiện trộn và hút mẫu toàn phần, sau đó dàn tế bào trên vi trường, chụp ảnh và đếm thông qua các thuật toán nhận diện hình ảnh tế bào. Với các mẫu có nồng độ thấp (trong phạm vi 6–10 tế bào/ HPF (high-power field)), việc dàn mẫu trên tiêu bản làm các tế bào được phân bố rải rác trên các vi trường khác nhau, lựa chọn các vi trường khác nhau có thể dẫn đến các sai số trong kết quả xét nghiệm. Sai số này được khắc phục với các mẫu có nồng độ tế bào trung bình và cao. Sự khác biệt về phương pháp này có thể là nguyên nhân dẫn đến sai số của nhiều chỉ số nghiên cứu.

Bên cạnh đó, nhược điểm của phương pháp sử dụng máy tự động là máy không nhận biết được các tế bào hồng cầu bất thường, hồng cầu bị biến dạng, hồng cầu nhỏ hoặc bệnh lý. Ngoài ra, máy có thể khó phân biệt hình ảnh hồng cầu với một số loại nấm tiết niệu như nấm Candida Albicans, làm tăng giả tạo kết quả xét nghiệm.

Mức độ tương đồng của chỉ số Tinh thể Calci oxalat

Đối với kết quả so sánh giữa hai phương pháp soi cận thủ công và tự động cho chỉ số Calci oxalat, hệ số Kappa bằng 0,62 - tốt, tỷ lệ tương đồng ở mức trung (60,8%) cho thấy mức độ đồng thuận ở mức độ khá đối với chỉ số Calci oxalat, tỷ lệ tương đồng sai khác 1 đơn vị của hai phương pháp khá cao (98%) cho thấy kết quả trả về của hai phương pháp có độ tương đồng tốt. Tuy nhiên do cỡ mẫu nhỏ, không bao phủ hết khoảng chia của phép đo, chủ yếu là mẫu âm tính, do đó kết quả tương đồng của hai phương pháp có thể chưa chính xác.

Hệ thống máy tự động phát hiện tinh thể trong nhiều mẫu hơn so với phương pháp thủ công. Đặc biệt các mẫu nước tiểu dương tính với những tinh thể mỏng, bé, có thể bị bỏ qua do khó quan sát được hoặc bị che lấp bởi các tế bào khác trong quá trình ly tâm khi soi cận bằng kính hiển vi thủ công.

Mức độ tương đồng của chỉ số Trụ bệnh

Hệ số Kappa giữa hai phương pháp soi cận thủ công và tự động bằng 0,25 - kém, mặc dù tỷ lệ tương đồng (92%) và tỷ lệ tương đồng sai khác 1 đơn vị (94%) đều ở mức cao. Tỷ lệ phần trăm kết quả đồng thuận cao do tỉ lệ mẫu âm tính nhiều, các mẫu dương tính đều có sự chênh lệch kết quả lớn. Kết quả của máy phân tích trụ niệu cho thấy

mức tương đồng kém với phương pháp thủ công. Hơn nữa, máy tự động cũng không phân biệt các nhóm trụ niệu khác nhau, như trụ hạt, trụ xơ, trụ bạch cầu,... Nếu muốn sử dụng máy tự động để phân biệt các loại trụ niệu, kỹ thuật viên có thể truy cập dữ liệu hình ảnh trên máy để định danh trụ niệu trên hình ảnh hoặc tiến hành soi trên kính hiển vi.

Các nghiên cứu khác trên thế giới

Fatma Demet Ince và cộng sự cũng sử dụng phương pháp đánh giá tương tự gồm tỷ lệ tương đồng (Concordance rate) và Weighted Kappa khi tiến hành so sánh tương đồng kết quả trên 209 mẫu bệnh phẩm được chọn ngẫu nhiên giữa máy FUS-200 và Iris iQ200 với kỹ thuật soi kính thủ công [1]. Mức độ tương đồng của chỉ số hồng cầu và bạch cầu giữa cả hai máy với kính hiển vi thủ công là tốt ($>0,65$); tế bào biểu mô, vi khuẩn và tinh thể có mức độ tương đồng trung bình ($>0,45$) và kém nhất là nấm và trụ niệu ($<0,2$), nguyên nhân do các mẫu trụ niệu và nấm có số lượng mẫu dương tính ít, các mẫu dương tính rất khó có thể quan sát được dưới kính hiển vi bằng phương pháp thủ công dẫn đến sự bất đồng kết quả giữa hai phương pháp lớn. Các kết quả thu được trên nghiên cứu của tác giả cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của chúng tôi.

Nghiên cứu của Piraya Tantisaranon cùng cộng sự khi tiến hành so sánh kết quả giữa ba máy Cobas 6500, UN 3000-111b và iRICELL 3000 với kỹ thuật phân tích nước tiểu bằng kính hiển vi thủ công cũng sử dụng hệ số tương đồng Weighted Kappa để so sánh các kết quả cho 100 mẫu nước tiểu [6]. Nghiên cứu của tác giả chỉ ra mức tương đồng từ khá cho đến tốt giữa máy tự động và

soi kính thủ công, tuy nhiên mức tương đồng cho chỉ số trụ niệu vẫn thấp hơn các chỉ số khác với hệ số tương đồng của Cobas 6500, UN3000 và iRICELL 3000 so với kính hiển vi lần lượt là 0,42; 0,38; 0,62, chứng minh thông số trụ niệu rất khó có được sự tương đồng cao giữa hai phương pháp trên hầu hết các nghiên cứu tương tự.

Nhóm nghiên cứu chúng tôi cho rằng có thể sử dụng máy phân tích nước tiểu tự động để đánh giá ban đầu các mẫu nước tiểu. Trong trường hợp các mẫu có tỉ lệ bất thường cao, mẫu cận đặc biệt có thể tiếp tục đánh giá bằng phương pháp soi cận trên kính hiển vi. Xét nghiệm cận bằng máy tự động cho hình ảnh cận to, rõ ràng trên màn hình lớn giúp kỹ thuật viên có thể dễ dàng kiểm tra và sửa lại các kết quả định danh của hệ thống. Tự động hóa việc kiểm tra cận nước tiểu có thể lọc ra các mẫu bình thường và mẫu bệnh lý giúp giảm khối lượng công việc cho phân tích thủ công. Các bước dễ xảy ra lỗi chính như ly tâm và chuẩn bị thủ công được lược bỏ và do đó việc phân tích mẫu được hoàn thành trong thời gian ngắn. Hình ảnh cận có thể được lưu lại, các kỹ thuật viên có thể kiểm tra thông tin, hình ảnh, và nhận định kết quả thực tế. Máy có khả năng chụp được tế bào ở vật kính cao, có thể nhận định được thêm một số chỉ số khác như dịch nhầy (MUC), nấm men, vi khuẩn (trực khuẩn và cầu khuẩn).

V. KẾT LUẬN

Các chỉ số hồng cầu, bạch cầu, Calci oxalat thực hiện phân tích trên máy soi cận có độ tương đồng với phương pháp thủ công ở mức trung bình. Tỷ lệ tương đồng kết quả đều trên 85%, hệ số Weighted Kappa ở mức

khá với Calci oxalat (0,62), ở mức trung bình với hồng cầu (0,55), bạch cầu (0,50) và biểu mô vảy (0,42). Chỉ số trụ bệnh có mức độ tương đồng thấp. Một số chỉ số còn lại không đánh giá được do cỡ mẫu quá nhỏ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **İnce FD, Ellidağ HY, Koseoğlu M, Şimşek N, Yalçın H, Zengin MO.** The comparison of automated urine analyzers with manual microscopic examination for urinalysis automated urine analyzers and manual urinalysis. *Practical laboratory medicine.* 2016;5:14-20.
2. **PharmaSUG. Link Up Sync Up:** Calculation of concordance and discordance rates between Independent Review Facility (IRF) and Investigator site data using SAS®. 2018;
3. **Cohen J. A coefficient of agreement for nominal scales.** *Educational and psychological measurement.* 1960;20(1):37-46.
4. **Agresti A.** *Categorical Data Analysis.* New Jersey: John Wiley and Sons. Inc, Publication. 2002;
5. **Cohen J. Weighted Kappa:** nominal scale agreement provision for scaled disagreement or partial credit. *Psychological bulletin.* 1968;70(4):213.
6. **Piraya Tantisaranon, Kanyarat Dumkengkachornwong, Peechana Aiadsakun, Areerat Hnoonual.** A comparison of automated urine analyzers cobas 6500, UN 3000-111b and iRICELL 3000 with manual microscopic urinalysis. *Practical Laboratory Medicine.* Volume 24.2021.

KHẢO SÁT SỰ BIẾN ĐỔI BETA-CROSSLAPS Ở BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TÝP 2 TẠI BỆNH VIỆN THỐNG NHẤT

Đỗ Thị Thanh Đông¹, Nguyễn Anh Vũ², Nguyễn Đức Công³, Hồ Thị Ngọc Hạnh¹, Cao Thị Vân¹, Lê Đình Thanh¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Bệnh đái tháo đường týp 2 (ĐTĐ týp 2) có liên quan đến quá trình hủy xương nhanh hơn bình thường và tăng giải phóng collagen týp 1 là β -crosslaps (β -CTx) về lâu dài làm giảm chất lượng mật độ xương đã được nêu

trong một số nghiên cứu trên thế giới và Việt Nam. Mặt khác, β -CTx huyết tương có thể đánh giá sự tiêu hủy xương. Nghiên cứu sự biến đổi của β -crosslaps trên bệnh đái tháo đường týp 2 là cần thiết.

Mục tiêu: Khảo sát sự biến đổi nồng độ β -crosslaps ở nhóm ĐTĐ týp 2 với các nhóm tuổi và giới tính

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả có so sánh trên 231 bệnh nhân từ tháng 01/2022 đến tháng 5/2022. Nhóm khảo sát gồm 118 bệnh nhân ĐTĐ týp 2 (theo tiêu chuẩn chẩn đoán ADA 2021), nhóm so sánh gồm 113 bệnh nhân không ĐTĐ. Định

¹Bệnh viện Thống Nhất – Tp Hồ Chí Minh

²Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh

³Đại học Y Khoa Phạm Ngọc Thạch

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Thị Thanh Đông

Email: thanhdong761986@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 14.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

lượng β -CTx huyết tương bằng phương pháp điện hoá phát quang (Cobas e801).

Kết quả: Nồng độ β -CTx nhóm ĐTD týp 2 là $502,7 \pm 198,0$ pg/mL và nhóm không ĐTD là $392,6 \pm 164,7$ pg/mL khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Ở phân nhóm nam, nồng độ β -CTx nhóm ĐTD týp 2 là $457,3 \pm 207,2$ pg/mL khác biệt so với nhóm không ĐTD là $401,9 \pm 161,6$ pg/mL với ($p = 0,099$). Trong khi đó phân nhóm nữ lại có khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) giữa nhóm ĐTD týp 2 là $549,6 \pm 177,8$ pg/mL so với nhóm không ĐTD là $380,9 \pm 169,6$ pg/mL. Ở độ tuổi ≤ 60 , nồng độ β -CTx nhóm ĐTD týp 2 và không ĐTD lần lượt là $489,7 \pm 194,2$ pg/mL và $378,5 \pm 157,4$ pg/mL khác nhau có ý nghĩa thống kê ($p = 0,027$). Ở độ tuổi > 60 , nồng độ β -CTx nhóm ĐTD týp 2 và không ĐTD lần lượt là $560,0 \pm 199,9$ pg/mL và $397,3 \pm 167,8$ pg/mL cũng khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Trong nội bộ nhóm ĐTD týp 2, giữa phân nhóm nam và nữ khác biệt về nồng độ β -CTx có ý nghĩa thống kê ($p = 0,010$).

Kết luận: Nhóm ĐTD týp 2 có nồng độ β -CTx cao hơn nhóm không mắc ĐTD và tương tự như vậy ở phân nhóm nữ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Không có sự khác biệt ở phân nhóm nam cả ở 2 nhóm tuổi ≤ 60 và > 60 tuổi. Trong nội bộ nhóm ĐTD týp 2 thì β -CTx cao hơn ở nữ so với nam, về nhóm tuổi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nhóm tuổi ≤ 60 so với > 60 tuổi.

Từ khoá: Đái tháo đường týp 2, β -crosslaps, β -CTx, loãng xương.

SUMMARY

INVESTIGATION OF BETA-CROSSLAPS CHANGE IN PATIENTS TYPE 2 DIABETES AT THONG NHAT HOSPITAL

Background: Type 2 diabetic mellitus (T2DM) is associated with faster-than-normal

bone resorption and increased release of type 1 collagen - β -crosslaps (β -CTx), which in the long term reduce the quality of bone density that has been mentioned in a number of studies in the world and in Vietnam. On the other hand, plasma β -CTx can assess bone resorption. Study on β -CTx in type 2 diabetes is necessary.

Objective: Investigation of β -crosslaps concentration change in groups with T2DM with age groups and gender.

Study design and method: A comparative descriptive cross-sectional study conducted at Thong Nhat Hospital from January 2022 to May 2022 included 231 patients divided into 2 groups. The survey group consisted of 118 patients with T2DM (according to the ADA diagnostic criteria 2021) and the comparison group consisted of 113 patients without diabetes. The study quantification of plasma β -CTx by electrochemiluminescence immunoassay on the Cobas e801 system.

Results: The β -CTx concentration in T2DM group 502.7 ± 198.0 pg/mL was significantly higher than that in without diabetes group 392.6 ± 164.7 pg/mL ($p < 0.001$). The difference of β -CTx concentration was not statistically significant between men with T2DM 457.3 ± 207.2 pg/mL and 401.9 ± 161 pg/mL men without diabetes ($p = 0.099$). Meanwhile, the difference was statistically significant between women in T2DM group 549.6 ± 177.8 pg/mL and without diabetes group 380.9 ± 169.6 pg/mL ($p < 0.001$). The β -CTx concentration at age ≤ 60 were significantly different between 489.7 ± 194.2 pg/mL in the group of T2DM and 378.5 ± 157.4 pg/mL in the group of without diabetes ($p = 0.027$). At age > 60 , β -CTx was 560.0 ± 199.9 pg/mL in T2DM group, significantly higher than in the group without diabetes which was 397.3 ± 167.8 pg/mL ($p < 0.001$). Statistical

significance was also found within T2DM group between men and women ($p=0.010$).

Conclusion: The group with T2DM had a higher average β -CTx concentration than the group without diabetes and similarly in the female subgroup, the difference was statistically significant. There was no difference in the male subgroup in both groups of ≤ 60 and >60 years old. Within the group of T2DM, β -CTx was higher in women than in men, there was no statistically significant difference between groups of ≤ 60 and >60 years old.

Keywords: Type 2 diabetes, β -crosslaps, β -CTx, osteoporosis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

β -crosslaps (β -CTx), một trong những dấu ấn của chu chuyển xương, là một phân mảnh của collagen týp 1 được tạo ra trong quá trình hủy xương. Việc định lượng β -CTx trong huyết tương có thể đánh giá sự tiêu hủy xương [1]. Gần đây, các nghiên cứu chú ý nhiều hơn đến sự khác biệt trong chu chuyển xương ở bệnh nhân đái tháo đường, đặc biệt là ĐTD týp 2. Kết quả của Schwartz và cộng sự về gãy xương do loãng xương đã xác nhận tỷ lệ gãy xương hông, xương đùi và bàn chân ở phụ nữ mắc bệnh ĐTD týp 2 cao hơn phụ nữ không mắc bệnh đái tháo đường, nguyên nhân chủ yếu là do tăng nguy cơ té ngã [2]. Cùng với tỉ lệ mắc ĐTD ngày càng gia tăng, tỷ lệ mắc bệnh ĐTD ước tính so sánh có điều chỉnh theo tuổi trong dân số Việt Nam là xấp xỉ 6% vào năm 2017 và dự báo năm 2035 tỷ lệ mắc bệnh ĐTD là 7% dân số [3]. Có thể nói, biến chứng gãy xương do loãng xương làm tăng tỉ lệ tử vong, giảm tuổi thọ, giảm chất lượng cuộc sống và tăng thêm gánh nặng cuộc sống [4]. Vì vậy xác định và phòng ngừa các yếu tố nguy cơ tiềm ẩn cũng như biến chứng nghiêm trọng nhất của loãng

xương ở bệnh nhân ĐTD týp 2 là rất quan trọng và có ý nghĩa trong việc duy trì chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân. Hầu hết các nghiên cứu chỉ ra β -CTx có tiềm năng dự báo chính xác biến cố loãng xương, nhưng kết quả nghiên cứu β -CTx trên bệnh nhân ĐTD týp 2 cả nghiên cứu quốc tế và Việt Nam vẫn còn tranh cãi, số liệu chưa nhiều và chưa có kết quả rõ rệt [5] [6]. Vì vậy điều cần thiết là tìm hiểu mối liên quan của sự thay đổi nồng độ β -CTx ở bệnh nhân ĐTD týp 2 nhằm hỗ trợ dự báo, chẩn đoán, phòng ngừa và theo dõi điều trị loãng xương hiệu quả hơn trên đối tượng bệnh nhân mắc ĐTD týp 2. Nghiên cứu này được thực hiện nhằm khảo sát sự biến đổi nồng độ β -crosslaps ở nhóm ĐTD týp 2 với các nhóm tuổi và giới tính

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân ĐTD týp 2 đến khám và điều trị tại bệnh viện Thống Nhất từ tháng 01/2022 đến tháng 05/2022.

2.1.1. Tiêu chuẩn chọn mẫu:

- **Nhóm khảo sát:** Được chẩn đoán ĐTD týp 2, có thể trả lời câu hỏi phỏng vấn, đồng ý tham gia nghiên cứu, không mắc một số bệnh lý làm tăng β -CTx như suy thận mạn, cường tuyến cận giáp, đang điều trị với nhóm thuốc biphosphonat, ung thư giai đoạn tiến triển.

- **Nhóm so sánh:** Không mắc ĐTD, có thể trả lời câu hỏi phỏng vấn, đồng ý tham gia nghiên cứu, không mắc một số bệnh lý làm tăng β -CTx như suy thận mạn, cường tuyến cận giáp, đang điều trị với nhóm thuốc biphosphonat, ung thư giai đoạn tiến triển.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang có so sánh đối chứng

2.2.2. Cỡ mẫu: Áp dụng công thức tính cỡ mẫu so sánh trung bình của 2 nhóm

$$n \geq \frac{(Z_{1-\beta} + Z_{1-\alpha/2})^2 \cdot (\sigma_1^2 + \sigma_2^2/k)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Cỡ mẫu tối thiểu: $N = n_1 + n_2$.

Theo Sain Safarova (2019), nồng độ β -CTx trung bình của nhóm ĐTD típ 2 là $0,495 \pm 0,038$ ng/mL, của nhóm chứng $0,424 \pm 0,042$ ng/mL [5] Cỡ mẫu tối thiểu cho mỗi nhóm $n = 42$, $N = 84$. Thực tế nghiên cứu nhóm bệnh là 118 và nhóm chứng là 113. Cỡ mẫu tổng cộng là 231.

2.2.3. Phương pháp và kỹ thuật:

Bệnh nhân được phỏng vấn và ghi nhận các thông tin cần thiết về tuổi, giới, huyết áp, BMI vào bảng thu thập dữ liệu.

Định lượng nồng độ β -CTx (đơn vị: pg/mL) được thực hiện trên mẫu huyết tương còn dư của bệnh nhân bằng máy Cobas e801 (Roche – Đức) với kỹ thuật điện hoá phát quang. Xét nghiệm được chuẩn hoá tại khoa Hoá Sinh, bệnh viện Thống Nhất, Tp HCM.

Khoảng tham chiếu nồng độ β -CTx được lấy theo quyết định số 932/QĐ-BVTN tháng 09/2021 của Giám đốc bệnh viện Thống Nhất về “Công bố khoảng tham chiếu sinh học và ngưỡng báo động lâm sàng của khoa Hoá Sinh – Bệnh viện Thống Nhất”.

2.2.4. Phân tích số liệu

Số liệu được quản lý bằng Microsoft Excel 2016, phân tích bằng Stata 14. Biến số định lượng có phân phối chuẩn trình bày dưới dạng trung bình và độ lệch chuẩn, biến định tính trình bày dưới dạng tỷ lệ phần trăm. So sánh 2 trung bình giữa các biến số định lượng có phân phối chuẩn bằng kiểm định t. So sánh 2 hay nhiều tỷ lệ bằng kiểm định Chi bình phương hoặc Fisher. Khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.3. Y đức

Nghiên cứu đã được thông qua hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học của Đại học Y Dược, Tp. Hồ Chí Minh, số 862/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 23/12/2021.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Biến số	Chung (n = 231)	Nhóm ĐTD típ 2 (n = 118)	Nhóm không ĐTD (n = 113)	p
Tuổi (năm)	$69,5 \pm 12,1$	$70,7 \pm 12,4$	$68,3 \pm 11,9$	0,123 ^a
≤60 tuổi, n (%)	52 (22,5)	24 (20,3)	28 (24,8)	0,419 ^b
>60 tuổi, n (%)	179 (77,5)	94 (79,7)	85 (75,2)	
Giới tính				
Nam, n (%)	123 (53,2)	60 (50,8)	63 (55,8)	0,455 ^b
Nữ, n (%)	108 (46,8)	58 (49,2)	50 (44,2)	
Huyết áp (mmHg)				
HA tâm thu	$138,5 \pm 24,1$	$141,0 \pm 27,9$	$135,8 \pm 19,0$	0,107 ^a
Bình thường, n (%)	112 (48,5)	55 (46,6)	57 (50,4)	0,560 ^b
THA, n (%)	119 (51,5)	63 (53,4)	56 (49,6)	
HA tâm trương	$79,9 \pm 11,4$	$80,7 \pm 12,7$	$79,2 \pm 9,9$	0,288 ^a

Bình thường, n (%)	173 (74,9)	83 (70,3)	90 (79,7)	0,103 ^b
THA, n (%)	58 (25,1)	35 (29,7)	23 (20,3)	
BMI (kg/m²)	23,4 ± 2,55	23,0 ± 2,55	23,6 ± 2,52	0,073 ^a
Bình thường, n (%)	104 (45,0)	50 (42,4)	54 (47,8)	0,499 ^b
Thừa cân, n (%)	79 (34,2)	40 (33,9)	39 (34,5)	
Béo phì, n (%)	48 (20,8)	28 (23,7)	20 (17,7)	

^a Phép kiểm t – test, biểu diễn số liệu với trung bình ± độ lệch chuẩn

^b Phép kiểm χ^2 , biểu diễn số liệu với tần số và tỷ lệ phần trăm

Nhận xét: Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi, tỷ lệ nhóm tuổi, giới tính, huyết áp tâm thu, huyết áp tâm trương, BMI, phân nhóm về BMI giữa nhóm ĐTĐ týp 2 so với nhóm không ĐTĐ.

Bảng 2. So sánh nồng độ β -CTx giữa nhóm ĐTĐ týp 2 và không ĐTĐ

Biến số	β -crosslaps nhóm ĐTĐ týp 2 (n = 118)	β -crosslaps nhóm không ĐTĐ (n = 113)	p
Trung bình (pg/mL)	502,7 ± 198,0	392,6 ± 164,7	<0,001 ^a
Bình thường, n (%)	22 (18,6)	36 (31,9)	0,021 ^b
Tăng, n (%)	96 (81,4)	77 (68,1)	

^a Phép kiểm t – test biểu diễn số liệu với trung bình ± độ lệch chuẩn

^b Phép kiểm χ^2 biểu diễn số liệu với tần số và tỷ lệ phần trăm

Nhận xét: Nồng độ β -CTx nhóm ĐTĐ týp 2 là 502,7 ± 198,0 pg/mL cao hơn nhóm không ĐTĐ 392,6 ± 164,7 pg/mL khác biệt có ý nghĩa thống kê (p<0,001). Nhóm ĐTĐ týp 2 có tỷ lệ tăng nồng độ β -CTx cao hơn nhóm không ĐTĐ, khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,021).

Bảng 3. So sánh nồng độ β -CTx theo giới giữa ĐTĐ týp 2 và không ĐTĐ

Biến số	β -crosslaps nhóm ĐTĐ týp 2 (n = 118)	β -crosslaps nhóm không ĐTĐ (n = 113)	p
Trung bình (pg/mL)			
Nam	457,3 ± 207,2	401,9 ± 161,6	0,099 ^a
≤ 60 tuổi, n (%)	13 (21,7)	18 (28,6)	0,378 ^b
≥ 60 tuổi, n (%)	47 (78,3)	45 (71,4)	
Nữ	549,6 ± 177,8	380,9 ± 169,6	< 0,001 ^a
≤ 60 tuổi, n (%)	11 (19,0)	10 (20,0)	0,892 ^b
>60 tuổi, n (%)	47 (81,0)	40 (80,0)	
	p = 0,010^a	p = 0,503^a	

^a Phép kiểm t -test biểu diễn số liệu với trung bình ± độ lệch chuẩn

^b Phép kiểm χ^2 biểu diễn số liệu với tần số và tỷ lệ phần trăm

Nhận xét: Không có khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p=0,099$) về nồng độ β -CTx giữa nam giới nhóm ĐTD tít 2 so với nam giới nhóm không ĐTD. Nồng độ β -CTx nữ giới nhóm ĐTD tít 2 cao hơn nữ giới nhóm không ĐTD, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,001$). Tỷ lệ độ tuổi ≤ 60 và >60 ở cả 2 giới nam và nữ giữa hai nhóm ĐTD tít 2 và

không ĐTD không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ. Trong nhóm ĐTD tít 2, nồng độ β -CTx ở nam giới thấp hơn so với nữ giới khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p=0,010$). Nhóm không ĐTD, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ β -CTx của nam giới so với nữ giới với ($p=0,503$).

Bảng 4. So sánh nồng độ β -crosslaps theo phân nhóm tuổi giữa nhóm ĐTD tít 2 và nhóm không ĐTD

Biến số	β -crosslaps nhóm ĐTD tít 2 (n=118)	β -crosslaps nhóm không ĐTD (n=113)	p
Trung bình (pg/mL)			
≤ 60 tuổi	489,7 \pm 194,2	378,5 \pm 157,4	0,027^a
Bình thường, n (%)	3 (12,5)	9 (32,1)	0,097 ^c
Tăng, n (%)	21 (87,5)	19 (67,9)	
>60 tuổi	506,0 \pm 199,9	397,3 \pm 167,8	<0,001^a
Bình thường, n (%)	19 (20,2)	27 (31,8)	0,077 ^b
Tăng, n (%)	75 (79,8)	58 (68,2)	
	p = 0,721 ^a	p = 0,603 ^a	

^a Phép kiểm t-test biểu diễn số liệu với trung bình \pm độ lệch chuẩn

^b Phép kiểm χ^2 biểu diễn số liệu với tần số và tỷ lệ phần trăm

^c Phép kiểm Fisher khi vọng trị <5 biểu diễn số liệu với tần số và tỷ lệ phần trăm

Nhận xét: Nồng độ β -CTx nhóm ĐTD tít 2 ở các phân nhóm tuổi ≤ 60 và >60 tuổi đều cao hơn nhóm không ĐTD, khác biệt có ý nghĩa thống kê lần lượt với ($p=0,027$) và ($p<0,001$). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ β -CTx trong nội bộ nhóm ĐTD tít 2 và không ĐTD giữa nhóm tuổi ≤ 60 và >60 . Tỷ lệ về nồng độ β -CTx bình thường và tăng giữa nhóm ĐTD tít 2 so với không ĐTD không có khác biệt có ý nghĩa thống kê.

IV. BÀN LUẬN

4.1 Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Các đặc điểm về tuổi và giới, huyết áp không có sự khác biệt đáng kể giữa nhóm ĐTD tít 2 và nhóm không ĐTD với $p>0,05$. Điều này cho thấy đối tượng đưa vào nghiên cứu đáp ứng tốt tiêu chuẩn chọn mẫu. Đa số bệnh nhân trong nghiên cứu này có độ tuổi khá cao có thể do đặc thù bệnh viện Thống Nhất là bệnh viện chuyên về lão khoa.

4.2 Sự biến đổi nồng độ β -crosslaps ở nhóm bệnh nhân đái tháo đường tít 2

Beta-CTx là một phân mảnh của collagen tít 1 được tạo ra trong quá trình hủy xương, việc định lượng chất này trong huyết thanh có thể đánh giá sự tiêu hủy xương, nồng độ

của nó phản ánh gián tiếp chu chuyển xương [1]. Kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ β -CTx trung bình tăng ở nhóm ĐTD týp 2 và không tăng ở nhóm không ĐTD. Như vậy có liên quan về sự tiêu hủy xương cao hơn ở nhóm ĐTD týp 2. Tỷ lệ tăng β -CTx trong nhóm ĐTD týp 2 chiếm 81,4% cũng cao hơn tỷ lệ tăng β -CTx trong nhóm không ĐTD chiếm 68,1%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Kết quả này không tương đồng với nghiên cứu của Sain S. Safarova (2019) theo đó bệnh nhân ĐTD týp 2 có giá trị β -CTx thấp hơn [5]. Trong khi nghiên cứu khác lại chỉ ra rằng quá trình tiêu xương lại được tăng cường ở bệnh nhân ĐTD týp 2 [7]. Sự khác nhau trong kết quả có thể do sự luân chuyển xương bị ảnh hưởng bởi tình trạng kiểm soát đường huyết, độ tuổi, điều kiện sống, cỡ mẫu trong nghiên cứu, mật khác tập quán sinh hoạt khác nhau của đối tượng tham gia nghiên cứu cũng ảnh hưởng đến nồng độ β -CTx trong nghiên cứu này.

Nghiên cứu cho thấy có sự khác biệt về nồng độ β -CTx giữa nam và nữ trong cùng nhóm ĐTD týp 2, cũng như giữa giới nữ ĐTD týp 2 so với giới nữ không ĐTD nhưng lại không có sự chênh lệch ở giới nam giữa 2 nhóm nghiên cứu. Chúng tôi ghi nhận kết quả tương tự của Patrick Garner (2000) về tăng chu chuyển xương, đặc biệt là dấu ấn tiêu xương ở giới nữ sau mãn kinh từ 50 đến 89 tuổi [8]. Giới tính là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ β -CTx, đối với giới nữ phải trải qua nhiều giai đoạn thay đổi nội tiết tố trong suốt cuộc đời: kinh nguyệt, mang thai, sau sinh và mãn kinh, đặc biệt sự sụt giảm mạnh hormone estrogen ở giai đoạn mãn kinh là nguyên nhân dẫn đến tăng cao quá trình hủy xương, giảm hấp thụ canxi và tăng nguy cơ loãng xương. Về cấu trúc xương, giới nữ có xương nhỏ và mỏng hơn

nam giới, mật độ xương thấp hơn và trọng lượng cũng nhẹ hơn, dẫn đến giới nữ có nguy cơ loãng xương cao hơn và có tốc độ hủy xương cao hơn. Hơn nữa, ở đối tượng ĐTD týp 2, ảnh hưởng của bệnh lên collagen týp 1 là một quá trình chuyển hoá rất phức tạp. Nghiên cứu này cũng cho thấy phụ nữ trên 60 tuổi mắc ĐTD týp 2 có β -CTx cao hơn nam cùng nhóm tuổi, và cao hơn nữ giới không mắc ĐTD týp 2 cùng nhóm tuổi.

Nghiên cứu cho thấy không có sự chênh lệch nồng độ β -CTx giữa nhóm tuổi ≤ 60 và >60 tuổi trong nội bộ mỗi nhóm nghiên cứu, nhưng lại có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh 2 nhóm với nhau theo phân độ tuổi. Có thể do ảnh hưởng của bệnh ĐTD týp 2 đến nồng độ β -CTx trên các đối tượng bệnh nhân này, mối quan hệ giữa β -CTx và tuổi đã được quan sát trong các nghiên cứu trước đây ở quần thể người châu Âu [8] và một số nhóm dân cư châu Á [6]. Trong các nguy cơ gây loãng xương thì tuổi và bệnh ĐTD kết hợp là một trong những yếu tố nguy cơ.

V. KẾT LUẬN

Nhóm ĐTD týp 2 có nồng độ β -crosslaps cao hơn nhóm không mắc ĐTD và tương tự như vậy ở phân nhóm nữ sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, không có sự khác biệt ở phân nhóm nam cả ở 2 nhóm tuổi ≤ 60 và >60 tuổi. Trong nội bộ nhóm ĐTD týp 2 thì β -CTx cao hơn ở nữ so với nam, về nhóm tuổi không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở nhóm tuổi ≤ 60 so với >60 tuổi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hlaing TT, Compston JE, (2014), "Biochemical markers of bone turnover – uses and limitations", *Annals of Clinical Biochemistry*, 51 (2), 189-202.

2. **Schwartz AV, Sellmeyer DE, Ensrud KE, Cauley JA, et al, (2001)**, "Older women with diabetes have an increased risk of fracture: a prospective study", 86 (1), 32-38.
3. **Ngoc NB, Lin ZL, Ahmed WJA o g h, (2020)**, "Diabetes: what challenges lie ahead for Vietnam?", 86 (1),
4. **Willson T, Nelson SD, Newbold J, Nelson RE, et al, (2015)**, "The clinical epidemiology of male osteoporosis: a review of the recent literature", 7- 65.
5. **Safarova, (2019)**, "Alterations of bone metabolism in patients with diabetes mellitus". International Journal of Endocrinology, 1- 6.
6. **Zhao C, Liu G, Zhang Y, Xu G, et al, (2020)**, "Association between serum levels of bone turnover markers and bone mineral density in men and women with type 2 diabetes mellitus", Journal of clinical laboratory analysis 34 (4), e23112.
7. **Larsen KI, Falany ML, Ponomareva LV, Wang W, et al, (2002)**, "Glucose-dependent regulation of osteoclast H(+)-ATPase expression: potential role of p38 MAP-kinase", J Cell Biochem, 87 (1), 75-84.
8. **Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, Delmas PDJJ, et al, (2000)**, "Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study", 15 (8), 1526-1536

TẦN SUẤT XUẤT HIỆN KHÁNG THỂ KHÁNG NHÂN Ở BỆNH NHÂN BỆNH TỰ MIỄN ĐƯỢC KHÁM VÀ ĐIỀU TRỊ TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA QUỐC TẾ VINMEC TIMES CITY

Trần Quỳnh Trang*, Nguyễn Gia Bình*, Nguyễn Trọng Tính*, Hà Minh Thúy*, Dương Thị Hiền*, Nguyễn Từ Trung*

TÓM TẮT

Các kháng thể kháng nhân (ANAs) là các tự kháng thể tấn công các protein tự thân trong cấu trúc nhân tế bào, sự hiện diện của chúng trong huyết thanh có thể chỉ ra một bệnh tự miễn. ANA 23 profile là xét nghiệm cho phép xác định đồng thời 23 loại kháng thể kháng nhân với 23 loại kháng nguyên khác nhau trong huyết

thanh/huyết tương bệnh nhân, gồm có: dsDNA, nucleosomes, histones, SS-A, Ro-52, SS-B, nRNP/Sm, Sm, Mi-2 α , Mi-2 β , Ku, CENP A, CENP B, Sp100, PML, Scl-70, PM-Scl100, PM-Scl75, RP11, RP155, gp210, PCNA and DFS70.

Mục tiêu: Đánh giá tỷ lệ xuất hiện các kháng thể kháng nhân ở những bệnh nhân được xét nghiệm tại bệnh viện đa khoa quốc tế VinmecTimes City. Đặc điểm xuất hiện các kháng thể kháng nhân trong các bệnh tự miễn ở những bệnh nhân trên.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Kết quả thu được của 280 mẫu huyết thanh bệnh nhân được chỉ định xét nghiệm ANA profile 23

**Bệnh viện Đa khoa Quốc Tế Vinmec Timescity*

Chịu trách nhiệm chính: Trần Quỳnh Trang

Email: v.trangtq4@vinmec.com

Ngày nhận bài: 19.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

trong thời gian từ tháng 6 năm 2021 đến tháng 9 năm 2022 được chọn mẫu thuận tiện. Trong số 280 mẫu này, 190 mẫu cho kết quả dương tính và 90 mẫu còn lại cho kết quả âm tính. Các bệnh nhân có độ tuổi trung bình là 47, bao gồm 90 (32,1%) nam giới và 190 (67,9%) nữ giới.

Kết quả: Tỷ lệ dương tính với các kháng thể kháng nhân gặp nhiều ở độ tuổi từ 21 đến 60, trong đó nhóm tuổi từ 21 - 40 là 20% và nhóm tuổi từ 41 - 60 là 21,43%. Trong số các kháng thể nghiên cứu, kháng thể được tìm thấy nhiều nhất là Ro-52 (15,36%), SS-A (15,71%) và Scl-70 (22,14%).

Kết luận: Tuy là nghiên cứu đầu tiên của chúng tôi tại bệnh viện Vinmec Times City về tỷ lệ xuất hiện các kháng thể kháng nhân trong xét nghiệm ANA 23 và số lượng mẫu chưa nhiều nên khi chia nhóm phân tuổi số lượng của từng nhóm ít. Nhưng tỉ lệ dương tính phát hiện được khá cao ở nhóm từ 21 đến 60 tuổi. Ở nữ giới có tỷ lệ ANA nhiều hơn so với nam giới 1:3, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Các kháng thể xuất hiện nhiều nhất trong 23 kháng thể kháng nhân nghiên cứu là SS-A, Ro-52 và Scl-70.

Từ khóa: ANA 23, kháng thể kháng nhân, chẩn đoán, bệnh tự miễn, lupus ban đỏ hệ thống, hội chứng Sjögren's.

SUMMARY

FREQUENCY OF ANTI-NUCLEAR ANTIBODIES IN PATIENTS WITH AUTOIMMUNE DISEASES DIAGNOSED AND TREATED AT VINMEC TIMES CITY INTERNATIONAL HOSPITAL

Antinuclear antibodies (ANAs) are autoantibodies that attack self-proteins within cell nucleus structures; their presence in serum may indicate an autoimmune disease.

ANA 23 profile is a test that allows the simultaneous determination of 23 different

antigens in patient serum/plasma, including: dsDNA, nucleosomes, histones, SS-A, Ro-52, SS-B, nRNP/Sm, Sm, Mi-2 α , Mi-2 β , Ku, CENP A, CENP B, Sp100, PML, Scl-70, PM-Scl100, PM-Scl175, RP11, RP155, gp210, PCNA and DFS70.

Aim: This study aimed to determine the prevalence of antinuclear antibodies in patients at Vinmec International hospital as well as characterization of antinuclear antibodies in autoimmune diseases in these patients.

Subject: A total of 280 serum samples assigned with the ANA 23 profile test from June 2021 to September 2022 were selected. Out of the 280 patients, 190 were positive and the remaining 90 were negative. The average age of the patient group was 47, including 90 (32,1%) males and 190 (67,9%) females.

Results: Majority of positive cases were found in the age group of 21 to 60, including 20% was aged 21 to 40 and 21,43% was aged 41 to 60. Among targeted antibodies, it was witnessed the most occurrence of the three indications including Ro-52 (15,36%), Scl-70 (22,14%) and SS-A (15,71%)

Conclusion: Because this study of the positive rate of autoimmune antibodies detected by ANA profile tests was carried out the first time in out Vinmec Times City, the small sample size might lead to small size of each age subgroups. In spite of this the positive rate was quite high in the group of 21 to 60 years old. The research results illustrated that females were more affected than males at ratio 1:3. The difference is statistically significant with $p < 0.05$. The most common antibodies were SS-A, Ro-52 and Scl-70.

Keywords: ANA profile 23, antinuclear antibody, autoimmune diseases, diagnostic, systemic lupus erythematosus, Sjögren's syndrome.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tự kháng thể (autoantibody) là một kháng thể (một loại protein) được sản xuất bởi hệ thống miễn dịch được định hướng chống lại một hoặc nhiều protein của chính cá nhân đó. Nhiều bệnh tự miễn (autoimmune diseases), chẳng hạn như lupus ban đỏ, bị gây ra bởi các tự kháng thể như thế.

Tự kháng thể có thể chống lại các protein như các enzyme nội bào, các thụ thể, thành phần cấu trúc của tế bào, glycoprotein, phospholipid và acid nucleic. Bệnh tự miễn là một rối loạn trong đó cơ thể bắt đầu xuất hiện các kháng thể chống lại chính mô và tế bào của cơ thể mình. Bệnh tự miễn đã được thống kê ảnh hưởng đến khoảng 3% dân số Bắc Mỹ và châu Âu, trong số đó hơn 75% dân số bị ảnh hưởng là nữ giới^{1,2}. Các kháng thể được tạo ra bởi chính cơ thể chống lại nhân tế bào của chính nó được gọi là kháng thể kháng nhân (ANA: anti-nuclear antibodies). Kháng thể kháng nhân đã được thống kê xuất hiện ở khoảng 25% dân số³ và tỷ lệ lưu hành của tất cả các rối loạn tự miễn là 5 đến 7%⁴. Cơ chế của bệnh tự miễn chưa rõ ràng, tuy nhiên một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng bệnh tự miễn có liên quan với một số yếu tố như đặc điểm di truyền, nhiễm trùng và hoặc các yếu tố liên quan đến môi trường. Các bệnh tự miễn có nhiều triệu chứng và đặc điểm phát hiện khác nhau. Chúng có thể được phân loại là đặc hiệu cho cơ quan và rối loạn tự miễn toàn thân. Một số bệnh tự miễn thường gặp như đái tháo đường phụ thuộc insulin, bệnh khớp dạng thấp (RA), lupus ban đỏ hệ thống (SLE), bệnh xơ cứng bì và đa xơ cứng... Các bệnh tự miễn ảnh hưởng trực tiếp đến các cơ quan cụ thể như tuyến giáp, tuyến thượng thận và tuyến tụy hoặc ảnh hưởng toàn thân như da, khớp và các mô⁵. Việc phát hiện các tự kháng thể trong

mẫu huyết thanh, huyết tương của bệnh nhân đóng một vai trò quan trọng trong chẩn đoán và theo dõi các bệnh tự miễn. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu

1) *Xác định tỷ lệ xuất hiện kháng thể kháng nhân ở những bệnh nhân được chỉ định làm xét nghiệm ANA profile 23.*

2) *Đặc điểm xuất hiện các kháng thể kháng nhân trong các bệnh tự miễn ở những bệnh nhân trên.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện từ tháng 6/2021 đến tháng 9/2022 tại bệnh viện đa khoa Quốc tế Vinmec Times City. Tổng số 280 bệnh nhân bao gồm 197 bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định bệnh tự miễn như SLE, Sjögren's, xơ cứng bì, viêm khớp dạng thấp... và 83 bệnh nhân khỏe mạnh có triệu chứng nghi ngờ bệnh tự miễn như đau khớp, mệt mỏi, mày đay mạn, loét niêm mạc miệng tái diễn... Những bệnh nhân này được chỉ định thực hiện xét nghiệm ANA Profile 23 (sàng lọc và định danh đồng thời 23 type kháng thể kháng nhân) trên máy EUROBlotONE.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

Bộ xét nghiệm EUROLINE ANA Profile 23 (IgG) (EUROIMMUN medizinische Labordiagnostika AG, Lübeck, Đức) là thanh thử phủ 23 loại kháng nguyên nhằm phát hiện 23 tự kháng thể kháng nhân đích bằng phương pháp immunoblot. Đầu tiên, thanh thử sẽ được ủ với bệnh phẩm pha loãng 1:101. Nếu trong bệnh phẩm có chứa IgG đặc hiệu với các kháng nguyên, các kháng thể IgG đặc hiệu này sẽ gắn với các kháng nguyên được phủ trên thanh thử. Để phát

hiện các kháng thể đã gắn, bước 2 với kháng thể đơn dòng kháng IgG của người có gắn enzyme đánh dấu được thực hiện, sau đó cơ chất xúc tác phản ứng tạo màu được thêm vào. Cường độ màu tại từng vị trí gắn kháng nguyên tỷ lệ với lượng IgG tương ứng trong bệnh phẩm. Kết quả sẽ được phân tích bằng phần mềm EUROLinScan khi kit xét

thử nghiệm đã được sấy khô. Theo cường độ tín hiệu của các dải, kết quả được phân loại thành 5 cấp: negative (0 - 5), borderline (6 - 10), positive (11-50) và strong positive (>50).

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. Mối tương quan giữa nhóm tuổi và tỷ lệ dương tính.

Tỷ lệ xuất hiện kháng thể kháng nhân theo từng nhóm tuổi được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1: Tỷ lệ xuất hiện kháng thể kháng nhân theo từng nhóm tuổi

Nhóm tuổi	ANA		Tổng (%)
	N	P	
0-20	13 (37,1%)	22 (62,9%)	35 (100,0%)
21-40	20 (26,3%)	56 (73,7%)	76 (100,0%)
41-60	38 (38,8%)	60 (61,2%)	98 (100,0%)
61-80	16 (27,1%)	43 (72,9%)	59 (100,0%)
>80	3 (25,0%)	9 (75,0%)	12 (100,0%)
Tổng	90 (32,1%)	190 (67,9%)	280 (100,0%)

Chú thích: N: negative - âm tính, P: positive - dương tính

Kết quả ở Bảng 1 cho thấy sự khác biệt giữa nhóm tuổi và tỷ lệ dương tính không có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên có thể thấy tỷ lệ dương tính cao chiếm 67,9% ở những bệnh nhân được yêu cầu xét nghiệm ANA.

Tuy chưa có ý nghĩa thống kê liên quan giữa độ tuổi và tỷ lệ dương tính, có thể do số lượng mẫu còn ít nên khi chia nhóm phân tuổi số lượng của từng nhóm ít. Tỷ lệ dương tính khá cao ở hai nhóm tuổi 21-40 (chiếm 56/280) và 41-60 (chiếm 60/280).

Sự khác biệt về tỷ lệ dương tính/ âm tính giữa nam và nữ được thể hiện ở Bảng 2.

Bảng 2: Sự khác biệt về tỷ lệ dương tính/ âm tính giữa nam và nữ

Giới tính		ANA		Tổng
		N	P	
Nam	Số lượng	37	54	91
	%	40,7%	59,3%	100,0%
Nữ	Số lượng	53	136	189
	%	28,0%	72,0%	100,0%
Tổng	Số lượng	90	190	280
	%	32,1%	67,9%	100,0%

Chú thích: N: negative - âm tính, P: positive - dương tính

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy có sự khác biệt rõ ràng về giới tính với tỷ lệ dương tính với kháng thể kháng nhân trong đó nữ giới nhiều hơn nam giới. Tỷ lệ dương tính ở nữ giới là 71,58% và nam giới là 28,42%.

3.2. Tỷ lệ xuất hiện kháng thể kháng nhân ở những bệnh nhân được chỉ định ANA profile 23.

Tỷ lệ xuất hiện kháng thể kháng nhân ở những bệnh nhân được chỉ định ANA profile 23 được thể hiện ở Bảng 3.

Bảng 3: Tỷ lệ xuất hiện kháng thể kháng nhân ở những bệnh nhân được chỉ định ANA profile 23

Đặc điểm	N	P	Tỷ lệ %
DsDNA	266	14	5,00
Nucleosomes	270	10	3,57
Histone	259	21	7,50
SS-A	236	44	15,71
Ro-52	237	43	15,36
SS-B	266	14	5,00
RNP/Sm	253	27	9,64
Sm	274	6	2,14
Mi-2alpha	271	9	3,21
Mi-2beta	273	7	2,50
Ku	268	12	4,29
Centromere A	265	15	5,36
Centromere B	264	16	5,71
Sp100	277	3	1,07
PML	279	1	0,36
Scl-70	218	62	22,14
PM-Scl100	259	21	7,50
PM-Scl75	269	11	3,93
RP11	272	8	2,86
RP155	269	11	3,93
gp210	273	7	2,50
PCNA	268	12	4,29
DFS70	259	21	7,50

Chú thích: N: negative - âm tính, P: positive - dương tính

Kết quả ở bảng 3 cho thấy trong số 23 loại kháng thể kháng nhân có thể phát hiện, loại kháng thể kháng nhân thường gặp nhất là Scl-70 với tỷ lệ 22,14%, SS-A với tỷ lệ 15,71% và Ro-52 với 15,36%. Các kháng thể kháng nhân ít gặp là PML với tỷ lệ 0,36%, Sp100 với tỷ lệ 1,07%.

IV. BÀN LUẬN

ANA profile 23 đóng một vai trò quan trọng trong việc chẩn đoán các bệnh tự miễn. Các kháng thể kháng nhân kháng lại nhiều thành phần của nhân tế bào. Các thành phần này bao gồm nucleic acid, protein nhân tế bào và ribonucleoprotein. Phát hiện các tự kháng thể kháng lại một hoặc nhiều tự kháng nguyên là một yếu tố quan trọng trong chẩn đoán bệnh tự miễn, đặc biệt là các bệnh do yếu tố thấp. Độ lưu hành của các kháng thể kháng nhân trong các bệnh thấp chiếm từ 20 - 100% (viêm khớp dạng thấp 20 - 40%). Xác định các mẫu ANA bằng máy EUROBlotOne rất hữu ích trong việc chẩn đoán xác định cũng như theo dõi điều trị. Việc thực hiện xét nghiệm ANA profile 23 để thực hiện tuy nhiên chi phí cho xét nghiệm còn khá cao cũng như những hạn chế như tính chủ quan, cần nhân viên được đào tạo và có kinh nghiệm trong việc nhận định kết quả được đọc có đúng và hợp lý không. Trong nghiên cứu này tỷ lệ dương tính với ANA ở nữ giới nhiều hơn nam giới. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Quan-Zhen Li và cộng sự khi nghiên cứu phát hiện tỷ lệ dương tính với kháng thể kháng nhân ở những người khỏe mạnh⁶.

Thêm vào đó tuy chưa đề cập sâu trong nghiên cứu này do nhiều trường hợp chúng tôi chưa có điều kiện theo dõi và nghiên cứu thêm về triệu chứng cũng như tiến triển bệnh, tuy nhiên dựa vào số liệu hiện nay chúng tôi đang có tỷ lệ dương tính thu được khá cao trên tổng số mẫu nghiên cứu 280 mẫu với 67,85% cho kết quả dương tính với ít nhất một trong 23 tự kháng thể khảo sát. Điều này do phần lớn các bệnh nhân đều được chỉ định ANA khi có sự nghi ngờ tự miễn, các bệnh với triệu chứng viêm không rõ nguyên nhân. Trong đó, anti-Scl-70; anti-

SS A, anti-Ro-52 là ba tự kháng thể kháng nhân có tỷ lệ phát hiện cao nhất.

Ro-52 là một protein cảm ứng thuộc họ interferon, bao gồm 475 aa. Các kháng thể kháng lại Ro-52 đã được mô tả ở những bệnh nhân mắc các bệnh tự miễn khác nhau, như Lupus ban đỏ hệ thống, hội chứng Sjögren thường liên quan đến các kháng thể kháng Ro-52.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như của Ya-Ping Guo và cộng sự⁷ các kháng thể có tỷ lệ dương tính cao là Ro-52 (19%), anti SS-A (14,3%). Chúng tôi nhận thấy kháng thể Ro-52, SS-A là một loại tự kháng thể phổ biến. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng, Ro-52 và SS-A là một dấu hiệu huyết thanh hữu ích cho hội chứng SLE và hội chứng Sjögren, viêm cơ, xơ cứng toàn thân, PBC⁸.

Với các kháng thể kháng nhân chiếm tỷ lệ thấp PML (0,36%), Sp100 (1,07%) có liên quan tới bệnh xơ đường mật nguyên phát.

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ dương tính với ANA là 67,9% trong nhóm bệnh nhân được nghiên cứu và tỷ lệ dương tính với từng loại kháng thể cũng khác nhau, trong đó loại kháng thể kháng nhân có tỷ lệ dương tính cao nhất là Scl-70, SS-A và Ro-52.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Fritzler MJ, Wiik A, Fritzler ML, Barr SG.** The use and abuse of commercial kits used to detect autoantibodies. *Arthritis Res Ther* 2003; **5**(4): 192-201.
2. **Muro Y.** Antinuclear antibodies. *Autoimmunity* 2005; **38**(1): 3-9.
3. **Chakravarty E, Bush T, Manzi S, Clarke A, Ward M.** Prevalence of adult systemic lupus erythematosus in California and Pennsylvania

- in 2000: estimates obtained using hospitalization data. *Arthritis Rheum* 2007; **56**: 2092-2094.
4. **Arbuckle M, McClain M, Rubertone M, Scofield R, Dennis G, James J, Harley J.** Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; **349**: 1526-1533.
 5. **Heffernan MP, Do JH, Mehta J.** Antinuclear antibodies in dermatology. *Semin Cutan Med Surg* 2001; **20**(1): 2-13.
 6. **Li QZ, Karp DR.** Risk factors for ANA positivity in healthy persons. *Arthritis Res Ther* 2011 Mar 2; **13**(2): R38.
 7. **Guo YP, Wang CG.** The Prevalence of Antinuclear Antibodies in the General Population of China: A Cross-Sectional Study. *Cur Ther Res* 2014; **76**: 116-119.
 8. **Wang KY, Yang YH, Chuang YH.** The initial manifestations and final diagnosis of patients with high and low titers of antinuclear antibodies after 6 months of follow-up. *J Microbiol Immunol Infect* 2011 Jun; **44**(3): 222-228.

ĐÁNH GIÁ ẢNH HƯỞNG 1 SỐ THUỐC ĐẾN XÉT NGHIỆM ĐỊNH LƯỢNG CREATININ MÁU THEO PHƯƠNG PHÁP JAFFE

Trần Văn Chức¹, Nguyễn Hoài Nam¹, Nguyễn Kiều Hoa¹

TÓM TẮT

Định lượng creatinin trong máu là một xét nghiệm (XN) quan trọng để đánh giá chức năng thận, có thể được phân tích thông qua 2 phương pháp chính là enzym và Jaffe trong đó mỗi phương pháp đều có những ưu nhược điểm riêng. Từ thực tế và trong nghiên cứu này, chúng tôi xin trình bày 1 trường hợp lâm sàng thuốc cefoxitin làm tăng giá kết quả XN creatinin máu của bệnh nhân (BN) theo phương pháp Jaffe từ 61 $\mu\text{mol/L}$ lên 603 $\mu\text{mol/L}$. Trên cơ sở đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của 2 thuốc cefoxitin và furosemide đến kết quả XN

creatinin. Kết quả nghiên cứu cho thấy thuốc cefoxitin có thể gây tăng giá cho kết quả XN creatinin theo phương pháp Jaffe với mức độ tùy thuộc vào nồng độ thuốc có ở trong máu, trong khi với phác đồ điều trị furosemide cho BN hiện tại, chúng tôi chưa tìm thấy bằng chứng về sự ảnh hưởng của furosemide.

SUMMARY

ESTIMATION OF EFFECTS OF SOME DRUGS ON BLOOD CREATININ TEST USING JAFFE METHOD

Quantification of blood creatinine levels is an important test (XN) to evaluate kidney function, which can be analyzed through 2 main methods, enzyme and Jaffe, in which each method has its own advantages and disadvantages. From the facts and in this study, we would like to present a clinical case that cefoxitin drug artificially

¹Khoa Hoá Sinh - Bệnh viện Bạch Mai

Chịu trách nhiệm chính: Trần Văn Chức

Email: chucyhanoi@gmail.com

Ngày nhận bài: 14.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 22.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

increased the results of a patient's blood creatinine test (patient) by Jaffe method from 61 $\mu\text{mol/L}$ to 603 $\mu\text{mol/L}$. On that basis, we conducted a study to evaluate the effects of 2 drugs cefoxitin and furosemide on the results of creatinine test. The results of the study showed that cefoxitin can cause a false increase in the result of the Jaffe creatinine test with the level depending on the drug concentration in the blood, while with the current treatment regimen of furosemide for the patient, We have not found evidence of an effect of furosemide.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Định lượng creatinin máu là XN phổ biến để đánh giá chức năng thận, theo dõi tiến triển bệnh lý thận và điều trị cho bệnh nhân, XN hiện nay được phân tích thông qua 2 phương pháp chính là phương pháp enzym và Jaffe, trong đó phương pháp Jaffe là sử dụng phổ biến tại nhiều phòng XN. Phương pháp theo nguyên lý đo quang dựa trên phản ứng của creatinin với axit picric trong môi trường pH kiềm tạo thành sản phẩm màu, nồng độ creatinine trong mẫu tỷ lệ thuận với độ hấp thụ quang phức hợp màu sản phẩm. Ưu điểm của phương pháp là đơn giản và chi phí thấp tuy nhiên nhược điểm là tính đặc hiệu thấp hơn phương pháp enzym do có thể bị ảnh hưởng bởi các chất nội sinh hoặc các chất ngoại sinh làm ảnh hưởng đến phản ứng tạo sản phẩm màu của XN¹.

Trong các loại thuốc tác động gây nhiễu đến kết quả XN creatinin theo phương pháp Jaffe, cefoxitin là kháng sinh phổ rộng thuộc nhóm cefalosporin thế hệ 2, thường được sử dụng trên lâm sàng, đã được báo cáo gây tăng giả kết quả XN^{2, 3, 4}. Ngoài cefoxitin, thuốc lợi tiểu furosemide liều cao gây giảm

giả kết quả XN⁵. Các ảnh hưởng gây nhiễu của 2 thuốc này có nguy cơ dẫn đến đánh giá sai chức năng thận của bệnh nhân. Hiện tại ở Việt Nam chưa có nghiên cứu đánh giá ảnh hưởng của cefoxitin, furosemide đối với XN creatinin. Với mong muốn đưa ra cảnh báo về tác động gây nhiễu của 2 thuốc này đến các phòng XN, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với 2 mục tiêu:

Mục tiêu 1: Đánh giá ảnh hưởng thuốc cefoxitin đến XN creatinine phương pháp Jaffe.

Mục tiêu 2: Đánh giá ảnh hưởng thuốc furosemid đến XN creatinine phương pháp Jaffe.

II. CASE LÂM SÀNG

BN nữ 44 tuổi vào viện vì khó thở nhiều, chẩn đoán hẹp van hai lá khít, chỉ định nhập viện điều trị nong van hai lá. Vào ngày thứ 2 sau khi điều trị nong van hai lá, BN toàn trạng tốt, không có biểu hiện tình trạng suy thận. Điều trị cefoxitin 2g x 3 lọ pha trong 100 ml NaCl 9⁰/₀₀ truyền chia 3 lần vào 6, 14, 22h. Kết quả XN creatinin máu ngày thứ 2 sau nong van 2 lá có sự khác nhau lớn giữa 3 phương pháp Jaffe 1, Jaffe 2, enzym trên 3 hệ thống máy tại khoa với kết quả lần lượt 603, 178, 61 $\mu\text{mol/L}$. BN sau đó được lấy lại bệnh phẩm kiểm tra, kết quả mẫu 2 với lần lượt 3 phương pháp Jaffe 1, Jaffe2, enzym là 79, 73, 55 $\mu\text{mol/L}$. Kết quả XN ure của BN lần lượt là 5,4 và 4,8 mmol/L. Tra cứu lại bệnh án, bệnh phẩm mẫu 1 được lấy ngay sau thời điểm BN bắt đầu truyền thuốc cefoxitin, mẫu 2 được lấy sau khi kết thúc truyền thuốc 4h, cho thấy khả năng cao cefoxitin đã ảnh hưởng đến XN creatinin theo phương pháp Jaffe và BN được trả kết quả XN 61 $\mu\text{mol/L}$.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**3.1. Đối tượng nghiên cứu và tiêu chuẩn lựa chọn****3.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn**

- BN đồng ý tham gia nghiên cứu
 - Nhóm 1: 5 BN được điều trị cefoxitin liều 2g pha trong 100 ml NaCl 9 ‰ truyền trong 30 phút, có kết quả XN creatinin trước truyền trong khoảng tham chiếu.

- Nhóm 2: 5 BN được điều trị bằng furosemide liều 20-40 mg/giờ truyền tĩnh mạch, có kết quả XN định lượng creatinin máu trước truyền > 200 $\mu\text{mol/L}$.

3.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ: BN không đồng ý tham gia nghiên cứu.**3.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu**

Thời gian nghiên cứu: 12/2021 – 4/2022

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Hoá sinh – Bệnh viện Bạch Mai.

3.3. Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

3.4. Quy trình nghiên cứu:**3.4.1. Nghiên cứu invitro trên bệnh phẩm tại khoa**

- Lấy mẫu máu có kết quả creatinin trong khoảng tham chiếu, BN không điều trị cefoxitin, tạo thành mẫu pool, tiến hành thêm

thuốc cefoxitin vào các mẫu pool chia nhỏ để đạt được mẫu có các mức nồng độ thuốc khác nhau, tiến hành XN ure và creatinin huyết tương bằng 2 phương pháp enzym và Jaffe.

- Lấy mẫu máu có kết quả creatinin > 200 $\mu\text{mol/L}$, BN chưa điều trị furosemide, tạo thành mẫu pool, tiến hành thêm thuốc furosemide vào các mẫu pool chia nhỏ để đạt được mẫu có các mức nồng độ thuốc khác nhau, tiến hành XN ure và creatinin huyết tương bằng 2 phương pháp enzym và Jaffe.

3.4.2. Nghiên cứu invivo trên bệnh nhân sử dụng thuốc

- Lựa chọn BN theo tiêu chuẩn lựa chọn.

- Lấy 5 ml mẫu máu BN ở 3 thời điểm trước khi truyền, ngay sau truyền, sau truyền 2h thuốc cefoxitin vào ống chống đông Li-heparin.

- Lấy 5 ml mẫu máu BN ngay sau khi điều trị furosemide vào ống chống đông Li-heparin.

- Tiến hành phân tích XN ure, creatinin trên các mẫu máu thu được bằng 2 phương pháp enzym và Jaffe.

3.4.3. Phân tích xử lý số liệu theo mục tiêu nghiên cứu.

IV. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**4.1. Đánh giá ảnh hưởng cefoxitin đến XN creatinine phương pháp Jaffe.****4.1.1. Ảnh hưởng thuốc cefoxitin đến XN creatinin trên mô hình invitro****Bảng 4.1. Ảnh hưởng cefoxitin đến XN creatinin trên mô hình invitro**

Bước	DD 1	DD 2	Nồng độ Cefoxitin	Jaffe 1 $\mu\text{mol/L}$	Jaffe 2 $\mu\text{mol/L}$	Enzym $\mu\text{mol/L}$
B1	10 ml nước cất	Thuốc 1g	100 mg/mL	Kết quả		
B2	10 μL B1	490 μL BP	2000 $\mu\text{g/mL}$	763	230	80
B3	10 μL B2	990 μL BP	1000 $\mu\text{g/mL}$	495	164	85
B4	500 μL B3	500 μL BP	500 $\mu\text{g/mL}$	200	117	80

B5	500 μL B4	500 μL BP	250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	137	101	87
B6	500 μL B5	500 μL BP	125 $\mu\text{g}/\text{mL}$	105	97	81
B7	500 μL B6	500 μL BP	62 $\mu\text{g}/\text{mL}$	87	93	86
B8	500 μL BP		0	74	89	79

Nhận xét: Kết quả XN creatinin theo phương pháp Jaffe bị tăng theo nồng độ thuốc có trong mẫu, kết quả XN theo phương pháp Jaffe 1 bị ảnh hưởng nhiều hơn Jaffe 2, phương pháp enzym không bị ảnh hưởng.

4.1.2. Ảnh hưởng thuốc cefoxitin đến XN creatinin trên mô hình in vivo

Bảng 4.2. Ảnh hưởng cefoxitin đến XN creatinin trên mô hình in vivo

BN	Thời điểm lấy mẫu	Jaffe 1 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Jaffe 2 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Enzym ($\mu\text{mol}/\text{L}$)
BN 1	Trước truyền	72	79	72
	Ngay sau truyền	187	107	71
	Sau truyền 2h	80	80	72
BN 2	Trước truyền	59	60	51
	Ngay sau truyền	153	85	46
	Sau truyền 2h	58	58	45
BN 3	Trước truyền	104	111	95
	Ngay sau truyền	172	126	99
	Sau truyền 2h	114	110	99
BN 4	Trước truyền	82	86	80
	Ngay sau truyền	188	133	82
	Sau truyền 2h	94	96	82
BN 5	Trước truyền	74	80	73
	Ngay sau truyền	190	110	71
	Sau truyền 2h	80	81	72

Nhận xét: Kết quả XN creatinin theo phương pháp Jaffe 1, Jaffe 2 thời điểm lấy mẫu bệnh nhân ngay sau truyền thuốc cao hơn so với thời điểm trước truyền và sau truyền 2h, phương pháp Jaffe 1 ảnh hưởng nhiều hơn Jaffe 2, phương pháp enzym không bị ảnh hưởng.

4.2. Đánh giá ảnh hưởng furosemide đến XN creatinine theo phương pháp Jaffe.

4.2.1. Ảnh hưởng furosemide đến XN định lượng creatinin trên mô hình invitro.

Bảng 4.3. Ảnh hưởng furosemide đến XN creatinin trên mô hình invitro

Bước	DD 1	DD 2	Nồng độ Furosemide	Jaffe 1 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Jaffe 2 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Enzym ($\mu\text{mol}/\text{L}$)
B1			1 mg/mL	Kết quả		
B2	500 μL B1	500 μL BP	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	566	567	596

B3	500 μL B2	500 μL BP	250 $\mu\text{g}/\text{mL}$	785	776	780
B4	500 μL B3	500 μL BP	125 $\mu\text{g}/\text{mL}$	976	952	1023
B5	500 μL B4	500 μL BP	62,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$	969	982	1126
B6	500 μL B5	500 μL BP	31,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1062	1055	1159
B7	500 μL B6	500 μL BP	15,6 $\mu\text{g}/\text{mL}$	1150	1073	1204
B8	500 μL BP		0	1023	1034	1105

Nhận xét: Không có ảnh khác biệt lớn giữa kết quả XN creatinin ở các mức nồng độ thuốc furosemide khác nhau ở 3 phương pháp Jaffe 1, Jaffe 2 và enzym.

4.2.2. Ảnh hưởng furosemide đến XN định lượng creatinin trên mô hình in vivo

Bảng 4.4. Ảnh hưởng furosemide đến XN creatinin trên mô hình in vivo.

BN	Liều furosemide	Jaffe 1 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Jaffe 2 ($\mu\text{mol}/\text{L}$)	Enzym ($\mu\text{mol}/\text{L}$)
BN 1	Liều 20 mg/giờ	212	205	207
BN 2	Liều 20 mg/giờ	302	320	310
BN 3	Liều 40 mg/giờ	215	222	218
BN 4	Liều 40 mg/giờ	255	234	240
BN 5	Liều 40 mg/giờ	320	310	316

Nhận xét: Không có khác biệt lớn giữa kết quả XN creatinin theo 3 phương pháp Jaffe 1, Jaffe 2 và enzym ở các bệnh nhân suy thận được điều trị Furosemide liều 20-40 mg/giờ.

V. BÀN LUẬN KẾT QUẢ

5.1. Đánh giá ảnh hưởng cefoxitin đến XN creatinine phương pháp Jaffe.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên 2 mô hình invitro và in vivo. Kết quả invitro cho thấy cefoxitin gây tăng giả đến kết quả XN creatinin theo phương pháp Jaffe 1, Jaffe 2, mức độ ảnh hưởng tăng dần theo nồng độ thuốc trong bệnh phẩm và không gây ảnh hưởng đến phương pháp enzym. Đặc biệt ở mức nồng độ thuốc có trong bệnh phẩm là 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ khác biệt giữa kết quả XN creatinin phương pháp Jaffe 1 so với phương pháp enzym rất lớn 763 $\mu\text{mol}/\text{L}$ so với 80 $\mu\text{mol}/\text{L}$, tương tự như với case lâm sàng mà chúng tôi đã gặp.

Nghiên cứu in vivo tiến hành trên BN điều

trị thuốc cefoxitin liều 2g x 1lọ pha trong 100 ml NaCl 9 ‰ truyền trong 30 phút. Mẫu máu được lấy tại 3 thời điểm ngay trước truyền, ngay sau truyền và sau truyền 2 giờ. Kết quả XN creatinin theo phương pháp Jaffe 1, Jaffe 2 thời điểm lấy mẫu BN ngay sau truyền thuốc cao hơn so với thời điểm trước truyền và sau truyền 2h, phương pháp Jaffe 1 ảnh hưởng nhiều hơn so với phương pháp Jaffe 2, mức độ ảnh hưởng tương đương với khoảng nồng độ thuốc cefoxitin trong bệnh phẩm trên mô hình invitro 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các công bố trước đó của các tác giả S.R.Durham (1979), tác giả Wang (2020). Thuốc cefoxitin có thời gian bán hủy $T_{1/2}$ là 45 phút và nồng độ tối đa sau tiêm

tĩnh mạch liều 2g là 220 $\mu\text{g}/\text{mL}$, điều này giải thích lí do tại sao trong nghiên cứu *invivo*, mẫu bệnh phẩm BN được lấy ngay sau truyền ảnh hưởng nhiều hơn đến XN creatinin theo phương pháp Jaffe (mức độ ảnh hưởng tương đương khoảng nồng độ thuốc trong bệnh phẩm 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ trong mô hình *invitro*) và mẫu bệnh phẩm bệnh nhân lấy sau 2 giờ truyền thuốc bị ảnh hưởng rất ít đến XN. Giải thích cho trường hợp lâm sàng chúng tôi gặp phải, chúng tôi đưa ra giả thuyết rằng mẫu bệnh phẩm được lấy bên tay truyền trong lúc BN đang truyền thuốc dẫn đến nồng độ thuốc trong mẫu rất cao, ảnh hưởng lớn đến XN.

5.2. Đánh giá ảnh hưởng thuốc furosemide (1 thuốc lợi tiểu điều trị phổ biến cho BN suy thận) đến XN creatinine phương pháp Jaffe.

Kết quả trên *invitro* cho thấy bản thân furosemide không ảnh hưởng trực tiếp đến XN creatinin phương pháp Jaffe.

Trong quá trình tìm hiểu về các chất nội sinh và ngoại sinh có thể ảnh hưởng đến XN creatinin theo phương pháp Jaffe và enzym, Jerome L. Murphy (1989), đã nhận thấy thuốc furosemide gây thấp giả kết quả XN creatinin phương pháp Jaffe như kết quả trên bảng 5.1. sau đây:

Bảng 5.1. Ảnh hưởng furosemide đến XN creatinin Jerome L. Murphy (1989)

Bệnh nhân	Ngày	Creatinin Jaffe (mg/dL)	Creatinin Enzym (mg/dL)	Liều Furosemide (mg/kg/h)
BN 1	17/6	0.5 (44.2 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	Không làm	0
	18/6	0.0 (0 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	Không làm	10
	24/6	1.1 (97.24 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	Không làm	5
BN 2	15/7	0.4 (35.36 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	Không làm	1
	17/7	0.0 (0 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	2.6 (229.8 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	12
	28/7	0.4 (35.36 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	0.4 (35.4 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	0
BN 3	6/8	0.3 (26.52 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	Không làm	2
	7/8	0.0 (0 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	0.7 (61.88 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	9
	15/8	0.1 (8.84 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	0.5 (44.2 $\mu\text{mol}/\text{L}$)	3

Kết quả của chúng tôi cũng tương tự như nghiên cứu Jerome L. Murphy (1989) rằng sản phẩm chuyển hoá của furosemide trong cơ thể là furosemide glucuronic and saluamine (CSA) có thể ức chế phản ứng tạo phức hợp màu giữa creatinin và acid picric dẫn đến làm giảm kết quả XN creatinin máu phương pháp Jaffe. Tuy nhiên nghiên cứu của chúng tôi trên mô hình *invivo* ở các BN

được điều trị furosemide với liều 20-40 mg/giờ (< 1mg/kg/giờ), liều thấp hơn rất nhiều so với liều các BN được chỉ định trong nghiên cứu của Jerome L. Murphy (1989). Liều cao nhất lên tới 12 mg/kg/giờ, mức độ liều cao như vậy hiện nay không được chỉ định trên lâm sàng. Chúng tôi chưa tìm thấy được bằng chứng ảnh hưởng của furosemide đến XN creatinin phương pháp Jaffe.

VI. KẾT LUẬN

Thuốc cefoxitin có thể gây tăng giả cho kết quả XN creatinin máu theo phương pháp Jaffe, mức độ ảnh hưởng phụ thuộc vào nồng độ thuốc có trong máu, với BN truyền thuốc cefoxitin cần lấy mẫu sau khi truyền thuốc ít nhất 2h để tránh ảnh hưởng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nigam, P. K. & Chandra, A. Positive and negative false estimates of serum creatinine. *Interventional-Cardiology*. **09**, (2017).
2. Wang, D., Emanuel, A. J., Neyens, R. R., Bakharev, E. & Babic, N. Cefoxitin-Serum Creatinine Interference in a Patient With

Nontuberculous Mycobacteria Ventriculomeningitis. *J Pharm Pract* 897190020921613 (2020)

3. Durham, S. R., Bignell, A. H. & Wise, R. Interference of cefoxitin in the creatinine estimation and its clinical relevance. *J Clin Pathol* **32**, 1148–1151 (1979).
4. Hyneck, M. L., Berardi, R. R. & Johnson, R. M. Interference of cephalosporins and cefoxitin with serum creatinine determination. *Am J Hosp Pharm* **38**, 1348–1352 (1981).
5. Murphy, J. L. et al. Interference with creatinine concentration measurement by high dose furosemide infusion. *Critical care medicine* **17**, 889–890 (1989).

GIÁ TRỊ CỦA CÁC XÉT NGHIỆM HS-TNI VÀ HS-TNT TRONG CHẨN ĐOÁN NHỒI MÁU CƠ TIM CẤP

Phạm Thị Thu Hương*, Tạ Thành Văn** và Nguyễn Thị Ngọc Lan**

TÓM TẮT

Nhồi máu cơ tim cấp (NMCT) là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong và gánh nặng bệnh tật trên toàn cầu, đòi hỏi phải được chẩn đoán sớm và điều trị tích cực kịp thời. Các xét nghiệm Troponin độ nhạy cao (high-sensitivity: hs) hiện được khuyến cáo sử dụng chẩn đoán nhồi máu cơ tim bao gồm Troponin T độ nhạy cao (hs-TnT) và Troponin I độ nhạy cao (hs-TnI). Trong đó một số nghiên cứu cho thấy

xét nghiệm TnI hs có ưu thế hơn khi sử dụng điểm cắt phân tầng theo giới và ít dương tính giả ở bệnh nhân suy thận. **Mục tiêu:** Đánh giá giá trị chẩn đoán nhồi máu cơ tim cấp của xét nghiệm hs-TnI và xét nghiệm hs-TnT. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang. 86 bệnh nhân nghi ngờ nhồi máu cơ tim cấp đến khám và điều trị tại Bệnh viện đa khoa tỉnh Thái Bình và Bệnh viện tim Hà Nội. **Kết quả:** Mức cut-off tối ưu của hs-TnI là 140,06 pg/mL, tại giá trị này độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán lần lượt là 88,5% và 80%, AUC=0,881. Với hs TnT, ngưỡng cut-off tối ưu là 35,69 pg/mL có giá trị độ nhạy 90,2% và độ đặc hiệu 73,4%, AUC = 0,861. **Kết luận:** Xét nghiệm Troponin T độ nhạy cao và I độ nhạy cao đều có giá trị trong chẩn đoán NMCT cấp.

*Bệnh viện đa khoa tỉnh Thái Bình

**Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Ngọc Lan

Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 20.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 23.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

SUMMARY**VALUE OF HS-TNI AND HS-TNT TESTS IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION**

Acute myocardial infarction (AMI) is one of the leading causes of death and disease burden globally, requiring early diagnosis and prompt aggressive treatment. The high-sensitivity Troponin I is considered to be superior when using the sex stratified cut-off point and less false positive in patients with renal failure.

Objectives: To evaluate the diagnostic value of acute myocardial infarction of high-sensitivity TnI and TnT test. **Method:** A cross-sectional descriptive study is used in this research. 86 patients with suspected acute myocardial infarction were examined and treated at Thai Binh General Hospital and Hanoi Heart Hospital.

Result: The optimal cut-off level of hs-TnI was 140.06 pg/mL, at this value the sensitivity and specificity of the diagnosis were 88.5% and 80%, respectively, AUC=0.881. With hs-TnT, the optimal cut-off is 35.69 pg/mL, at this value, the sensitivity and specificity is 90.2%, 73.4%, respectively, AUC = 0,861. **Conclusion:** The hs TnI and hs TnT test are valuable in the diagnosis acute MI.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhồi máu cơ tim cấp (acute myocardial infarction: AMI) là bệnh cảnh nội khoa cần được can thiệp cấp cứu, đứng đầu trong các nguyên nhân gây tử vong và gánh nặng toàn cầu. Sự đồng thuận của các hiệp hội tim mạch lớn trên thế giới đã coi Troponin là trung tâm của tiêu chuẩn chẩn đoán bắt đầu một thời kì mà dấu ấn sinh học Troponin được sử dụng như một điều kiện cần có để chẩn đoán và theo dõi bệnh nhân. Sự ra đời của xét nghiệm Troponin độ nhạy cao (high sensitivity: hs) hỗ trợ chẩn đoán và theo dõi

điều trị bệnh nhân AMI một cách hiệu quả. Những xét nghiệm này cho phép phát hiện sớm hơn AMI, và với các xét nghiệm này, hs-Tn có thể được phát hiện ngay cả ở phần lớn các cá nhân bình thường. Hiện nay trên lâm sàng có duy nhất một loại xét nghiệm Troponin T độ nhạy cao (high-sensitivity Troponin T: hs-TnT) của Roche Diagnostics nhưng có rất nhiều loại xét nghiệm Troponin I hs Abbott, Siemens, Beckman Coulter với các giá trị tham chiếu khác nhau. Xét nghiệm Troponin T độ nhạy cao (high-sensitivity Troponin I: hs-Troponin I) được cho là có giá trị phân tầng nguy cơ theo giới và hạn chế được tỉ lệ dương tính giả ở bệnh nhân có bệnh thận mạn tính. Để đánh giá hiệu quả trong chẩn đoán nhồi máu cơ tim cấp của xét nghiệm hs-TnT và hs-TnI trên hệ thống Atellica chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: Đánh giá giá trị chẩn đoán nhồi máu cơ tim cấp của xét nghiệm Troponin độ nhạy cao.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**1. Đối tượng**

BN có triệu chứng đau ngực kiểu mạch vành nghi ngờ NMCT cấp đến khám và điều trị tại BVĐK tỉnh Thái Bình, BV tim Hà Nội trong thời gian từ tháng 7/2021 đến tháng 8/2022.

Tiêu chuẩn loại trừ: BN không được chụp mạch vành chẩn đoán xác định, BN có tiền sử suy tim, rung nhĩ, cuồng nhĩ, BN mới có NMCT trong vòng 30 ngày, BN thực hiện các thủ thuật trong buồng tim, mang máy tạo nhịp, BN suy thận nặng, BN chấn thương ngực.

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1 Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

2.2 Cỡ mẫu nghiên cứu

Áp dụng công thức tính cỡ mẫu theo độ đặc hiệu cho nghiên cứu về chẩn đoán, độ đặc hiệu tổng hợp của xét nghiệm hs TnI của Siemens là 95.9%.[4] Tỷ lệ NMCT theo thống kê của Hiệp hội Tim mạch Hoa Kỳ năm 2020 là 3.0%.[6]

$$n_{sp} = \frac{Z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 \times p_{sp} \times (1-p_{sp})}{w^2 (1-p_{dis})} = \frac{1.96^2 \times 0.959 \times 0.041}{0.05^2 (1-0.03)} = 63$$

Trong đó: n_{sp} : cỡ mẫu tối thiểu tính theo độ đặc hiệu, Chọn mức ý nghĩa thống kê $\alpha=0.05$, $Z_{1-\frac{\alpha}{2}}=1.96$, w : mức sai số (lựa chọn: $w=0.05$), p_{sp} : độ đặc hiệu, p_{dis} : tỉ lệ mắc bệnh hiện hành. Cỡ mẫu tối thiểu được xác định là 63 BN. Trong thời gian nghiên cứu chúng tôi đã chọn được 86 BN vào nhóm nghiên cứu.

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện. BN có triệu chứng nghi ngờ NMCT cấp, có cơn đau thắt ngực kiểu mạch vành. Thu thập thông tin hồ sơ bệnh án của BN theo mẫu bệnh án nghiên cứu. Thu thập mẫu bệnh phẩm từ KXN, tiến hành tách huyết thanh và bảo quản mẫu bệnh phẩm ở -20°C . Mẫu bệnh phẩm được vận chuyển và tiến hành phân tích tại KXN BV Đại học Y Hà Nội. Tiến hành thu thập thông tin tái khám hoặc phỏng vấn BN qua điện thoại sau 30 ngày để thu thập thông tin biến cố sau 30 ngày.

2.3 Chỉ số nghiên cứu

- Đặc điểm nhân trắc của BN: Tuổi, giới, yếu tố nguy cơ bệnh mạch vành
- Kết quả cận lâm sàng: TnT hs, TnI hs, nhánh mạch vành tổn thương.
- Giá trị chẩn đoán của xét nghiệm hs TnI:

độ nhạy, độ đặc hiệu, diện tích dưới đường cong AUC, giá trị tiên lượng biến cố trong 30 ngày

2.4 Đạo đức nghiên cứu

BN được giải thích và đồng ý tham gia nghiên cứu. Nghiên cứu không phải lấy thêm mẫu bệnh phẩm mới từ BN mà được thu thập từ mẫu có sẵn tại các KXN. Nghiên cứu không ảnh hưởng tới quá trình điều trị, kết quả và chi phí điều trị của BN.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian từ tháng 7/2021 đến tháng 8/2022 chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu 86 BN nghi ngờ NMCT cấp được chụp ĐMV tại BVĐK tỉnh Thái Bình và BV tim Hà Nội, có 56 BN được chẩn đoán NMCT sau khi chụp ĐMV.

3.1 Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi, một số bệnh nhân ở các tỉnh miền núi phía Bắc như Lào Cai, Cao Bằng... nghiên cứu diễn ra trong thời gian dịch bệnh covid-19 căng thẳng, bệnh nhân còn có tâm lý ngại khi đến viện nên thời gian xuất hiện triệu chứng đau ngực của bệnh nhân tính đến khi nhập viện tương đối muộn. Bệnh nhân sau khi có triệu chứng đau ngực đến viện muộn nhất là 5 ngày, sớm nhất là 2 giờ, trung bình là 22,08 giờ. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu và các yếu tố nguy cơ kèm theo được thể hiện ở Bảng 3.1.

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu và yếu tố nguy cơ kèm theo

Biến số nghiên cứu	$(\bar{X} \pm SD \text{ hoặc } n\%)$			P
	Chung	NMCT	Không phải NMCT	
Tuổi (năm)	66,5 \pm 13,85	69,88 \pm 11,04	66,2 \pm 16,38	0,200
Tuổi >65 (n)	48 (55,8%)	38 (67,9%)	10 (33,3%)	0,003

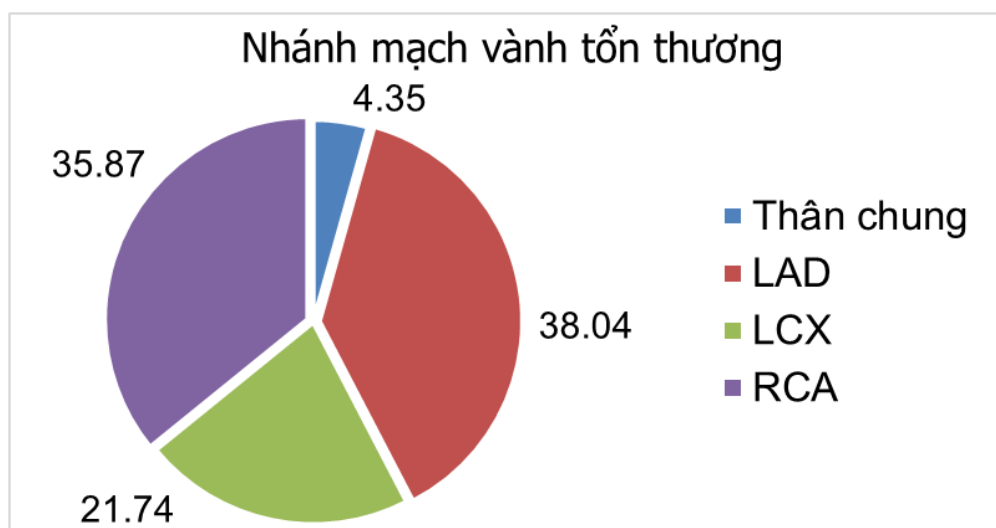
Nam (n)	60 (69,8%)	43 (76,8%)	17 (59,7%)	0,083
Tăng huyết áp (n)	55 (64%)	40 (71,4%)	15 (26,8%)	0,061
Hút thuốc lá (n)	15 (17,4%)	14 (25%)	1 (3,3%)	0,015
Đái tháo đường (n)	19 (22,1%)	15 (26,8%)	4 (13,3%)	0,182
RLCH lipid (n)	27 (31,4%)	17 (30,4%)	10 (33,3%)	0,811

- Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $66,5 \pm 13,85$. Sự khác nhau về độ tuổi trung bình của nhóm có NMCT và nhóm không có NMCT khác nhau không có ý nghĩa thống kê ($p=0,200$). Trong nhóm trên 65 tuổi ($n=48$), nhóm có NMCT chiếm tỉ lệ cao hơn có ý nghĩa (67,9%) so với nhóm NMCT (33,3%) với $p=0,003$.

- Trong 4 yếu tố nguy cơ được khảo sát,

THA chiếm tỉ lệ cao nhất (64,0%), sau đó là RLCH lipid (31,4%), ĐTD (22,1%), hút thuốc lá có tỉ lệ thấp nhất (17,4%) và có sự khác biệt về tỷ lệ hút thuốc lá ở nhóm được chẩn đoán NMCT và nhóm không NMCT.

Tỷ lệ tổn thương mạch vành ở các vị trí giải phẫu khác nhau được thể hiện ở Hình 3.1.



Hình 3.1. Tỷ lệ tổn thương mạch vành ở các vị trí giải phẫu khác nhau

Hình 3-1 cho thấy trong nhóm BN có NMCT, ĐMV tổn thương nhiều nhất là ĐMV liên thất trước chiếm tỉ lệ 38,4%, tiếp đến là ĐMV phải (35,87%), ĐMV mũ (21,74%), thân chung ĐMV trái chiếm tỉ lệ thấp nhất (4,35%).

3.2 Giá trị chẩn đoán của hs-TnI Atellica so với hs TnT trong NMCT cấp

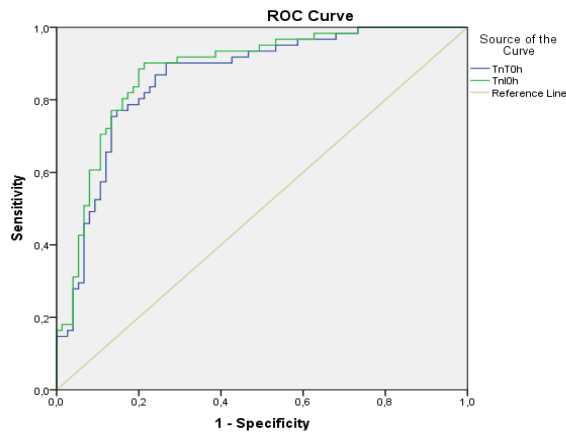
Bệnh nhân được lấy máu làm các xét nghiệm hóa sinh, mẫu bệnh phẩm được thu thập sớm nhất có thể ngay sau khi bệnh nhân vào viện. Thời gian trung bình từ khi bệnh nhân nhập viện đến khi được lấy mẫu là 58 phút. Nồng độ hs-TnI và hs-TnT của nhóm nghiên cứu nhồi máu cơ tim và nhóm không nhồi máu cơ tim được thể hiện ở bảng 3.2.

Bảng 3.2. Nồng độ hs-TnI và hs-TnT của nhóm nghiên cứu nhồi máu cơ tim và nhóm không nhồi máu cơ tim

Xét nghiệm	hs-TnT			Hs-TnI		
	Min	Max	Trung bình	Min	Max	Trung bình
NMCT	4,19	1812	786,45± 1134,2	2,58	18820	7612,77± 8976,2
Không phải NMCT	7,17	5689	225,97±90,11	3,16	25750	2244,92± 5287,68
P			0,002			0,0001

Như được chỉ ra ở Bảng 3.2, nồng độ hs-TnT và hs-TnI ở nhóm bệnh nhân NMCT cao hơn một cách có ý nghĩa thống kê rõ rệt so với ở nhóm không nhồi máu cơ tim.

Đường cong ROC thể hiện giá trị chẩn đoán NMCT của hs-TnT và hs-TnI được thể hiện ở Hình 3.2.



Hình 3.2. Đường cong ROC thể hiện giá trị chẩn đoán NMCT của hs-TnT và hs-TnI

Khả năng dự đoán NMCT của xét nghiệm Troponin I-hs ở mức tốt với AUC=0,881, khả năng dự đoán NMCT của xét nghiệm TnT- hs với AUC=0,861

Độ nhạy, độ đặc hiệu ở một số giá trị cắt (cut-off) của hs-TnT và hs-TnI trong chẩn đoán nhồi máu cơ tim cấp được thể hiện ở Bảng 3.3.

Bảng 3.3. Một số giá trị cut-off của hs Troponin và khả năng chẩn đoán tương ứng

hs TnI			hs TnT		
Giá trị (pg/mL)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Giá trị (pg/mL)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
3,1	100	26,7	7,2	100	26,7
5,08	96,7	40	14,1	96,7	38,7
34,31	90,2	70,7	16,58	95,1	45,3
55,77	90,2	74,7	35,69	90,2	73,4
140,06	88,5	80	52,9	78,7	82,7
19583	16,4	100	1926,5	14,8	100

Chung	90,2	78,7	Chung	89,29	70,0
-------	------	------	-------	-------	------

Các kết quả thu được ở Bảng 3.3 cho thấy, giá trị cắt (cut-off) tối ưu của hs-TnI là 140,06 pg/mL, tại giá trị này độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán lần lượt là 88,5% và 80. Với hs TnT, ngưỡng cut-off tối ưu là 35,69 pg/mL có giá trị độ nhạy 90,2% và độ đặc hiệu 73,4.

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu của chúng tôi có đặc điểm tương đương với các nghiên cứu khác ở trong nước và quốc tế về tuổi, giới và yếu tố nguy cơ. Tuổi cao là một yếu tố tiên lượng nặng trong NMCT do BN cao tuổi thường có triệu chứng đau ngực không điển hình, tổn thương ĐMV nhiều nhánh và phức tạp. Trong nhóm trên 65 tuổi (n=48), nhóm có NMCT chiếm tỉ lệ cao hơn (67,9%) có ý nghĩa (p=0,003) so với nhóm không có NMCT (33,3%). Trong 86 BN nghiên cứu, nam giới có 60 BN (chiếm 69,8%) cao hơn so với nữ (30,2%), tỉ lệ này cao hơn so với nghiên cứu của Phạm Quang Tuấn năm 2019 (66,4%) [2] nghiên cứu Andrew R Chapman (61,1%) [5], có lẽ liên quan đến nguy cơ hút thuốc lá ở nhóm nam giới (14/15 nam giới hút thuốc lá có NMCT). Hai yếu tố nguy cơ THA chiếm tỉ lệ cao nhất (64,0%) và RLCH lipid (31,4%). Có sự khác biệt về yếu tố nguy cơ giữa hai nhóm NMCT và không có NMCT tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê trừ yếu tố nguy cơ về hút thuốc lá (p=0,003). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tổn thương có ý nghĩa ở các nhánh thân chung ĐMV trái, ĐMV liên thất trước, ĐMV mũ và ĐMV phải lần lượt là 4,35%,

38,04%, 21,74%, 35,87%, có 4 BN bị tổn thương 3 thân ĐMV chiếm 7,14%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương ứng với các kết quả nghiên cứu trong và ngoài nước về nhánh ĐMV tổn thương có ý nghĩa hay gặp nhất là nhánh ĐMV liên thất.[2] [7]

Nồng độ hs TnT, hs TnI của nhóm bệnh nhân NMCT và không phải NMCT ở hai nhóm bệnh nhân là khác biệt có ý nghĩa thống kê (p=0,002 và 0,001). Ở ngưỡng xấp xỉ bách phân vị thứ 99 chung cho cả 2 giới đối với xét nghiệm hs TnI 46,99 pg/mL, độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán lần lượt là 90,2% và 73,3%. Mức cut-off tối ưu với xét nghiệm 140,06 pg/mL độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 88,5% và 80,0%, diện tích dưới đường cong AUC 0,881. Nghiên cứu của tác giả Jasper Boeddinghaus và cộng sự trên hs-TnI Centaur thực hiện trên 1755 BN cũng có diện tích dưới đường cong AUC dự báo HCVC là 0,94.[3] Nghiên cứu của Andrew R Chapman năm 2018 trên 1920 BN có độ nhạy 90,8% và độ đặc hiệu 74,4% [5] tương tự trong nghiên cứu của chúng tôi khi sử dụng ngưỡng cut-off chung cho cả hai giới. Các nghiên cứu trong nước trên giá trị chẩn đoán của hs -TnT của tác giả Phạm Quang Tuấn ở mức cut-off 16,5 pg/mL (giới hạn 99% bách phân vị là 14 pg/mL) có độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 84,3% và 87,1%, diện tích dưới đường cong AUC 0,90,[2] nghiên cứu của tác giả Phạm Trọng Khoa tại khoa Cấp cứu Bệnh viện Đại học Y Hà Nội sử dụng giá trị cut-off 14 pg/mL có độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 89,1%

và 66,7%, diện tích dưới đường cong AUC 0,863.[1] Trong nghiên cứu của chúng tôi, hs TnT có ngưỡng cut-off 16,58 có độ nhạy cao hơn 95,1%, tuy nhiên độ đặc hiệu chỉ đạt 45,3% thấp hơn các nghiên cứu trên do nhóm BN loại trừ NMCT có 7 BN biểu hiện viêm cơ tim sau nhiễm Covid 19 hoặc tiêm vaccin chiếm tỉ lệ 23,3% hoặc các bệnh nhân có tổn thương cơ tim do suy hô hấp cấp, phù phổi và tim nhịp nhanh.

V. KẾT LUẬN

Xét nghiệm hs-TnI trên hệ thống Atellica, Siemens và hs TnT trên hệ thống C8000, Roche có giá trị tốt trong chẩn đoán NMCT cấp. Giá trị cut-off tối ưu với xét nghiệm hs-TnI 140,06 pg/mL độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 88,5% và 80,0% và diện tích dưới đường cong AUC=0,881. Với hs-TnT, giá trị cắt tối ưu là 35,69 pg/mL có giá trị độ nhạy 90,2% và độ đặc hiệu 73,4%, AUC = 0,861.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Trọng Khoa, Hoàng Bùi Hải. Giá trị chẩn đoán của hs-TroponinT thời điểm 0- 1h ở bệnh nhân đau ngực đến cấp cứu. Tạp chí Y học Việt Nam 2021; **509**(1): 172-176.
2. Phạm Quang Tuấn, Nguyễn Tá Đông, Huỳnh Văn Minh. Vai trò IMA (ischemia modified albumin) phối hợp với hs-Troponin T (hs-TnT) huyết thanh trong chẩn đoán hội chứng vành cấp không ST chênh lên. Tạp chí Y dược học Huế 2017; **6**(06):64-69.
3. Boeddinghaus J, Twerenbold R, Nestelberger T, et al. Clinical Validation of a Novel High-Sensitivity Cardiac Troponin I Assay for Early Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *Clin Chem* 2018; **64**(9): 1347-1360.
4. Chiang CH, Chiang CH, Lee GH, et al. Safety and efficacy of the European Society of Cardiology 0/1-hour algorithm for diagnosis of myocardial infarction: systematic review and meta-analysis. *Heart* 2020; **106**(13): 985-991.
5. Chapman AR, Fujisawa T, Lee KK, et al. Novel high-sensitivity cardiac troponin I assay in patients with suspected acute coronary syndrome. *Heart* 2019; **105**(8): 616-622.
6. Virani SS, Alonso A, Benjamin EJ, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2020 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation* 2020 Mar 3; **141**(9): e139-e596.
7. Barrabés JA, Figueras J, Moure C, Cortadellas J, Soler-Soler J. Prognostic value of lead aVR in patients with a first non-ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Circulation* 2003 Aug 19; **108**(7): 814-819.

ĐỊNH LƯỢNG THUỐC GÂY TÊ ROPIVACAIN TRONG HUYẾT THANH BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỎNG KHỐI PHỔ

Trịnh Minh Việt*

TÓM TẮT

Mục tiêu: “Phát triển phương pháp phân tích nhanh, có độ nhạy, độ chính xác cao để định lượng ROP huyết thanh bằng HPLC-MS”. Đối tượng và phương pháp: Mẫu chuẩn ropivacain pha trong huyết thanh trắng (n=10), mẫu kiểm tra chất lượng (QC) chứa ROP ở 3 mức nồng độ (n=6); mẫu thử là huyết thanh bệnh nhân sau phẫu thuật gây tê ngoài màng cứng (n=30). Phương pháp sắc ký lỏng ghép khối phổ (liquid chromatography–mass spectrometry: HPLC-MS) sử dụng nguồn ion hóa phun điện tử (Electrospray ionization-ESI) với chế độ giám sát nhiều phản ứng (multiple reaction monitoring - MRM) để định lượng ROP huyết thanh. Các mẫu được pha vào dung dịch đệm chiết, ly tâm, lọc và phân tích trên cột Zobax và nhận diện bằng đầu dò khối phổ theo các mảnh ion đặc trưng: m/z 275,3-> 126,2 đối với ROP; m/z 290,2-> 198,2 với diazepam-d5. Kết quả: Phương pháp cho độ tuyến tính cao trong khoảng đo 0,1–10 µg/mL và giới hạn định lượng thấp là 0,1 µg/mL. Độ chính xác dao động trong khoảng 96,76 – 102,48%, hiệu suất chiết cao từ 94,88-98,85%. Lượng mẫu yêu cầu thấp (10µL), độ đặc hiệu cao và thời gian phân tích ngắn (6 phút) nên rất thích hợp để xác định ROP huyết thanh cho bệnh nhân nghi ngờ ngộ độc thuốc.

Từ khóa: Thuốc tê, ropivacain, huyết thanh, sắc ký lỏng - khối phổ

SUMMARY

DETERMINATION OF ROPIVACAIN IN SERUM USING LIQUID CHROMATOGRAPHY - MASS SPECTROMETRY

Objective: “Develop a fast, sensitive, and highly accurate analytical method for the quantification of serum ROP by HPLC-MS”. **Subjects and methods:** Standard sample ropivacaine mixed in white serum (n=10), quality control sample (QC) containing ROP at 3 lever concentrations (n=6); Samples were serum from patients after epidural surgery (n=30). Liquid chromatography–mass spectrometry (HPLC-MS) used an electron spray ionization (ESI) source with multiple reaction monitoring (MRM) for determination. serum ROP. Samples were mixed into extraction buffer, centrifuged, filtered and analyzed on a Zobax column and identified by mass spectrometry probe according to characteristic ion fragments: m/z 275.3-> 126.2 for ROP; m/z 290.2->198.2 with diazepam-d5. **RESULTS:** The method showed high linearity over the measuring range 0.1–10 µg/mL and a low limit of quantification of 0.1 µg/mL. The accuracy ranges from 96.76 to 102.48%, the extraction efficiency is from 94.88 to 98.85%. The low sample volume required (10 µL), high specificity and short analysis time (6 minutes) make it very suitable for determining serum ROP for patients with suspected drug toxicity.

*Viện 69

Chịu trách nhiệm chính: Trịnh Minh Việt

Email: Dr.minhviet@gmail.com

Ngày nhận bài: 13.8.2022

Ngày phản biện khoa học: 22.9.2022

Ngày duyệt bài: 24.9.2022

Keywords: Local anesthetic, ropivacaine, serum, liquid chromatography - mass spectrometry

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

ROP là thuốc gây tê cục bộ dạng amide tác dụng kéo dài được sử dụng ở nồng độ cao để gây tê phẫu thuật và nồng độ thấp hơn để giảm đau sau phẫu thuật[5]. Nó tương tự như bupivacain về mặt hóa học [1] nhưng độc tính của ROP đối với hệ tim mạch ít hơn so với các thuốc gây mê khác vì ái lực của nó với các kênh natri trong tim thấp[7]. Vì vậy, ROP một được sử dụng phổ biến trong lâm sàng, chủ yếu để gây tê vùng, gây tê ngoài màng cứng, giảm đau sau phẫu thuật hoặc chuyên dạ [4]. Tuy nhiên, cũng có những tác dụng không mong muốn như hạ huyết áp, giảm nhịp tim, buồn nôn... đặc biệt nguy hiểm khi nồng độ ROP quá cao trong huyết thanh có thể gây tử vong cho bệnh nhân. Do đó, một kỹ thuật phân tích nhanh chóng và chính xác để xác định nồng độ của ROP trong huyết thanh là rất cần thiết.

Hiện nay, các phương pháp phân tích ROP huyết thanh chủ yếu dựa trên việc chuẩn bị mẫu bằng chiết lỏng/lỏng, kết tủa protein, pha rắn, chiết vi pha rắn [2]... hạn chế của các phương pháp này là cần lượng mẫu lớn, kỹ thuật làm sạch phức tạp, tốn nhiều thời gian và khó tự động hóa. Ở Việt Nam, chưa có nghiên cứu nào định lượng ROP trong huyết thanh bằng HPLC-MS. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục đích “phát triển phương pháp phân tích nhanh, có độ nhạy, độ chính xác cao để định lượng ROP huyết thanh bằng HPLC-MS” giúp chẩn đoán chính xác những bệnh nhân

có các triệu chứng nghi ngờ ngộ độc ROP quá liều

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng:

- Mẫu ROP chuẩn, huyết thanh trắng (n=10) (là huyết thanh bệnh nhân khỏe mạnh không sử dụng thuốc ROP), các mẫu kiểm tra chất lượng chứa ROP ở 3 mức nồng độ thấp, trung bình và cao (n=6).

- Mẫu thử: Huyết thanh bệnh nhân sau gây tê ngoài màng cứng bằng ROP (n=30)

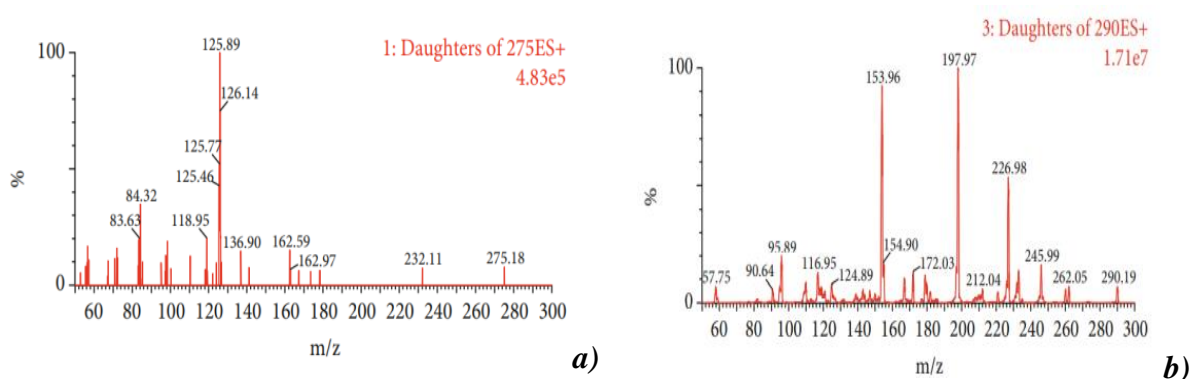
2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Hóa chất

ROP và diazepam-d5 (nội chuẩn-IS) tinh khiết > 98%, của Sigma-Aldrich Co. LLC – Mỹ. Acetonitril và metanol (loại HPLC) của Merck (Darmstadt, Đức). Nước tinh khiết (18,2M) chuẩn bị trên hệ thống Elga Centra RDS

2.2.2. Dụng cụ và phương pháp

Hệ thống sắc ký lỏng Agilent 1290 ghép đầu dò khối phổ Agilent 6430 Triple Quadrupole (Agilent – Mỹ). Cột Zobax C18 4,6x50mm x 5 µm (Agilent – Mỹ) được sử dụng làm pha tĩnh và nhiệt độ cột đặt ở 30°C. Pha động là axetonitril chứa 0,1% axit formic (FA) / trong nước chứa 0,1% FA, rửa giải bằng gradien với tốc độ dòng 0,2 mL/phút. Điều kiện khối phổ: Khí nito 6L/phút, điện áp mao quản 1000 V và nhiệt độ khử ẩm là 300° C, chế độ quét MRM. Các mảnh phổ chọn như sau: m/z 275,3-> 126,2 (định lượng) và m/z 275,3-->84.3 (định tính) đối với ROP m/z 290,2-> 198,2 (định lượng) và 290,2-> 154.0 (định tính) cho diazepam-d5 (Hình 1).



Hình 1: Khối phổ của ROP (a) và diazepam-d5 (b)

Chọn diazepam-d5 là chất nội chuẩn vì trong cùng điều kiện sắc ký, diazepam-d5 được tách hoàn toàn, có thời gian lưu gần với thời gian lưu của roipi trong mẫu thử và có cấu trúc hóa học tương tự như chất thử.

2.2.3. Chuẩn bị mẫu đường chuẩn và các mẫu kiểm tra

Dung dịch gốc của ROP (500 µg/mL) và diazepam-d5 (25µg /mL) pha loãng bằng methanol, bảo quản ở 4°C cho tới khi sử dụng. Đường chuẩn bao gồm: 01 mẫu huyết thanh trắng (blank) và 08 mẫu huyết thanh có pha chuẩn roipi có nồng độ từ 0,1 – 10µg/mL. Các mẫu kiểm tra (QC) với 3 mức nồng độ: Lower Quality Control Sample (LQC- 0,3 µg/mL), Middle Quality Control Sample (MQC-4,0µg/mL), High Quality Control Sample (HQC - 8,0 µg/mL); được chuẩn bị từ dung dịch chuẩn gốc độc lập.

2.2.4. Xử lý mẫu

Huyết thanh (10 µL), acetonitril (1 mL) được thêm vào ống ly tâm 2 mL, sau đó được lắc trộn trong 1,0 phút. Sau khi ly tâm (6000 vòng/phút, 4°C, 10 phút), hút pha nổi phía trên lọc qua màng lọc 0,45µm bằng bơm tiêm PolyTetraFluoroEthylene (PTFE), vào lọ 2 mL để phân tích sắc ký

2.2.5. Thẩm định phương pháp

Theo hướng dẫn “Quy trình thẩm định phương pháp phân tích mẫu sinh học của Cơ quan Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (US-FDA)” [3]

3. Kết quả và bàn luận

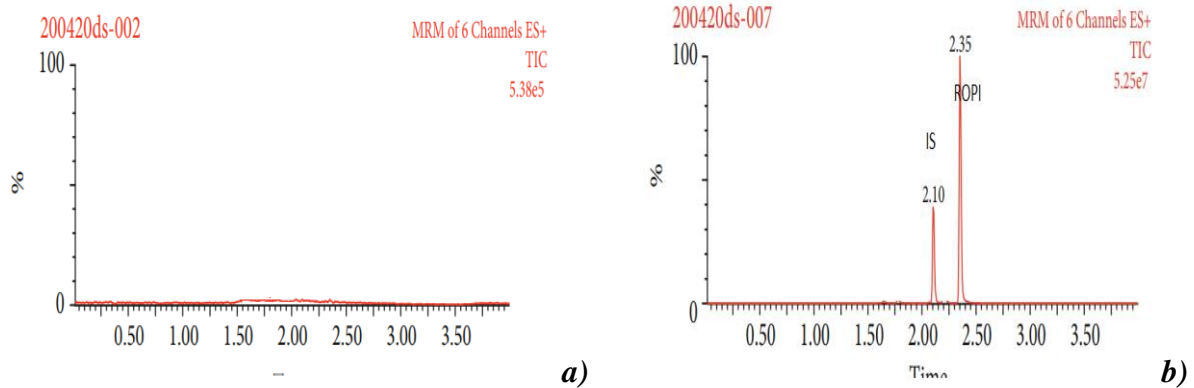
3.1. Xây dựng phương pháp

Đã tối ưu hóa các điều kiện sắc ký về tỷ lệ pha động, chế độ dung môi, lựa chọn cột phù hợp để có thể rửa giải ROP khỏi những chất phức tạp khác trong nền mẫu huyết thanh [8]. Đã tiến hành khảo sát và so sánh hiệu quả tách chiết của một loạt các chế độ dung môi khác nhau như: metanol hoặc axetonitril (chứa 0,1% axit fomic), dung dịch đệm amoni axetat 10mmol/L (chứa 0,1% FA) trong axetonitril hoặc metanol, và 10mmol/L amoni dung dịch đệm axetat (chứa 0,05% FA) trong metanol hoặc axetonitril. Dưới sự so sánh toàn diện, hiệu ứng rửa giải gradient của dung dịch đệm amoni axetat 10mmol/L (chứa 0,1% FA) trong axetonitril cho kết quả tốt nhất, hình dạng pic của ROP không bị rộng và không bị chồng lấn với các pic của các tạp chất khác.

3.2. Xác thực phương pháp

3.2.1. Tính chọn lọc - đặc hiệu

Tiến hành phân tích mẫu huyết thanh trắng và huyết thanh có thêm chuẩn ROP thu được kết quả như sau.



Hình 2: Sắc ký đồ của ropivacin và nội chuẩn trong huyết thanh. (a) Huyết thanh trắng. (b) Huyết thanh có thêm chuẩn ROP và nội chuẩn

Nhận xét: Trong sắc ký đồ mẫu huyết thanh trắng không xuất hiện pic ROP và nội chuẩn, mẫu huyết thanh có thêm chuẩn và IS xuất hiện pic ROP và IS có thời gian lưu 2,35 phút và 2,1 phút, pic cân đối, tín hiệu cao, không bị chồng lấn, không có sự ảnh hưởng của các thành phần phức tạp trong mẫu huyết thanh...

Theo qui định, phương pháp có độ chọn lọc-đặc hiệu thì ngoài khả năng nhận diện và phân biệt được hoạt chất như đã xác định ở trên, đáp ứng của mẫu trắng tại thời điểm trùng với thời gian lưu của ROP và IS đạt yêu cầu (đều bằng 0%) không vượt quá 5%, chứng tỏ phương pháp có độ chọn lọc và độ đặc hiệu cao.

3.2.2. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Bảng 3.1. Kết quả thẩm định đường chuẩn

Nồng độ (µg/mL)	Độ đúng (%)				
	Lần 1	Lần 2	Lần 3	Lần 4	Lần 5
Phương trình hồi quy (Y = aX + b)	a = 0,1453	a = 0,1497	a = 0,1503	a = 0,1458	a = 0,1489
	b = -0,0008	b = -0,0008	b = -0,0013	b = -0,0004	b = -0,0006
	r = 0,9999	r = 0,9996	r = 0,9992	r = 0,9997	r = 0,9988

(Y: tỷ lệ đáp ứng pic ROP; X: nồng độ ROP trong mẫu huyết thanh)

Như vậy, tất cả các điểm của đường chuẩn đều có độ đúng từ 85-115%. Và hệ số tương quan r của cả 5 đường chuẩn đều lớn hơn 0,99. Do đó trong khoảng nồng độ từ 0,1 – 10,0 µg/mL có sự tương quan tuyến tính chặt chẽ giữa nồng độ ROP trong huyết thanh với tỷ lệ diện tích pic ROP thu được

3.2.3. Giới hạn định lượng dưới

Bảng 3.2. Kết quả thẩm định giới hạn định lượng dưới

STT	Mẫu trắng	Mẫu chuẩn (≈ 0,1 µg/mL)				
	ROP (mAu.s)	ROP (mAu.s)	IS (mAu.s)	Nồng độ tìm thấy ^(a) (µg/mL)	Độ đúng ^(b) (%)	Đạt/Không đạt
TB (n=6)	0	1234734	66652	0,094	93,93	
CV (%)				2,8	2,8	Đạt

(a): tính từ phương trình hồi quy (b): % so với nồng độ thực, (+): không xác định

Phương pháp đạt được độ đúng so với nồng độ thực là (91,91–98,98%), độ chính xác với giá trị CV% ≤ 20% (2,9%). Vậy, chuẩn ROP có nồng độ 0,1 µg/mL đáp ứng

yêu cầu Lower Limit Of Quantification (LLOQ) về độ đúng, độ chính xác.

3.3.4. Độ đúng – độ lặp lại trong ngày và khác ngày

Pha mỗi loại QC gồm ít nhất 6 mẫu độc lập có cùng nồng độ. Tiến hành xử lý mẫu và sắc ký theo các điều kiện đã lựa chọn.

Bảng 3.3. Kết quả thẩm định độ đúng, độ lặp lại

Ngày	LQC (0,3 µg/mL)		MQC (4,0 µg/mL)		HQC (8,0 µg/mL)	
	Độ đúng ^(b) (%)	CV (%)	Độ đúng ^(b) (%)	CV (%)	Độ đúng ^(b) (%)	CV (%)
Ngày 1 (n=6)	99,02	4,01	100,14	5,05	100,64	5,95
Ngày 2 (n=6)	99,9	3,93	98,2	4,34	91,71	6,34
Ngày 3 (n=6)	89,7	3,78	94,43	6,42	92,72	4,01
TB	96,2	3,91	97,59	5,27	95,03	5,43

(b) % so với nồng độ thực

Độ đúng trong ngày tốt nằm trong khoảng 96,76 – 102,48%, độ lệch nằm trong giới hạn cho phép ± 15%, độ lặp lại trong ngày với giá trị CV% nhỏ (3,78 – 6,34%); độ đúng trong các ngày trong khoảng 85% đến 115%, độ lặp lại khác ngày với giá trị CV% (3,91 – 5,43%) chứng tỏ phương pháp được nghiên cứu có độ đúng, độ chính xác cao.

3.2.6. Tỷ lệ thu hồi của phương pháp

Bảng 3.4. Kết quả thẩm định tỷ lệ thu hồi ROP trong huyết thanh

STT	Đáp ứng ROP (mAu.s)					
	LQC (≈ 0,3 µg/mL)		MQC (≈ 4,0 µg/mL)		HQC (≈ 8,0 µg/mL)	
	Huyết thanh	Pha động	Huyết thanh	Pha động	Huyết thanh	Pha động
TB(n=6)	60608	63878.13	816030	839285	1641026	1660164.37
CV(%)	5,7	0,3	1,5	0,5	1,5	0,1
Tỷ lệ thu hồi (%)	94,88		97,23		98,85	

Cả 3 khoảng nồng độ (0,3; 4,0; 8,0µg/mL), đều cho hiệu suất chiết nằm trong khoảng 30 – 110% (94,88%; 97,23%; 98,85%), giá trị CV% mỗi nồng độ của ROP đều ≤ 15% (từ 0,1% – 5,7%). Do đó phương pháp xử lý mẫu đã được xây dựng là phù hợp để chiết tách ROP từ huyết thanh.

3.2.7. Độ ổn định

Phân tích ba điều kiện ổn định, bao gồm nhiệt độ phòng trong 2 giờ; -20°C trong 30 ngày và 3 chu kỳ đông lạnh và rã đông, độ chính xác của ROP trong huyết thanh là từ 85% đến 109% và RSD nằm trong khoảng 12%. Những kết quả này chỉ ra rằng ROP đều ổn định.

IV. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này, xây dựng được quy trình phân tích ROP trong huyết thanh một cách tương đối hoàn thiện bao gồm xử lý mẫu và tối ưu hoá điều kiện sắc ký lỏng khối phổ, phương pháp phân tích có độ đặc hiệu/chọn lọc cao, khoảng tuyến tính 0,1-10 µg/mL), giới hạn định lượng dưới 0,1 µg/mL), độ đúng - độ lặp lại, tỷ lệ thu hồi, độ ổn định của ROP trong huyết thanh cao.

HPLC-MS có thời gian phân tích nhanh hơn và độ nhạy cao hơn HPLC truyền thống. Chỉ mất 6 phút để hoàn thành việc phân tích một mẫu huyết thanh, điều này có thể tiết kiệm đáng kể thời gian và nguồn lực.

KIẾN NGHỊ

Áp dụng xét nghiệm sớm cho các trường hợp bệnh nhân nghi ngờ ngộ độc ROP sau phẫu thuật, chẩn đoán phân biệt với các tai biến hậu phẫu khác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Aarons, L, et al. (2011)**, "Population pharmacokinetic analysis of ROPE and its metabolite 2', 6'-pipecoloxylidide from pooled data in neonates, infants, and children", *British journal of anaesthesia*. 107(3), pp. 409-424.
2. **Cobb, Zoe and Andersson, Lars I (2005)**, "Determination of ROPE in human plasma using highly selective molecular imprint-based solid phase extraction and fast LC-MS analysis", *Analytical and bioanalytical chemistry*. 383(4), pp. 645-650.
3. **FDA, 2014**, <https://www.fda.gov/oc/ohrt/02/02-19-14-Guidance.pdf>. Guidance for Industry Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics
4. **Huang, Jiao and Liu, Jing-Chen (2020)**, "Ultrasound-guided erector spinae plane block for postoperative analgesia: a meta-analysis of randomized controlled trials", *BMC anesthesiology*. 20(1), pp. 1-8.
5. **Kuthiala, Gaurav and Chaudhary, Geeta (2011)**, "ROPE: A review of its pharmacology and clinical use", *Indian journal of anaesthesia*. 55(2), p. 104.
6. **Sawaki, Kohei, et al. (2009)**, "Evaluation of high-performance liquid chromatography and mass spectrometry method for pharmacokinetic study of local anesthetic ROPE in plasma", *Biomedical research*. 30(6), pp. 319-324.
7. **Simpson, Dene, et al. (2005)**, "ROPE", *Drugs*. 65(18), pp. 2675-2717.
8. **Wu, Haiya, et al. (2019)**, "Determination and pharmacokinetics and bioavailability of O-demethyl nuciferine in mice by UPLC-MS/MS", *Acta Chromatographica*. 31(3), pp. 222-227.