

SINH THIẾT LỎNG: CÁC DẤU ẤN SINH HỌC, CÁC ỨNG DỤNG LÂM SÀNG VÀ TRIỂN VỌNG TƯƠNG LAI

Nguyễn Nghiêm Luật¹

TÓM TẮT

1. Sinh thiết lỏng (LB) là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu được thực hiện trên các dịch cơ thể, chủ yếu là máu, để tìm các tế bào khối u lưu thông (CTCs), DNA khối u lưu thông (ctDNA), microRNA hoặc thành phần khối u khác, được giải phóng từ khối u vào các dịch cơ thể.

2. Các ưu điểm của sinh thiết lỏng: So với sinh thiết mô, sinh thiết lỏng ít xâm lấn hơn, ít tổn kém hơn, cho kết quả nhanh hơn, cho phép theo dõi điều trị theo thời gian thực và có thể dễ dàng lặp lại để theo dõi tiến trình của bệnh nhân. Hạn chế chủ yếu của sinh thiết lỏng là không đủ độ nhạy và độ chính xác để phân biệt các loại khối u khác nhau so với sinh thiết mô.

3. Các dấu ấn sinh học liên quan đến khối u của sinh thiết lỏng gồm: các tế bào khối u lưu thông (CTCs), DNA khối u lưu thông (ctDNA), các RNA khối u lưu thông (ctRNAs), các túi ngoại bào có nguồn gốc từ khối u (EVs) (exosomes) và các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (TEPs). Trong số đó, chỉ có 1 xét nghiệm CTCs và 4 xét nghiệm ctDNA đã được FDA chấp thuận để ứng dụng trong lâm sàng, trong khi ctRNAs, EVs và TEPs là các dấu ấn có tiềm năng đầy hứa hẹn.

4. Các ứng dụng lâm sàng của sinh thiết lỏng gồm: sàng lọc và phát hiện sớm ung thư, chẩn đoán, xác định những thay đổi có thể tác động ở các khối u rắn di căn để lựa chọn điều trị đích, tiên lượng, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc theo thời gian thực, và phát hiện khối u còn sót lại tối thiểu và sự tái phát sau phẫu thuật.

5. Tương lai của sinh thiết lỏng: Trong tương lai gần, sinh thiết lỏng dựa trên đa bộ thông qua phân tích tích hợp trí tuệ nhân tạo và học máy, là một chiến lược hấp dẫn để cải thiện hiệu suất phát hiện ung thư sớm, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc, phát hiện khối u sót lại tối thiểu và sự tái phát. Do đó, sinh thiết lỏng có thể được sử dụng như một công cụ mới lạ trong y học chính xác.

SUMMARY

LIQUID BIOPSY: BIOMARKERS, CLINICAL APPLICATIONS AND FUTURE PERSPECTIVES

1. Liquid biopsy (LB) is a minimally invasive technique performed on body fluids, primarily blood, to look for circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), microRNAs, or other tumor components that are released by tumors into body fluids.

2. The advantages and limitations of liquid biopsies: compared to the tissue biopsy, liquid biopsy is less invasive, less costly, available earlier, may allow for the real-time monitoring of therapies, and may be easily repeated to monitor the patient's progress. The major limitation of LB is the lack of sensitivity and precision to identify various tumor types compared to tissue biopsy.

¹Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nghiêm Luật

SĐT: 0949300868

Email: luatnn@gmail.com

Ngày nhận bài: 13.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS TS Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 15.6.2023

3. Cancer-related biomarkers of liquid biopsy include: Circulating tumor cells (CTCs), circulating tumor DNA (ctDNA), circulating tumor RNAs (ctRNAs), tumor-derived extracellular vesicles (EVs) (exosomes), and tumor-educated platelets (TEPs). Among them, only one CTC test and 4 ctDNA tests have been approved by FDA in the clinical application, while ctRNAs, EVs and TEPs are biomarkers with promising potential.

4. Clinical applications of liquid biopsy include: Screening and early detection of cancer, diagnosis, determining actionable alterations in metastatic solid tumors for a targeted therapy selection, prognosis, real-time monitoring of treatment response and drug resistance, and detection of minimal residual disease and recurrence after surgery.

5. Future perspectives of liquid biopsy: In the near future, multi-omics-based liquid biopsy through integrative analysis of artificial intelligence (AI) and machine learning is an appealing strategy to improve the performance of early cancer detection, monitoring of treatment response and drug resistance, detection of minimal residual disease and recurrence. Thus, liquid biopsy could be used as a novel tool in precision medicine.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Tổ chức Y tế Thế giới (WHO), ung thư gây ra gần 10 triệu ca tử vong vào năm 2020. Con số này được ước tính sẽ tiếp tục tăng trong những thập kỷ tiếp theo và sẽ đạt 27 triệu ca mắc mới vào năm 2040. Là yếu tố gây tử vong thứ hai, ung thư chiếm 1/6 số ca tử vong trên toàn thế giới mỗi năm.

Việc phát hiện sớm và điều trị kịp thời đóng một vai trò quan trọng và có thể làm giảm tỷ lệ tử vong của bệnh nhân ung thư. Mặc dù sinh thiết mô (tissue biopsy) hiện là

tiêu chuẩn vàng (gold standard) để chẩn đoán, phân tích hình thái và hóa mô miễn dịch của ung thư nhưng nó có các hạn chế là xâm lấn, phụ thuộc vào tình trạng bệnh và vị trí của khối u. Trong hơn 10 năm qua, sinh thiết lỏng (liquid biopsy), có thể được thực hiện trên máu và các dịch sinh học khác, là một phương pháp không xâm lấn, an toàn và hiệu quả, có tiềm năng ứng dụng trong chẩn đoán sớm, tiên lượng và theo dõi điều trị ung thư [2, 3, 4].

Trong bài viết này, chúng tôi giới thiệu các khái niệm cơ bản về sinh thiết lỏng, các ưu điểm và hạn chế, các dấu ấn sinh học, các ứng dụng và tương lai của sinh thiết lỏng.

II. NHỮNG KHÁI NIỆM CƠ BẢN VỀ SINH THIẾT LỎNG

Sinh thiết lỏng (liquid biopsy) là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu được thực hiện trên các dịch cơ thể, chủ yếu là máu. Các dịch cơ thể có tiềm năng cho sinh thiết lỏng có thể gồm: dịch não tủy, nước bọt, huyết thanh, huyết tương, tinh dịch và nước tiểu. Đặc biệt, các thành phần tế bào khối u của sinh thiết lỏng dựa trên máu có thể gồm: các tế bào khối u lưu thông (CTCs), DNA khối u lưu thông (ctDNA), các RNA khối u lưu thông, các túi ngoại bào (EVs), các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (tumor-educated platelets: TEPs) [1, 4, 5].

Cho đến nay, một số xét nghiệm CTCs và ctDNA đã được FDA phê chuẩn để sử dụng trong lâm sàng, trong khi các EVs, ctRNAs và TEPs là những dấu ấn sinh học khối u lưu thông có tiềm năng hứa hẹn trong quản lý ung thư [5].

III. NHỮNG ƯU ĐIỂM VÀ HẠN CHẾ CỦA SINH THIẾT LỎNG SO VỚI SINH THIẾT MÔ

3.1. Những ưu điểm của sinh thiết lỏng:

- 1) Sinh thiết lỏng ít xâm lấn hơn đáng kể so với quy trình sinh thiết mô.
- 2) Xét nghiệm nhanh hơn so với sinh thiết mô, có thể giúp chẩn đoán sớm
- 3) Sinh thiết lỏng thường ít tốn kém hơn nhiều so với sinh thiết mô.
- 4) Sinh thiết lỏng có thể sử dụng để dự đoán nguy cơ tái phát hoặc di căn.
- 5) Sinh thiết lỏng có thể giúp phân tầng, theo dõi đáp ứng điều trị theo thời gian thực và có thể xác định tốt hơn các đích điều trị.
- 6) Có thể dễ dàng lặp lại xét nghiệm để theo dõi tiến trình của bệnh [4, 5].

3.2. Những hạn chế của sinh thiết lỏng:

- 1) Hạn chế chủ yếu của sinh thiết lỏng là không đủ độ nhạy và độ chính xác để phân biệt các loại khối u khác nhau so với sinh thiết mô [4].
- 2) Sự giải phóng DNA của khối u ở mức độ thấp.

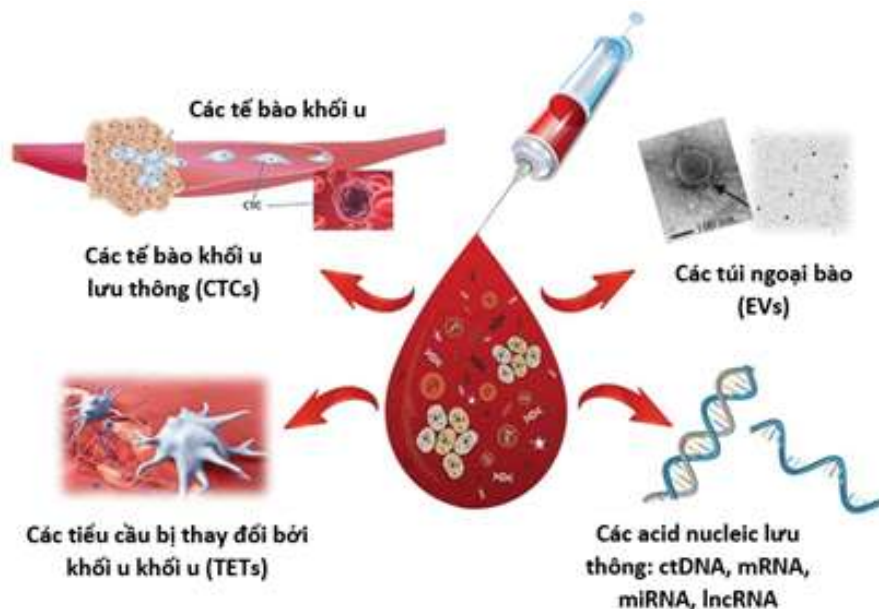
3) Sự chuẩn hóa của các xét nghiệm và nhà cung cấp khác nhau.

4) Sự thay đổi DNA có thể bị nhầm lẫn bởi quá trình tạo máu vô tính tiềm năng không xác định (clonal hematopoiesis of indeterminate potential CHIP).

5) Sự phân lập CTCs cũng còn là một thách thức về mặt kỹ thuật [4, 5].

3.3. Các dấu ấn sinh học liên quan đến khối u của sinh thiết lỏng

Các dấu ấn sinh học liên quan đến khối u của sinh thiết lỏng có thể gồm: các tế bào khối u lưu thông (circulating tumor cells: CTCs), các DNA khối u lưu thông (circulating tumor DNA: ctDNA), các RNA khối u lưu thông (circulating tumor RNAs: ctRNA), các túi ngoại bào (tumor-derived extracellular vesicles: EVs) (còn có tên là exosomes) và các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (tumor-educated platelets: TEPs) [1] (Hình 1).



Hình 1. Các dấu ấn sinh học của sinh thiết lỏng

(nguồn: Mader & Pantel. *Oncol Res Treat* 2017; 40: 404-408)

3.4. Các tế bào khối u lưu thông (CTCs)

Các tế bào khối u lưu thông (CTCs) là các tế bào khối u từ khối u nguyên phát hoặc di căn xâm nhập vào hệ thống tuần hoàn. Một số CTC có thể vào máu, hình thành “mầm bệnh” để phát triển tại chỗ hoặc di căn. Các kỹ thuật làm giàu các CTCs: vì số lượng các CTCs trong máu rất ít, chỉ có khoảng 1 CTC/10⁷ tế bào bạch cầu và từ 1 đến 10 CTC/mL máu khối u di căn nên các CTCs cần được phân lập bằng sự bắt giữ tế bào dựa trên dấu ấn sinh học và làm giàu dựa trên các tính chất lý sinh (kích thước, tỷ trọng, ...) [4, 5]. Cho đến nay chỉ có 1 xét nghiệm về CTCs là CellSearch CTC test được FDA phê chuẩn để sử dụng trong ung thư học lâm sàng (2000) [6].

3.5. DNA khối u lưu thông (ctDNA)

DNA được giải phóng từ các tế bào ung thư được gọi là các DNA khối u lưu thông (ctDNA), là các đoạn DNA sợi kép, có khối lượng phân tử từ 0,18 đến 21 Kb, được thấy chủ yếu trong máu. Nhiều kỹ thuật được sử dụng để phát hiện ctDNA gồm giải trình tự thế hệ mới (NGS-based sequencing), PCR kỹ thuật số (digital PCR : dPCR), PCR kỹ thuật số dạng giọt (droplet digital PCR: ddPCR) [1, 5]. Đến nay, 4 xét nghiệm về ctDNA gồm cobas EGFR v2 (2016), PCR PIK3CA RGQ kit (2019), Foundation One Liquid CDx và Guardant360 CDx (2021), đã được FDA phê chuẩn để ứng dụng trong y học lâm sàng [5].

3.6. Các RNA khối u lưu thông (ctRNAs)

Các RNA khối u lưu thông (ctRNAs)

thuộc nhóm RNA sợi đơn nhỏ không mã hóa, có độ dài khoảng 20-24 nucleotid, đóng vai trò điều hòa sau phiên mã, tăng sinh tế bào, biệt hóa và sự chết tế bào theo chương trình (apoptosis). Có 3 kỹ thuật chủ yếu để đo nồng độ của miRNA gồm PCR sao chép ngược định lượng (qRT-PCR), định lượng DNA trên toàn bộ gen (microarrays) và giải trình tự thế hệ mới (NGS) [4].

3.7. Các túi ngoại bào (EVs)

Các túi ngoại bào có nguồn gốc khối u (extracellular vesicles: EVs), còn gọi là exosomes, là các túi nhỏ, có màng kép lipid, đường kính 30-100 nm, được tiết ra từ các tế bào khối u vào các dịch sinh học. Các EVs có thể chứa các DNA, miRNA, các RNA dài không mã hóa (long non-coding RNAs: lncRNAs), các protein, ... Việc phân lập các EVs từ các dịch cơ thể được thực hiện dựa trên các đặc tính lý sinh (kích thước, hình thái, mật độ) như siêu ly tâm. Sự kết hợp của các kỹ thuật như siêu lọc (ultrafiltration) và ly tâm gradient tỷ trọng (density gradient centrifugation), có thể làm tăng chất lượng của các EVs [1, 4].

3.8. Các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (TEPs)

Trong quá trình tương tác với các tế bào khối u, các RNA của tiểu cầu bị thay đổi, tạo nên các tiểu cầu bị thay đổi bởi khối u (tumor-educated platelets: TEPs). Các TEPs có thể sử dụng để phân biệt bệnh nhân ung thư phổi với người khỏe mạnh hoặc với người bị viêm phổi. Để giải trình tự RNA của các TEPs, TEPs được phân lập từ máu toàn phần, RNA được chiết xuất, DNA bổ

sung (cDNA) được tổng hợp và khuếch đại dựa trên kỹ thuật SMARTer và được giải trình tự cDNA dựa trên kỹ thuật Illumina TruSeq. Sự phân tích trình tự chuỗi RNA nguồn gốc tiểu cầu (platelet-derived RNA) có khả năng phát hiện sớm ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) với độ chính xác gần 80% [4].

IV. NHỮNG ỨNG DỤNG LÂM SÀNG TIỀM NĂNG CỦA SINH THIẾT LỒNG

Các ứng dụng lâm sàng tiềm năng của sinh thiết lỏng bao gồm: sàng lọc và phát hiện sớm ung thư, chẩn đoán, xác định sự thay đổi phân tử để lựa chọn điều trị đích, theo dõi theo thời gian thực của sự đáp ứng và kháng thuốc, dự đoán khối u sót lại sau phẫu thuật, tái phát, di căn và dự đoán tiên lượng [4, 5].

4.1. Sàng lọc và phát hiện sớm ung thư

Việc sàng lọc ở những người có nguy cơ không triệu chứng có thể giúp phát hiện sớm ung thư để điều trị kết quả hơn. Trong 17 nghiên cứu về sinh thiết lỏng để phát hiện sớm ung thư về ctDNA, CTCs và microRNA, người ta thấy rằng độ nhạy, độ đặc hiệu và diện tích dưới đường cong ROC chung để phát hiện sớm ung thư tương ứng là 0,76 (95%CI: 0,67-0,83), 0,92 (95%CI: 0,86-0,96) và 0,91 (95%CI: 0,88-0,93). Như vậy, sinh thiết lỏng có độ nhạy tương đối thấp và có độ đặc hiệu cao trong phát hiện sớm ung thư [2].

4.2. Chẩn đoán ung thư

Sinh thiết lỏng có thể được sử dụng để chẩn đoán xác định ung thư ở những người có dấu hiệu hoặc triệu chứng của bệnh. Tổng

kết 19 nghiên cứu về ung thư tụy gồm 1872 bệnh nhân, với 7 nghiên cứu về ctDNA, 7 về CTCs và 6 về các túi ngoại bào, độ nhạy chẩn đoán của ctDNA, CTCs và các túi ngoại bào tương ứng là 0,64, 0,74 và 0,93; độ đặc hiệu tương ứng là 0,92, 0,83 và 0,92 [8].

4.3. Phát hiện các đột biến để lựa chọn điều trị đích

Việc xác định những thay đổi về gen có thể tác động ở khối u rắn di căn là rất quan trọng đối với điều trị đích. Một số xét nghiệm chẩn đoán dựa trên ctDNA từ máu đã được FDA phê chuẩn cho điều trị đích gồm xét nghiệm đột biến của thụ thể yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGFR) cobas V2 để phát hiện các đột biến của EGFR trong ung thư phổi tế bào không nhỏ (NSCLC) và bộ kit PIK3CA RGQ PCR để phát hiện đột biến PIK3CA trong ung thư vú [5].

4.4. Tiên lượng

Các CTC và ctDNA trong máu có thể được sử dụng để đánh giá tiên lượng (prognosis) ung thư [7]. Những bệnh nhân NSCLC bị mất đoạn exon 19 hoặc bị đột biến L858R trên gen EGFR có thời gian sống sót không tiến triển (progression-free survival: PFS) trung bình là 13,7 tháng, trong khi những bệnh nhân có các đột biến hiếm gặp khác có PFS ngắn hơn (3,7 tháng). Những bệnh nhân ung thư vú di căn thuộc phân nhóm (subtype) có bộ ba âm tính (các thụ thể ER, PR và HER2 âm tính) có mức >5 CTCs/7,5 mL (n=124) có thời gian sống trung bình (overall survival: OS) ngắn hơn rõ rệt so với bệnh nhân có mức <5 CTCs/7,5 mL (10,4 so với 17,8 tháng [1]).

4.5. Theo dõi theo thời gian thực của sự đáp ứng và kháng thuốc

Ưu điểm chính của sinh thiết lỏng là có thể lấy mẫu máu lặp lại theo thời gian thực (real-time) để phân tích ctDNA, nhằm phát hiện những thay đổi phân tử trong quá trình điều trị, phát hiện sớm sự đáp ứng hoặc kháng thuốc [1]. Ở bệnh nhân ung thư vú hoặc tuyến tiền liệt tiến triển, việc theo dõi số lượng các CTCs trong điều trị có thể giúp tiên lượng sớm. Sự biến mất của CTCs hoặc ctDNA cho phép đánh giá hiệu quả thử nghiệm lâm sàng của một thuốc mới.

4.6. Dự đoán khối u sót lại sau phẫu thuật, tái phát và di căn

Sinh thiết lỏng còn có vai trò trong dự đoán khối u sót lại tối thiểu sau phẫu thuật, tái phát và di căn [1]. Trong ung thư phổi, sự tái phát sau phẫu thuật được thấy khi bệnh nhân có CTCs tăng trở lại trong máu. Việc phát hiện ctDNA sau khi cắt bỏ khối u cho phép dự đoán sự tái phát sớm hơn 6,5 tháng so với chụp X quang. Trong ung thư đại trực tràng, nồng độ ctDNA, CTCs và miRNAs cao có liên quan với sự tiến triển và sự di căn của khối u [2, 7].

V. CÁC TRIỂN VỌNG TƯƠNG LAI CỦA SINH THIẾT LỎNG

Trong tương lai gần, sinh thiết lỏng dựa trên đa bộ (multi-omics), như bộ gen (genomics), bộ biểu sinh (epigenomics), bộ sao mã (transcriptomics), bộ protein (proteomics) và bộ chuyển hóa (metabolomics), thông qua việc phân tích tích hợp (integrative analysis) của trí tuệ

nhân tạo (artificial intelligence: AI) và máy học (machine learning) sẽ là một chiến lược hấp dẫn để cải thiện hiệu suất phát hiện ung thư sớm, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc, phát hiện khối u sót lại tối thiểu và sự tái phát. Sự đổi mới và những tiến bộ của sinh thiết lỏng trong các quy các trình thử nghiệm và các phương pháp tin sinh học (bioinformatics) sẽ dần dần làm thay đổi cách quản lý lâm sàng và làm giảm tỷ lệ tử vong và tình trạng bệnh của các loại ung thư khác nhau. Do đó, sinh thiết lỏng có thể được sử dụng như một công cụ mới lạ trong y học chính xác (precision medicine) [1, 3].

Tóm lại, sinh thiết lỏng là một kỹ thuật xâm lấn tối thiểu để phân tích các dịch lỏng cơ thể nhằm phát hiện các tế bào hoặc các thành phần khối u lưu thông. Các ưu điểm của sinh thiết lỏng là ít xâm lấn hơn, giá rẻ hơn, cho kết quả nhanh hơn, dễ dàng lặp lại để theo dõi tiến trình bệnh, đáp ứng điều trị theo thời gian thực. Hạn chế chính của sinh thiết lỏng là thiếu độ nhạy và độ chính xác. Các dấu ấn sinh học của sinh thiết lỏng gồm các CTCs, ctDNA, ctRNAs, EVs và các TEPs. Cho đến nay mới có 1 xét nghiệm CTC và 4 xét nghiệm ctDNA được FDA phê chuẩn để ứng dụng trong lâm sàng. Sinh thiết lỏng có thể ứng dụng để sàng lọc, chẩn đoán, xác định các thay đổi phân tử để lựa chọn điều trị đích, tiên lượng, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc theo thời gian thực, phát hiện khối u còn sót lại tối thiểu và sự tái phát sau phẫu thuật. Trong tương lai gần, sinh thiết lỏng dựa trên đa bộ thông qua phân tích tích hợp trí tuệ nhân tạo và học máy, là

một chiến lược hấp dẫn để cải thiện hiệu suất phát hiện ung thư sớm, theo dõi đáp ứng điều trị và kháng thuốc, phát hiện khối u sót lại tối thiểu và sự tái phát. Do đó, sinh thiết lỏng có thể được sử dụng như một công cụ mới lạ trong y học chính xác.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Caputo V, Ciardiello F, Corte CMD, et al.** Diagnostic value of liquid biopsy in the era of precision medicine: 10 years of clinical evidence in cancer. *Explor Target Antitumor Ther* 2023; 4:102-138.
2. **Jia S, Li Xie L, Li L, et al.** Values of Liquid Biopsy in Early Detection of Cancer: Results from Meta-Analysis. *Expert Rev Mol Diagn* 2021 Apr; 21(4): 417-427.
3. **Liu L, Chen X, Petinrin OO, et al.** Machine Learning Protocols in Early Cancer Detection Based on Liquid Biopsy: A Survey. *Life (Basel)* 2021 Jul; 11(7): 638.
4. **Lone SN, Nisar S, Masoodi T, et al.** Liquid biopsy: a step closer to transform diagnosis, prognosis and future of cancer treatments. *Mol Cancer* 2022; 21: 79.
5. **Nikanjam M, Kato S, and Kurzrock R.** Liquid biopsy: current technology and clinical applications. *J Hematol Oncol* 2022; 15: 131.
6. **Rushton AJ, Nteliopoulos G, Shaw JA, and Coombes RC.** A Review of Circulating Tumour Cell Enrichment Technologies. *Cancers (Basel)* 2021 Mar; 13(5): 970.
7. **Vellanki PJ, Soma Ghosh, Anand Pathak, et al.** Regulatory implications of ctDNA in immuno-oncology for solid tumors. *J Immunother Cancer* 2023; 11(2): e005344.
8. **Zhu Y, Zhang H, Chen N, et al.** Diagnostic value of various liquid biopsy methods for pancreatic cancer. A systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2020 Jan; 99(3): e18581.

VAI TRÒ CỦA SINH THIẾT LỎNG XÁC ĐỊNH ĐỘT BIẾN EGFR- T790M THỨ PHÁT GÂY KHÁNG THUỐC ỨC CHẾ TYROSINE KINASE Ở BỆNH NHÂN UNG THƯ PHỔI KHÔNG TẾ BÀO NHỎ

Lê Hoàn¹, Trần Văn Khánh², Trần Khánh Chi²

TÓM TẮT

Mục tiêu: nhận xét vai trò của kỹ thuật sinh thiết lỏng trong việc xác định đột biến EGFR- T790M thứ phát gây kháng thuốc EGFR- TKIs thế hệ thứ nhất. **Đối tượng nghiên cứu:** 38 bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ đáp ứng tiêu chuẩn kháng lại EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội và Bệnh viện Ung bướu Hà Nội được thực hiện xét nghiệm sinh thiết lỏng tìm đột biến EGFR-T790M. **Kết quả:** sinh thiết lỏng phát hiện được 12/38 trường hợp (31,6%) có đột biến EGFR-T790M. **Kết luận:** sinh thiết lỏng là kỹ thuật tiên tiến hữu ích trong chẩn đoán nguyên nhân kháng EGFR-TKIs trong thực hành lâm sàng.

Từ khóa: Ung thư phổi, kháng EGFR- TKIs, EGFR- T790M, sinh thiết lỏng

Objective: To review the role of liquid biopsy technique in detecting EGFR-T790M secondary mutation to first generation EGFR-TKIs resistance. **Subjects:** 38 patients with non-small cell lung cancer who met criteria for resistance to first-generation EGFR-TKIs at Hanoi Medical University Hospital and Hanoi Oncology Hospital were tested with liquid biopsies test for detecting EGFR-T790M mutation. **Results:** liquid biopsies detected 12/38 cases (31.6%) with EGFR-T790M mutation. **Conclusion:** Liquid biopsy is an advanced technique useful in diagnosing the cause of EGFR-TKIs resistance in clinical practice.

Keywords: Lung cancer, EGFR-TKIs resistance, EGFR-T790M, liquid biopsy

SUMMARY

THE ROLE OF BIOPSY IN DETECTING EGFR-T790M SECONDARY MUTATION THAT LEADS TO TYROSINE KINASE INHIBITOR RESISTANCE IN PATIENTS WITH NON-SMALL CELL LUNG CANCER

¹Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

²Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Trần Khánh Chi

SĐT: 0904686682

Email: trankhanhchi@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 9.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 15.6.2023

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Điều trị đích EGFR bằng thuốc ức chế Tyrosine kinase (TKIs) đã được chứng minh là phương pháp điều trị hiệu quả, giúp cải thiện thời gian sống không bệnh, cải thiện chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân ung thư phổi (UTP) không tế bào nhỏ.¹ Tuy vậy, kháng EGFR- TKIs thế hệ thứ nhất xảy ra ở hầu hết các bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ có đột biến EGFR sau một khoảng thời gian điều trị. Có nhiều nguyên nhân gây nên tình trạng đề kháng này trong đó đột biến EGFR-T790M thứ phát là nguyên nhân phổ biến nhất.²

Trước đây, để xác định nguyên nhân kháng thuốc, bệnh nhân cần phải sinh thiết

lại để phân tích mẫu mô tại thời điểm kháng thuốc và làm các xét nghiệm đột biến gen liên quan.³ Việc sinh thiết lại là một thách thức với các nhà lâm sàng vì những nguy cơ rủi ro của sinh thiết và tình trạng suy kiệt của bệnh nhân ung thư ở giai đoạn muộn. Do đó, không ít bệnh nhân từ chối sinh thiết lại để tìm nguyên nhân kháng thuốc. Với những tiến bộ gần đây, kỹ thuật sinh thiết lỏng cho phép phát hiện các ctDNA của tế bào ung thư từ mẫu máu của bệnh nhân. Trên cơ sở đó, người ta có thể xác định một số đột biến gen liên quan đến tình trạng đề kháng EGFR-TKIs, trong đó có EGFR-T790M.⁴

Tại Việt Nam, tình trạng kháng thuốc EGFR-TKIs ở bệnh nhân UTP đã được quan tâm nghiên cứu trong vài năm trở lại đây, tuy nhiên các nghiên cứu mới thực hiện trên các bệnh nhân được sinh thiết mẫu mô UTP.⁵ Chính vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu: Bước đầu nhận xét vai trò của sinh thiết lỏng trong xác định đột biến EGFR-T790M thứ phát gây kháng thuốc EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất ở bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

38 bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ đáp ứng tiêu chuẩn kháng lại EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội và Bệnh viện Ung bướu Hà Nội từ tháng 1/2020 đến tháng 12/2022.

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định là ung thư phổi không tế bào nhỏ dựa trên kết quả mô bệnh học theo tiêu chuẩn của tổ chức Y tế thế giới 2011.⁶

- Bệnh nhân được xác định là kháng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất theo tiêu chuẩn của Hội Ung thư học lâm sàng Hoa Kỳ.⁷

- Bệnh nhân được xác định đột biến EGFR-T790M bằng kỹ thuật sinh thiết lỏng tại thời điểm kháng thuốc.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân ung thư phổi tế bào nhỏ.
- Bệnh nhân có đột biến EGFR-T790M nguyên phát

- Bệnh nhân không được xét nghiệm tìm đột biến EGFR-T790M bằng kỹ thuật sinh thiết lỏng tại thời điểm kháng thuốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang
- Các bệnh nhân được lấy mẫu máu (10mL) tại thời điểm kháng thuốc, được tách ctDNA bằng bộ kit Magmax™ Cell-free DNA Isolation Kit (Applied Biosystem) sau đó được xác định đột biến gen EGFR-T790M bằng phương pháp realtime PCR với kit Cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche).

- Các biến số nghiên cứu:

+ Một số đặc điểm chung: tuổi, giới, yếu tố nguy cơ, kết quả mô bệnh học, kết quả đột biến gen EGFR trước điều trị

+ Kết quả phân tích đột biến gen EGFR bằng kỹ thuật sinh thiết lỏng

2.3. Xử lý số liệu:

- Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 20.0

- Sử dụng thuật toán thống kê tần suất, so sánh tỷ lệ, so sánh trung bình

2.4. Đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu tuân thủ đầy đủ các nguyên tắc của nghiên cứu y học. Các thông tin liên quan đến bệnh nhân được bảo mật.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 1: Một số đặc điểm chung (n=38)

Đặc điểm		n	%
Tuổi trung bình: 61,6 ± 10,8 tuổi (dao động từ 32 - 81 tuổi)			
Giới tính	Nam	18	47,4
	Nữ	20	52,6
Hút thuốc	Có	15	39,5
	Không	23	60,5
Mô bệnh học	Ung thư biểu mô tuyến	38	100
	Khác	0	0
Đột biến gen trước điều trị EGFR-TKIs	LREA (exon 19)	20	52,6
	L858R (exon 21)	17	44,7
	G719S (exon 18)	1	2,7

Nhận xét: nhóm nghiên cứu có độ tuổi dao động từ 32 - 81 tuổi, trung bình là 61,6 ± 10,8 tuổi; nữ giới và người không hút thuốc chiếm tỷ lệ cao hơn. Toàn bộ bệnh nhân nghiên cứu là ung thư biểu mô tuyến. Đột

biến LREA và L858R là 2 dạng đột biến gen EGFR thường gặp nhất trước khi điều trị EGFR-TKIs.

3.2. Kết quả phân tích đột biến EGFR bằng sinh thiết lỏng

Bảng 2: Kết quả phân tích đột biến EGFR bằng sinh thiết lỏng (n=38)

Kết quả phân tích đột biến EGFR		n	%
Đột biến nguyên phát	LREA (exon 19)	20	52,6
	L858R (exon 21)	17	44,7
	G719S (exon 18)	1	2,7
Đột biến thứ phát	T790M (exon 20)	12	31,6

Nhận xét: các đột biến nguyên phát vẫn tồn tại ở thời điểm kháng thuốc. Có 12 trường hợp (31,6%) xuất hiện thêm đột biến T790M thứ phát.

UTP không tế bào nhỏ kháng EGFR-TKIs ghi nhận tuổi trung bình mắc bệnh là 58 tuổi, dao động từ 28 đến 83 tuổi.⁸

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu trên 38 bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ kháng thuốc EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất, chúng tôi ghi nhận bệnh nhân trẻ nhất là 32 tuổi, cao tuổi nhất là 81 tuổi, trung bình là 61,6 ± 10,8 tuổi. Kết quả này tương tự với một số nghiên cứu gần đây trên thế giới. Nghiên cứu của Xu Q và cộng sự (2019) tại Trung Quốc trên 206 bệnh nhân

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 15/38 trường hợp (39,5%) hút thuốc lá, kết quả này cũng phù hợp với những nhận định trước đây về UTP mang đột biến EGFR, phổ biến hơn ở những người không hút thuốc. Nghiên cứu của Xu Q và cộng sự trên 206 BN UTP mang đột biến EGFR ghi nhận tỷ lệ không hút thuốc là 60,7%.⁸ Về kết quả phân tích mô bệnh học, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 100% bệnh nhân là ung thư biểu mô tuyến. Điều này cũng phù hợp với những kết quả

nguyên cứu trong nước và quốc tế về ung thư phổi mang đột biến EGFR. Lê Hoàn và cộng sự nghiên cứu trên 66 bệnh nhân UTP kháng EGFR-TKIs được sinh thiết lại tổn thương ung thư, kết quả ghi nhận có 98,5% bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến và 1,5% là ung thư biểu mô tuyến- vảy.⁵

Về kết quả xác định đột biến EGFR trước điều trị EGFR-TKIs, nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có 52,6% bệnh nhân mang đột biến LREA tại exon 19; 44,7% bệnh nhân có đột biến L858R tại exon 21; và có 1 trường hợp mang đột biến G719S tại exon 18. Các nghiên cứu về đột biến EGFR nhạy cảm TKIs đều ghi nhận LREA và L858R là 2 dạng đột biến thường gặp nhất. Kim HR và cộng sự nghiên cứu trên 110 bệnh nhân UTP mang đột biến EGFR tại Hàn Quốc ghi nhận 62,7% có đột biến LREA; 33,6% có đột biến L858R và chỉ có 3,7% gặp những đột biến nhạy cảm khác của gen EGFR.⁹

Khi phân tích kết quả xét nghiệm đột biến EGFR bằng realtime PCR với kit Cobas® EGFR Mutation Test v2 (Roche) từ ctDNA tách từ mẫu máu của bệnh nhân UTP tại thời điểm kháng EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất, chúng tôi ghi nhận các đột biến nguyên phát vẫn tương tự như thời điểm trước điều trị. Tuy nhiên, bên cạnh những đột biến nguyên phát, chúng tôi ghi nhận có 12 trường hợp (31,6%) xuất hiện thêm đột biến T790M thứ phát (chưa có ở thời điểm trước điều trị). Đột biến EGFR-T790M đã được xác định là nguyên nhân phổ biến nhất gây kháng lại các EGFR-TKIs thế hệ thứ nhất.^{2,3} Trong nghiên cứu đầu tiên về tình trạng đề kháng EGFR-TKIs tại Việt Nam ở các bệnh nhân được sinh thiết lại mô ung thư, Lê Hoàn và cộng sự ghi nhận tỷ lệ đột biến EGFR-T790M là 54,5%,⁵ tỷ lệ này cao hơn so với kết quả từ sinh thiết lỏng mà chúng tôi ghi

nhận từ nghiên cứu này. Spence T và cộng sự nghiên cứu trên 343 bệnh nhân UTP kháng EGFR-TKIs ghi nhận 24% bệnh nhân phát hiện đột biến EGFR-T790M thứ phát nhờ sinh thiết lỏng.¹⁰

Sinh thiết mô vẫn được xem là tiêu chuẩn vàng để xác định nguyên nhân đề kháng EGFR-TKIs, bên cạnh xác định các đột biến mới xuất hiện, sinh thiết mô còn cho biết khả năng chuyển dạng tế bào từ ung thư tế bào không nhỏ sang ung thư tế bào nhỏ. Tuy nhiên, nguyên nhân đề kháng EGFR-TKIs do chuyển dạng mô học chỉ chiếm khoảng 10% các trường hợp.² Những nghiên cứu gần đây ngày càng thấy được vai trò của sinh thiết lỏng trong chẩn đoán nguyên nhân đề kháng EGFR-TKIs. Zhou J và cộng sự thực hiện một nghiên cứu so sánh kết quả sinh thiết lỏng và sinh thiết mô trong phát hiện đột biến EGFR-T790M gây kháng EGFR-TKIs thứ phát, kết quả sinh thiết lỏng chẩn đoán dương tính ở 41,5% trong khi sinh thiết mô xác định có 45,5% bệnh nhân có đột biến.¹¹ Từ những cơ sở đó, những khuyến cáo quốc tế gần đây đã hướng dẫn sinh thiết lỏng là phương pháp được chỉ định ban đầu để xác định đột biến EGFR-T790M gây kháng EGFR-TKIs. Nếu kết quả sinh thiết lỏng âm tính, tái sinh thiết mô ung thư sẽ được thực hiện để xác định nguyên nhân kháng thuốc.¹²

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 38 bệnh nhân UTP không tế bào nhỏ đề kháng EGFR-TKIs được tiến hành sinh thiết lỏng tìm nguyên nhân kháng thuốc, chúng tôi xác định được 31,6% bệnh nhân có đột biến EGFR-T790M. Sinh thiết lỏng là kỹ thuật tiên tiến, hữu ích trong chẩn đoán nguyên nhân kháng EGFR-TKIs trong thực hành lâm sàng.

VI. LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin trân trọng cảm ơn Bệnh viện Đại học Y Hà Nội và Bệnh viện Ung bướu Hà Nội đã tạo điều kiện thuận lợi để chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Lee CK, Brown C, Gralla RJ, et al.** Impact of EGFR inhibitor in non-small cell lung cancer on progression-free and overall survival: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst.* 2013; 105: 595-605. DOI: 10.1093/jnci/djt072.
- Westover D, Zugazagoitia J, Cho BC.** Mechanisms of acquired resistance to first and second-generation EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Ann Oncol.* 2018 Jan 1;29(suppl_1):i10-i19. DOI: 10.1093/annonc/mdx703.
- Kuiper JL, Heideman DA, Thunnissen E, et al.** Incidence of T790M mutation in (sequential) rebiopsies in EGFR-mutated NSCLC-patients. *Lung Cancer.* Jul 2014;85(1):19-24. DOI: 10.1016/j.lungcan.2014.03.016.
- Jenkins S, Yang JC, Ramalingam SS, et al.** Plasma ctDNA Analysis for Detection of the EGFR T790M Mutation in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* Jul 2017;12(7):1061-1070. DOI: 10.1016/j.jtho.2017.04.003.
- Lê Hoàn, Ngô Quý Châu, Trần Khánh Chi và cộng sự.** Kháng thuốc ức chế Tyrosine kinase thế hệ thứ nhất ở bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ. *Tạp chí nghiên cứu Y học.* 2020; 134 (10):56-64.
- Sauter JL., Dacic S., Galateau-Salle F., et al.** The 2021 WHO Classification of Tumors of the Pleura: Advances Since the 2015 Classification. *J Thorac Oncol.* 2022 May;17(5):608-622. DOI: 10.1016/j.jtho.2021.12.014.
- Jackman D, Pao W, Riely GJ, et al.** Clinical definition of acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2010 Jan 10;28(2):357-60. DOI: 10.1200/JCO.2009.24.7049.
- Xu Q, Liu H, Meng S, et al.** First-line continual EGFR-TKI plus local ablative therapy demonstrated survival benefit in EGFR-mutant NSCLC patients with oligoprogressive disease. *J Cancer.* 2019; 10 (2): 522 - 529. DOI: 10.7150/jca.26494.
- Kim HR, Lee JC, Kim YC, et al.** Clinical characteristics of non-small cell lung cancer patients who experienced acquired resistance during gefitinib treatment. *Lung Cancer.* 2014; 83 (2): 252-8. DOI: 10.1016/j.lungcan.2013.11.008.
- Spence T, Perera S, Weiss J, et al.** Clinical implementation of circulating tumour DNA testing for EGFR T790M for detection of treatment resistance in non-small cell lung cancer. *J Clin Pathol.* 2021 Feb;74(2):91-97. DOI: 10.1136/jclinpath-2020-206668.
- Zhou J, Zhao C, Zhao J, et al.** Re-biopsy and liquid biopsy for patients with non-small cell lung cancer after EGFR-tyrosine kinase inhibitor failure. *Thorac Cancer.* 2019 Apr;10(4):957-965. DOI: 10.1111/1759-7714.13035.
- Stockley T, Souza CA, Cheema PK, et al.** Evidence-based best practices for EGFR T790M testing in lung cancer in Canada. *Curr Oncol.* 2018 Apr; 25(2): 163–169. DOI: 10.3747/co.25.4044.

GIÁ TRỊ CỦA CALPROTECTIN, IL-6, CRP TRONG CHẨN ĐOÁN PHÂN BIỆT BỆNH VIÊM RUỘT VÀ HỘI CHỨNG RUỘT KÍCH THÍCH

**Bùi Thị Thu Hương¹, Nguyễn Tiến Dũng¹, Đỗ Chí Hiếu²,
Nguyễn Thành Vinh³, Trần Thanh Tú³, Nguyễn Thị Mai Hương³,
Vũ Thị Nhung³, Đào Việt Hằng⁴, Trần Khánh Chi⁴, Nguyễn Minh Hiền⁴**

TÓM TẮT

Viêm ruột (Inflammatory Bowel Diseases: IBD) và hội chứng ruột kích thích thể tiêu chảy (Irritable bowel syndrome: IBS-D) có nhiều đặc điểm lâm sàng giống nhau. Nội soi đại tràng và sinh thiết là xét nghiệm tốt nhất để chẩn đoán viêm loét đại trực tràng chảy máu (UC) nhưng nó là thủ thuật xâm lấn và có nguy cơ biến chứng. Cần thiết có một phương pháp không xâm lấn để phân biệt hai bệnh lý này. **Mục tiêu:** Xác định điểm cắt tối ưu của Calprotectin, IL-6 (interleukin -6), CRP (C reactive protein) phân biệt UC, IBS-D. **Đối tượng & phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 255 cá nhân ≥ 15 tuổi được đưa vào nhóm nghiên cứu, trong đó có 31 người khỏe mạnh, 174 người mắc IBS-D, 35 người chẩn đoán là UC và 15 người chẩn đoán là CD. **Kết quả:** giá trị trung vị của calprotectin (khoảng IQR) ở người khỏe mạnh là 20,0 (28,0) $\mu\text{g/g}$; nhóm IBS-D: 16,0 (28,5) $\mu\text{g/g}$; nhóm UC là 1420,0 (2573,0) $\mu\text{g/g}$; nhóm CD: 669,0 (978,0) $\mu\text{g/g}$. Nồng độ calprotectin ở nhóm

IBD bao gồm cả UC và CD cao hơn IBS-D với $p < 0,05$, không có sự khác biệt ở nhóm UC và CD, IBS-D và người khỏe mạnh ($p > 0,05$). Điểm cut-off tối ưu của calprotectin phân biệt IBS-D và IBD là 109,5 $\mu\text{g/g}$, có độ nhạy độ đặc hiệu lần lượt là 100% và 85,2%; của IL-6 là 7,2 pg/mL có độ nhạy độ đặc hiệu lần lượt là 100% và 75,9%; của CRP là 3,4 mg/L có độ nhạy độ đặc hiệu lần lượt là 76,2% và 85,5%. **Kết luận:** Calprotectin, IL-6, CRP là xét nghiệm có giá trị phân biệt IBD và IBS-D.

Từ khóa: Calprotectin, IL-6, CRP, viêm loét đại trực tràng chảy máu (UC), hội chứng ruột kích thích (IBS-D), bệnh Crohn (CD), bệnh viêm ruột (IBD).

SUMMARY

VALUE OF CALPROTECTIN, IL-6 AND CRP IN DISTINGUISHING BETWEEN IN FLAMNATORY BOWEL DISEASE AND IRRITABLE BOWEB SYNDROM

Inflammatory Bowel Diseases (IBD) and irritable bowel syndrome (IBS-D) share many similar clinical features. Colonoscopy and biopsy are the best tests for diagnosing UC, but it is an invasive procedure and carries a risk of complications. A non-invasive method is needed to differentiate these two diseases. **Objectives:** The study aimed to determine the optimal cut-off point of Calprotectin, IL-6 (interleukin-6), CRP (C reactive protein) to differentiate UC, IBS-D. **Subjects & Methods:** A cross-sectional descriptive study of 255 individuals ≥ 15 years of

¹Trường đại học Y Dược Thái Nguyên

²Bệnh viện 19-8

³Bệnh viện Thanh Nhàn

⁴Trường Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Minh Hiền

SĐT: 0949595886

Email: hienshbvtn@gmail.com

Ngày nhận bài: 29.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 4.7.2023

age was performed, including 31 healthy, 174 with IBS-D, 35 diagnosed with UC, and 15 diagnosed with CD. Receiver Operating Characteristics (ROC), sensitivity, specificity and area under curve (AUC) were computed.

Results: the median value of calprotectin (range IQR) in healthy participants was 20.0 (28.0) $\mu\text{g/g}$; 16.0 (28.5) $\mu\text{g/g}$ in IBS-D group; 1420.0 (2573.0) $\mu\text{g/g}$ in UC group; and 669.0 (978.0) $\mu\text{g/g}$ in CD group. Calprotectin concentration in IBD group including UC and CD was higher than IBS-D with $p < 0.05$. The optimal cut-off point of calprotectin that differentiated IBS-D from IBD was 109.5 $\mu\text{g/g}$, with sensitivity and specificity of 100% and 85.2%, respectively; of IL-6 was 7.2 pg/mL with sensitivity and specificity of 100% and 75.9%, respectively; of CRP of 3.4 mg/L had specific sensitivities of 76.2% and 85.5%, respectively. **Conclusion:** The Calprotectin, IL-6, CRP are valuable tests for discriminating between IBD and IBS-D.

Keywords: Calprotectin, IL-6, CRP, ulcerative colitis bleeding, irritable bowel syndrome, Crohn's disease, inflammatory bowel disease

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

IBD và IBS đều là những bệnh phổ biến và ảnh hưởng đến đường tiêu hóa, tâm lý và chất lượng cuộc sống của người bệnh. Tỷ lệ mắc bệnh IBS từ 5% - 20% dân số, tỷ lệ này thay đổi theo từng nghiên cứu, theo từng vùng dân cư [1]. Bệnh không nguy hiểm đến tính mạng nhưng kéo dài làm người bệnh luôn lo lắng căng thẳng mất ngủ, luôn luôn lo sợ bị các bệnh hiểm nghèo khác của ruột. Bệnh được biết đến từ lâu nhưng cơ chế bệnh sinh của bệnh hiện nay vẫn chưa rõ ràng, do đó chưa có phương thức điều trị triệt căn, việc điều trị còn gặp nhiều khó khăn. Trên thực tế, sinh thiết niêm mạc đại tràng của

một số bệnh nhân bị IBS cho thấy thâm nhiễm tế bào mast dày đặc, giải phóng nhiều chất trung gian, chẳng hạn như serine protease đây có thể là nguyên nhân gây ra chứng hưng phấn thần kinh và các triệu chứng của IBS. IBD đề cập đến các bệnh viêm đường ruột mãn tính hoặc thuyên giảm/tái phát và bao gồm chủ yếu là viêm loét đại trực tràng chảy máu (ulcerative colitis - UC) và bệnh Crohn (CD). Vì cả hai bệnh đều phát triển ở lứa tuổi trẻ, biểu hiện các triệu chứng như đau bụng, tiêu chảy và phân có thể có máu, và tiến triển theo chu kỳ với các chu kỳ tái phát và thuyên giảm nhiều lần. Dựa vào các triệu chứng biểu hiện của IBS-D và UC có thể chẩn đoán được tuy nhiên nhiều trường hợp có thể tương tự nhau (vùng xám). Thực hiện các xét nghiệm không xâm lấn như Calprotectin, CRP, IL-6 sẽ giúp cho việc chẩn đoán phân biệt IBD, IBS mà hạn chế thủ thuật nội soi.

Calprotectin là một phức hợp protein được cấu tạo từ calci và kẽm liên kết với protein, có khả năng kim chế sự phát triển của vi khuẩn. Calprotectin chiếm hơn 60% tổng số protein trong bào tương của bạch cầu trung tính, sau quá trình thực bào, bạch cầu trung tính và các đại thực bào bị vỡ và giải phóng Calprotectin xâm nhập vào niêm mạc ruột như một phần của đáp ứng viêm. Calprotectin trong phân là dấu ấn sinh học đặc trưng cho tình trạng viêm đường ruột, là một tham số không xâm lấn và hiệu quả để chẩn đoán IBD, với độ nhạy, độ đặc hiệu cao. Một số nhà sản xuất khuyến nghị ngưỡng Calprotectin trong phân là 50 $\mu\text{g/g}$ cho người lớn bình thường tuy theo bối cảnh lâm sàng, nếu chỉ sử dụng giá trị tham chiếu cho người bình thường dường như là không đủ để phân biệt IBD và IBS. CRP và IL-6 là các xét nghiệm đánh giá một tình trạng viêm

không đặc hiệu liên quan đến đường ruột, nó cũng thường được sử dụng để đánh giá mức độ trầm trọng của tình trạng viêm ruột và có liên quan đến sự tăng của bạch cầu. Vì vậy tìm xét nghiệm có giá trị phân biệt IBD và IBS là cần thiết.

Mục tiêu: Xác định giá trị của Calprotectin, CRP, IL-6 trong phân biệt IBD, IBS-D.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Mẫu nghiên cứu: 255 cá nhân ≥ 15 tuổi được đưa vào nhóm nghiên cứu, trong đó có 31 người khỏe mạnh, 174 người mắc IBS-D, 35 người chẩn đoán là UC, 15 người chẩn đoán là CD.

+ Tiêu chuẩn lựa chọn: bệnh nhân được chẩn đoán xác định là IBS-D dựa vào tiêu chuẩn chẩn đoán ROME IV. Bệnh nhân UC và CD được chẩn đoán xác định dựa vào triệu chứng lâm sàng, nội soi đại tràng và mô bệnh học. Các bệnh nhân IBS-D, UC, CD đều được nội soi đại tràng các trường hợp nghi ngờ được thực hiện xét nghiệm mô bệnh học để chẩn đoán xác định.

+ Tiêu chuẩn loại trừ: phụ nữ có thai, kèm theo viêm ruột do vi khuẩn, tiền sử phẫu thuật đại trực tràng...

- Các xét nghiệm đều được tiến hành tại ngày đầu tiên đến khám bệnh

2.2. Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 6/2021 đến tháng 5/2023

2.3. Địa điểm nghiên cứu: bệnh viện Đại học Y Hà Nội, bệnh viện Thanh Nhàn, bệnh viện 108.

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

+ Kỹ thuật đo nồng độ Calprotectin

- Xét nghiệm LIAISON Calprotectin sử dụng công nghệ miễn dịch hóa phát quang (CLIA), sử dụng 2 kháng thể đơn dòng để bắt giữ và phát hiện calprotectin dùng trong chẩn đoán in vitro để định lượng calprotectin trong phân người. Calprotectin được tách chiết từ hỗn hợp của mẫu phân với đệm tách chiết (extraction buffer), sử dụng quy trình cân hoặc dụng cụ tách chiết LIAISON Calprotectin Stool Extraction Device.

Thiết bị: Máy xét nghiệm Liaison DiaSorin XL thực hiện xét nghiệm định lượng Calprotectin

+ Xét nghiệm IL-6 huyết tương thực hiện trên hệ thống Beckman UniCel DxI 800

+ Xét nghiệm CRP huyết tương thực hiện trên hệ thống Beckman AU 5800

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

Vấn đề đạo đức: Nghiên cứu được Ủy ban nhân dân thành phố Hà Nội cho phép thực hiện theo duyệt định số 3723/QĐ-UBND ngày 27/1/2021

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Đặc điểm của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	IBS-D (1)	IBD		p
		UC (2)	CD (3)	
n	174	35	15	
Nam	90	23	10	0,2
Nữ	84	12	5	

Tuổi (năm): mean (SD)	49,7(12,8)	43,1 (15,3)	31,3 (9,2)	*p (1), (2), (3) <0,05 p (1), (2) >0,05
Các triệu chứng thường gặp				
Sốt	0 (0%)	1 (2,9%)	2 (13,3%)	
Đau bụng	95 (54,6%)	24 (68,6%)	9 (60%)	0,9
Đi ngoài phân máu	3 (17,2%)	18 (51,4%)	7 (46,7%)	<0,001
Xét nghiệm máu (median (IQR))				
Số lượng bạch cầu (G/l)	5,9 (1,9)	9,0 (3,9)	7,0 (1,7)	** (1), (2), (3) = 0,00 *** (2), (3) = 0,2
Bạch cầu trung tính (%)	60,0 (9,5)	61,0 (17,6)	65,0 (28,0)	** (1), (2), (3) = 0,57 *** (2), (3) = 0,1
Bạch cầu lympho (%)	30,3 (9,6)	25,0 (13,0)	21,0 (22,0)	** (1), (2), (3) = 0,00 *** (2), (3) = 0,3
Máu lắng sau 1h (mm/h)	10,0 (13,0)	28,0 (32,5)	17,0 (19,0)	** (1), (2), (3) = 0,02 *** (2), (3) = 0,5
CRP (mg/L)	1,2 (1,3)	5,3 (10,6)	16,0 (4,4)	** (1), (2), (3) = 0,00 *** (2), (3) = 1,7
IL-6 (pg/mL)	2,3 (4,1)	31,8 (65,9)	9,4 (1,2)	** (1), (2), (3) = 0,00 *** (2), (3) = 0,1
Protein (g/L)	76 (6,7)	65,8 (14,6)	69,0 (10,3)	** (1), (2), (3) = 0,00 *** (2), (3) = 0,8
Natri (mmol/L)	139 (2,0)	138 (3,2)	136 (3,8)	** (1), (2), (3) = 0,1 *** (2), (3) = 0,1
Hemoglobin (g/L)	148 (21)	140 (38)	114 (54)	** (1), (2), (3) = 0,00 *** (2), (3) = 0,02
Vi hệ đường ruột				
n	128	30	12	
Rải rác	2	5	1	<0,001
Tỷ lệ Gram âm cao hơn	88	15	4	
Tỷ lệ Gram dương cao hơn	13	9	2	
Cân bằng	25	1	5	

*one way anova

** Sử dụng phép kiểm Kruskal – Wallis

*** Sử dụng phép kiểm Mann-Whitney

Nhận xét: Tỷ lệ nam cao hơn nữ ở các nhóm, sự khác biệt về tỷ lệ nam và nữ không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Tuổi trung bình mắc bệnh CD thấp hơn tuổi mắc IBS-D và UC. Không có sự khác biệt về tuổi ở nhóm IBS-D và UC. Không có sự khác biệt

về triệu chứng đau bụng ở bệnh nhân IBS, UC và CD. Xét nghiệm máu lắng sau 1 giờ, số lượng bạch cầu trong máu, nồng độ IL-6, CRP cao hơn ở nhóm UC, CD so với IBS. Không thấy có sự khác biệt về các chỉ số viêm này ở nhóm UC so với nhóm CD. Tỷ

lệ bạch cầu lympho ở nhóm IBS cao hơn đường ruột chủ yếu là thiên về gram âm nhóm UC và CD ($p < 0,05$). Xác định vi hệ ($p < 0,001$).

Bảng 2: Nồng độ của Calprotectin ($\mu\text{g/g}$) ở nhóm bệnh IBS-D, UC và CD

Xét nghiệm	Người khỏe mạnh	IBS-D	IBD		p
			UC	CD	
n	31	174	35	15	IBS-D và IBD: 0,00 IBS-D và UC: 0,00
Min/Max	5,0/141,0	2,2/645,2	11,6/29800	141/5800	IBS-D và người khỏe mạnh: 0,1 UC và CD: 0,16
median (IQR)	20 (28,0)	16,0 (28,5)	1420 (2573,0)	669 (978)	

Nhận xét: Nồng độ Calprotectin trong phân ở nhóm UC cao hơn nhóm IBS-D ($p < 0,05$). Nồng độ Calprotectin không có sự khác biệt ở nhóm UC và CD, IBS và nhóm tình nguyện.

Bảng 3: Hiệu quả chẩn đoán của Calprotectin, IL6, CRP, máu lắng

	AUC	95% CI	P	Điểm cut-off	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Calprotectin ($\mu\text{g/g}$)	0,978	0,95-1,01	0,00	109,5	100	85,2
IL-6 (pg/mL)	0,87	0,73-0,92	0,001	7,2	100	75,9
CRP (mg/L)	0,88	0,72-0,99	0,00	3,4	76,2	85,5
Máu lắng 1h (mm)	0,69	0,52-0,52	0,04	22,5	54,5	83,3

Nhận xét: Calprotectin là xét nghiệm có giá trị tốt nhất để phân biệt IBS và IBD khi AUC đạt 0,978. IL-6 và CRP cũng là xét nghiệm có thể phân biệt được IBS và UC với $p < 0,05$, AUC là 0,87 và 0,88.

Bảng 4: Phân tích mối tương quan giữa Calprotectin, IL-6, CRP, số lượng bạch cầu, máu lắng với mức độ của UC

		n	Calprotectin ($\mu\text{g/g}$)	IL-6 (pg/mL)	CRP (mg/L)	Số lượng BC	ERS 1h
Mức độ hoạt độ theo thang điểm Mayo (medial/IQR)	Nhẹ	8	555,5/1320	31,8/7,42	2,5/5,0	6,1/2,2	18,5/27,5
	Vừa	18	1375/3222,2	20,4/43,6	10,8/23,8	8,5/3,1	28,5/33,0
	Nặng	9	2160/5893	12,8/79,2	10,0/47,6	10,6/4,5	23,0/59,0
	p		0,02	0,9	0,1	0,008	0,5
Theo vị trí tổn thương (Median/IQR)	Loét vùng đại tràng trái	7	1960/1335	50,4/60,0	5,3/5,4	5,4/2,8	10,0/29,5
	Loét vùng trực tràng	6	504,5/849,0	31,8/1,8	5,5/18,2	6,0/4,4	7,0/2,8
	Loét lan rộng	22	1375/3281	13,4/37,5	13,6/25,0	9,0/5,1	9,0/5,1
	p		0,1	0,3	0,3	0,1	0,3

Nhận xét: Calprotectin và số lượng bạch cầu biến đổi theo mức độ nặng của UC (Dự vào thang điểm Mayo). Không có sự khác biệt về Calprotectin và các chỉ số viêm khác theo vị trí tổn thương

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

IBS-D và UC là bệnh lý của đường tiêu hóa có một số đặc điểm chung, có cơ chế bệnh sinh chưa rõ ràng và liên quan đến nhiều yếu tố cơ địa. IBS-D hay gặp ở người lớn ở đặc biệt là phụ nữ, và thường biểu hiện ở độ tuổi từ 15 đến 65 tuổi. IBD hay gặp ở các nước phát triển chẳng hạn như Hoa Kỳ ở Bắc Mỹ và Vương quốc Anh và các nước bắc Âu nhưng hiện nay, tỷ lệ IBD gia tăng ở châu Á, châu Đại Dương và châu Phi cận Sahara cũng được quan sát thấy. Điều đó có lẽ là do quá trình công nghiệp hóa, tình trạng kinh tế xã hội được cải thiện, cũng như những thay đổi trong chế độ ăn uống và lối sống [2]. Thời điểm khởi phát bệnh hay gặp nhất là từ 15 - 40 tuổi. Tuy nhiên, bệnh có thể xảy ra ở bất kỳ tuổi nào, có khoảng > 15% số bệnh nhân ở thời điểm chẩn đoán có tuổi trên 60 tuổi. Tuổi trung bình của bệnh nhân trong nhóm IBS-D được nghiên cứu là 49,7 bệnh nhân UC là 43,1. Tuổi mắc bệnh ở nhóm CD thấp hơn trung bình là 31,3±9,2. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của Vicente-Steijn, R và CS tuổi trung vị của bệnh nhân IBS-D: 36 (17), UC: 47 (30), CD: 37 (25) [3], tuổi mắc bệnh hay gặp ở 35 đến 50, đây là độ tuổi lao động nên tỷ lệ mắc bệnh gia tăng sẽ ảnh hưởng đến sức khỏe, chất lượng cuộc sống và năng suất lao động. Theo các nghiên cứu châu Âu và Mỹ tỷ lệ mắc bệnh IBS-D và IBD hay gặp ở nữ, những phụ nữ dùng thuốc tránh thai có nguy cơ mắc bệnh cao gấp 2,5 lần so với những phụ nữ không dùng thuốc tránh thai [4]. Trong nghiên cứu này tỷ lệ nam nhiều hơn ở cả nhóm IBS-D, UC và CD cũng theo một nghiên cứu của Jha, A. K. và cộng sự tuổi mắc bệnh IBD là 35 tuổi (từ 14–60), với tỷ lệ

nam nữ là 2: 1[5]. Tỷ lệ nam, nữ mắc bệnh khác nhau giữa các khu vực có thể là do thói quen ăn uống, tình trạng căng thẳng, lo lắng, thay đổi hệ vi sinh vật ở các địa dư khác nhau.

IBS-D và UC có nhiều điểm tương đồng về triệu chứng mà nhiều tác giả cho rằng mặc dù đây là hai loại bệnh khác nhau nhưng có nhiều điểm trùng lặp ở một mức độ nào đó. Cả hai bệnh đều có biểu hiện đau bụng, đầy hơi, tiêu chảy, điều này gây khó khăn trong chẩn đoán. Sau khi tìm hiểu các triệu chứng lâm sàng hay gặp ở cả nhóm IBS-D, UC và CD chúng tôi thấy triệu chứng đau bụng gặp ở hầu hết các bệnh nhân và không có sự khác biệt ở nhóm IBS-D hay UC, CD. Mặc dù có sự khác biệt về tỷ lệ sốt ở nhóm UC so với nhóm IBS-D nhưng tỷ lệ bệnh nhân có sốt rất ít nên triệu chứng sốt ít có giá trị phân biệt hai nhóm bệnh này. Mệt mỏi, gày sút và đi ngoài phân máu gặp nhiều ở nhóm bệnh IBD bao gồm cả UC và CD hơn so với nhóm IBS-D sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Theo ý kiến của các nhà lâm sàng các dấu hiệu báo động như: Sốt, sụt cân và chán ăn, phân có máu, nôn mửa, thiếu máu là biểu hiện đặc trưng của IBD [2]. Trong các trường hợp UC người ta thấy có biểu hiện rối loạn điện giải, đặc biệt là giảm Natri do hiện tượng mất Natri qua phân. Kết quả bảng (1) cho thấy nồng độ protein, Natri, Hb giảm ở nhóm UC và CD so với nhóm IBS. Chúng tôi thấy có sự giảm rất rõ về lượng huyết sắc tố ở nhóm CD so với UC mặc dù tỷ lệ ỉa máu ở nhóm CD thấp hơn UC. Tình trạng thiếu máu có liên quan mật thiết đến chất lượng sống và là vấn đề quan trọng trong quá trình điều trị những bệnh nhân mạn tính. Có rất nhiều nguyên nhân dẫn đến tình trạng thiếu máu ở bệnh nhân UC. Mất máu mạn tính qua đường tiêu hoá dẫn tới thiếu máu, thiếu sắt.

Một số các cytokine viêm có thể ức chế tổng hợp erythropoietin cũng dẫn tới tình trạng thiếu máu. Thiếu hụt axit folic do chế độ ăn kiêng, do tác dụng phụ của sulfasalazine và methotrexat. Trong bệnh Crohn, tình trạng thiếu máu còn do giảm hấp thu vitamin B12 và axit folic ở đoạn cuối hồi tràng, tá tràng, giảm hấp thu sắt ở tá tràng. Trong những trường hợp bệnh nặng, có thể mất máu ồ ạt qua đường tiêu hoá dẫn tới tình trạng thiếu máu nặng.

Nguyên nhân bệnh lý IBD và IBS-D đều chưa rõ ràng. Cơ chế bệnh sinh phức tạp của IBS-D bao gồm nhiều yếu tố như sự thay đổi về nhu động, cảm giác nội tạng, sự thay đổi hệ trục não - ruột, hệ vi sinh vật, chuyển hóa axit mật và tính thấm ruột. Bên cạnh đó, kích hoạt miễn dịch có thể liên quan đến tình trạng viêm mức độ nhẹ. Trên thực tế, sinh thiết niêm mạc đại tràng của khoảng 2/3 số bệnh nhân bị IBS-D cho thấy thâm nhiễm tế bào mast dày đặc, giải phóng nhiều chất trung gian, chẳng hạn như serine protease, có thể là nguyên nhân gây ra chứng hưng phấn thần kinh và các triệu chứng IBS-D. Hơn nữa, các thành phần thực phẩm và kháng nguyên được cho là đi qua hàng rào biểu mô bị rò rỉ, dẫn đến sự xâm nhập và kích hoạt tế bào mast, do đó dẫn đến các triệu chứng IBS-D. Trong bệnh UC người ta thấy có sự tăng hoạt động của hệ thống miễn dịch, thay đổi hệ thống thần kinh ruột, tăng cường tế bào hạch (ganglion cells), thâm nhiễm tế bào viêm. Chính các biểu hiện viêm không đặc hiệu làm tăng phản ứng CRP, IL-6, bạch cầu trong máu. Kết quả nghiên cứu ghi nhận có sự tăng bạch cầu, CRP, máu lắng giờ 1, IL-6, ở nhóm bệnh IBD đặc biệt là UC hơn so với nhóm bệnh IBS-D.

4.2. Giá trị của Calprotectin, IL-6, CRP

Calprotectin là một protein liên kết với canxi và kẽm thuộc họ protein S-100, chủ yếu được tìm thấy trong bạch cầu trung tính bạch cầu đơn nhân, đại thực bào và tế bào biểu mô trong phản ứng viêm với các tế bào viêm tích tụ trong niêm mạc. Sự hiện diện của calprotectin trong phân là hậu quả của sự di chuyển bạch cầu trung tính vào mô tiêu hóa do một quá trình viêm Calprotectin sau đó được giải phóng trong phân, từ đó có thể đo được bằng cách sử dụng xét nghiệm miễn dịch liên quan đến enzyme. Nồng độ Calprotectin trong phân cho thấy mối tương quan tốt với viêm ruột và Calprotectin trong phân được sử dụng như một dấu ấn sinh học trong các rối loạn tiêu hóa. Trong những năm gần đây có một số nghiên cứu cho thấy Calprotectin có giá trị chẩn đoán phân biệt đến 90% bệnh IBD và IBS, tuy nhiên, độ nhạy và độ đặc hiệu tại một điểm cắt nhất định có các giá trị ngưỡng tối ưu là khác nhau giữa các xét nghiệm vì thế cần có nghiên cứu để làm rõ vai trò và giá trị của điểm cắt tin cậy Calprotectin trong chẩn đoán IBD và IBS [6]. Calprotectin phản ánh tình trạng viêm đường tiêu hóa và không bị ảnh hưởng bởi sự thay đổi lối sống ở người lớn, ngoại trừ việc điều trị bằng thuốc chống viêm không steroid, nên ngừng 2 tuần trước khi lấy mẫu. Calprotectin hiện diện trên bề mặt của bạch cầu đơn nhân và đại thực bào, tạo điều kiện thuận lợi cho việc kêu gọi chúng đến vị trí viêm. Quá trình tổng hợp calprotectin tăng lên trong quá trình viêm. Nó cũng cung cấp vai trò điều hòa miễn dịch bằng cách tương tác với các metalloproteinase phụ thuộc kẽm chịu trách nhiệm kích hoạt các cytokine tiền viêm như TNF...

Kết quả bảng (2) cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ Calprotectin ở nhóm

khỏe mạnh và nhóm IBS-D, cũng như không tìm thấy sự khác biệt về nồng độ Calprotectin ở nhóm UC và CD. Trên thực tế sự chông chéo các đặc điểm lâm sàng giữa IBS-D và IBD dẫn đến việc phải thực hiện nội soi nhiều hơn, một thủ thuật xâm lấn làm cho người bệnh khó chịu trong suốt quá trình chuẩn bị soi và đến vài ngày sau khi soi đặc biệt là trẻ em, nên tìm một giá trị cut-off có thể phân biệt được IBS-D và IBD là cần thiết. Kết quả bảng (3) cho thấy cùng với các xét nghiệm đánh giá tình trạng viêm khác như CRP, số lượng bạch cầu, IL-6, máu lắng, Calprotectin vẫn là chỉ điểm có giá trị cao nhất về độ nhạy và độ đặc hiệu giá trị điểm cắt Calprotectin 109.5 $\mu\text{g/g}$ có giá trị phân biệt IBD và IBS-D với độ nhạy, độ đặc hiệu là 100 % và 85,2 %. Trong một nghiên cứu khác được thực hiện trên 76 bệnh nhân bị viêm loét đại tràng, độ nhạy 98% và độ đặc hiệu là 96% ở ngưỡng 188 $\mu\text{g/g}$ đã được báo cáo về vấn đề này [5]. Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy Calprotectin có ý nghĩa phân biệt IBD và IBS-D nhưng không thể dùng xét nghiệm này để phân biệt UC và CD ($p>0,05$). Chúng tôi nhận thấy các chỉ số trong phòng xét nghiệm như CRP, IL-6, Bạch cầu hay máu lắng đều có giá trị dự đoán mắc IBD tuy nhiên Calprotectin là xét nghiệm có giá trị tốt nhất

Ngoài giá trị phân biệt IBS-D và IBD, calprotectin còn có giá trị trong đánh giá mức độ tổn thương. Theo kết quả bảng (4) so với các xét nghiệm đánh giá viêm khác thì calprotectin và số lượng bạch cầu tăng theo

mức độ hoạt động của tổn thương và không có sự khác biệt về vị trí tổn thương.

V. KẾT LUẬN

Calprotectin, CRP, IL-6 phân biệt IBD và IBS với độ nhạy, độ đặc hiệu lần lượt là 100% và 85,2%; 100% và 75,9%; 76,2% và 85,5%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Borghini, R., et al.**, New insights in IBS-like disorders: Pandora's box has been opened; a review. *Gastroenterol Hepatol Bed Bench*, 2017. 10(2): p. p. 79-89.
2. **Szalwińska, P., et al.**, IBS-Symptoms in IBD Patients-Manifestation of Concomitant or Different Entities. *J Clin Med*, 2020. 10(1).
3. **Vicente-Steijn, R., et al.**, Analytical and clinical performance of the fully-automated LIAISONXL calprotectin immunoassay from DiaSorin in IBD patients. *Pract Lab Med*, 2020. 21: p. e00175.
4. **Russen D., Cohen MD**, *Inflammatory Bowel Disease Diagnosis and Therapeutics*. Humana Press Inc, 2003: p. 17 - 33.
5. **Jha, A.K., et al.**, Optimal cut-off value of fecal calprotectin for the evaluation of ulcerative colitis: An unsolved issue? *JGH Open*, 2018. 2(5): p. 207-213.
6. **Waugh, N., et al.**, Faecal calprotectin testing for differentiating amongst inflammatory and non-inflammatory bowel diseases: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess*, 2013. 17(55): p. xv-xix, 1-211.

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ CHẨN ĐOÁN TRƯỚC SINH PHÁT HIỆN THAI MẮC BỆNH THALASSEMIA TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN HÀ NỘI

Hoàng Hải Yến¹, Đinh Thúy Linh¹

TÓM TẮT⁴

Mục tiêu: Đánh giá kết quả chẩn đoán trước sinh phát hiện thai mắc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội từ năm 2019-2023.

Đối tượng và phương pháp: 267 mẫu dịch ối của các thai phụ có tuổi thai từ trên 16 tuần thai thuộc nhóm nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia. Tách DNA từ tế bào ối, sử dụng kỹ thuật Multiplex PCR xác định đột biến gen thalassemia.

Kết quả: Nghiên cứu phát hiện 72 (26,9%) thai mắc bệnh α -thalassemia thể rất nặng, 18

(6,7%) thai mắc bệnh β -thalassemia thể nặng và trung gian và 9 (3,3%) thai mắc bệnh α -thalassemia thể trung gian.

Kết luận: Chẩn đoán trước sinh bằng xét nghiệm Multiplex PCR trên nhóm thai phụ có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia giúp chẩn đoán chính xác thai mắc bệnh thalassemia nhằm đưa ra biện pháp xử lý kịp thời.

Từ khóa: Multiplex PCR, α -thalassemia, β -thalassemia, chẩn đoán trước sinh.

SUMMARY

EVALUATE OF THE RESULTS OF PRENATAL DIAGNOSIS IN DETECTING THALASSEMIA FETUSES AT HANOI OBSTETRICS AND GYNECOLOGY HOSPITAL

¹Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính:

SĐT: 0945965255

Email: trangnhi0109@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 6.7.2023

Objectives: Evaluate the results of prenatal diagnostic in detecting thalassemia fetuses at Hanoi obstetrics and gynecology hospital from 2019-2023.

Materials and methods: 267 amniotic fluid samples of pregnant women with a gestational age of more than 16 weeks who were at high risk of giving birth to a child with thalassemia. Culture and DNA extraction from amniotic cells, using Multiplex PCR to identify thalassemia gene mutations.

Results: The study found 72 (26,9%) fetuses with α -thalassemia major, 18 (6,7%) fetuses with β -thalassemia major and intermedia, 9 (3,3%) fetuses with α -thalassemia intermedia.

Conclusion: Prenatal diagnosis by Multiplex PCR in pregnant women at high risk of giving birth to a child with thalassemia helps to accurately diagnose affected fetuses to take appropriate treatment.

Keywords: Multiplex PCR, α -thalassemia, β -thalassemia, prenatal diagnosis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thalassemia là bệnh di truyền đơn gen phổ biến trên thế giới với ước tính khoảng 7,0% dân số mang gen bệnh. Có hơn 200 quốc gia và vùng lãnh thổ chịu ảnh hưởng bởi căn bệnh này trong đó có Việt Nam. Mỗi năm có khoảng 5.500 bệnh nhân mắc bệnh α -thalassemia mức độ rất nặng tử vong trong giai đoạn chu sinh và 50.500 bệnh nhân mắc bệnh β -thalassemia thể nặng được sinh ra trên toàn thế giới [1],[2].

Bệnh thalassemia đặc trưng bởi sự suy giảm hoặc mất tổng hợp chuỗi globin. Người bình thường có 4 gen α -globin chức năng $\alpha\alpha/\alpha\alpha$ và 2 gen chức năng β globin (β/β). Bệnh α -thalassemia do mất hoàn toàn khả năng sản xuất chuỗi α globin tạo Hb Bart's (γ_4)(--/--) gây bệnh α -thalassemia rất nặng. Thai mắc Hb Bart's có phù nề, suy tim và hầu hết thường tử vong trong giai đoạn thai kỳ 3 hoặc ngay sau sinh [3]. Những thai phụ mang thai mắc Hb Bart's còn đối mặt với các biến chứng về sản khoa như tiền sản giật, sản giật và băng huyết sau sinh. Ở Đông Nam Á, 90% thai mắc Hb Bart's có phù thai, trong đó nguyên nhân chủ yếu do đồng hợp tử SEA. Sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh Hb Bart's ở những khu vực có tỷ lệ người mang gen cao là chiến lược bảo vệ quan trọng với sức khỏe cộng đồng [4]. Khi ba trên bốn gen α globin bị mất hoặc bị bất hoạt (--/- α hoặc --/ $\alpha^T\alpha$ hoặc --/ $\alpha\alpha^T$) dẫn đến chuỗi β globin dư thừa tạo thành tetramer hoạt động, khi trưởng thành có cấu trúc β_4 gây bệnh HbH. Bệnh HbH có tính không đồng nhất cao và có nhiều quy luật khác nhau về cơ chế bệnh [3].

Bệnh β -thalassemia do giảm tổng hợp (β^+) hoặc mất tổng hợp (β^0) 2 gen β globin gây ra các kiểu hình khác nhau, từ mức độ thiếu máu nghiêm trọng đến mức độ không có triệu chứng lâm sàng. Bệnh thường được chẩn đoán từ 6 tháng đến 2 tuổi, thiếu máu là biểu hiện được phát hiện sớm, thường xảy ra từ từ, tăng dần, mức độ từ vừa đến nặng, đòi hỏi phải truyền máu nhiều lần, thường xuyên, gan và lách to, biến dạng xương, đặc biệt là xương mặt. Nếu không được điều trị, đa số tử vong trước 5 tuổi, ít khả năng sống quá 10 tuổi [5].

Bệnh thalassemia được chia thành các thể bệnh tùy theo mức độ nặng nhẹ: thalassemia thể nặng biểu hiện tình trạng thiếu máu nặng

và phụ thuộc vào truyền máu; thalassemia thể trung gian biểu hiện kiểu hình ở các mức độ khác nhau, từ thiếu máu nhẹ đến thiếu máu nặng kèm theo gan lách to và biến đổi xương; thalassemia thể nhẹ và người mang gen thalassemia thường không có triệu chứng lâm sàng.

Bệnh thalassemia không thể chữa khỏi nhưng có thể phòng bệnh một cách chủ động và hiệu quả bằng chẩn đoán trước sinh từ dịch ối tìm đột biến gen, giúp chẩn đoán thai mắc bệnh thalassemia thể nặng nhằm đưa ra biện pháp xử lý và điều trị kịp thời, giúp cho gia đình và xã hội giảm gánh nặng chăm sóc và điều trị người bệnh thalassemia thể nặng.

Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu này được thực hiện với mục tiêu: **“Đánh giá kết quả chẩn đoán trước sinh phát hiện thai mắc bệnh thalassemia tại Bệnh viện Phụ Sản Hà Nội”**.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

- Mẫu nghiên cứu: 287 thai phụ được chỉ định xét nghiệm xác định đột biến thalassemia từ dịch ối.

- Tiêu chuẩn lựa chọn: Thai phụ có tuổi thai từ trên 16 tuần, có ít nhất một trong những tiêu chuẩn sau được chọn làm đối tượng nghiên cứu: Cặp vợ chồng có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia; Gia đình có người mắc bệnh thalassemia như vợ, chồng hoặc con đã được xác định gen bệnh thalassemia; Tiền sử sinh con phù thai.

- Tiêu chuẩn loại trừ: Thai phụ có tuổi thai <16 tuần; Thai phụ không có nguy cơ sinh con mắc bệnh thalassemia, thai phụ không đồng ý làm thủ thuật hút dịch ối hoặc có chống chỉ định hút dịch ối.

2.2. Phương pháp

- Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 8/2019 đến tháng 6/2023

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

- Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu kết hợp tiến cứu

2.3. Các quy trình tiến hành trong nghiên cứu

- 5mL dịch ối của thai phụ được nuôi cấy trong 7 ngày

- Tách DNA từ tế bào ối bằng hóa chất QIAamp DNA mini kit. Định lượng và kiểm tra chất lượng DNA bằng máy quang phổ NanoDrop.

- Thực hiện kỹ thuật Multiplex PCR phát hiện 8 loại đột biến α -thalassemia (5 loại đột biến mất đoạn & 3 loại đột biến điểm) và 9

loại đột biến điểm β -thalassemia.

- Phân tích kết quả

2.4. Một số tiêu chuẩn sử dụng trong nghiên cứu

- Đột biến α^0 -thalassemia: các đột biến mất cả 2 gen α globin (--^{SEA}, --^{THAI}, --^{FIL}).

- Đột biến α^+ -thalassemia: các đột biến làm mất 1 gen α globin ($-\alpha^{3.7}$, $-\alpha^{4.2}$) hoặc đột biến điểm làm bất thường tổng hợp chuỗi α globin ($\alpha\alpha^{Cs}$, $\alpha\alpha^{Qs}$, $\alpha\alpha^{c.2delT}$).

- Đột biến β^0 -thalassemia: các đột biến làm mất tổng hợp gen β globin ($\beta^{Cd41/42}$, β^{Cd17} , $\beta^{Cd71/72}$, β^{Cd95} , β^{IVS1-1} , β^{IVS1-5}).

- Đột biến β^+ -thalassemia: các đột biến làm giảm tổng hợp gen β globin (β^{-28} , $\beta^{IVS2-654}$).

- HbE: Đột biến trên gen β -globin tạo huyết sắc tố HbE (β^{Cd26})

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Giá trị
Tuổi thai phụ trung bình (năm)	28,9±4,6
≥ 35 tuổi (n, %)	19 (7,0%)
< 35 tuổi (n, %)	248 (93,0%)
Tuổi thai trung bình (tuần)	19,3±3,9
< 20 (n, %)	197 (73,8%)
≥ 20 (n, %)	70 (26,2%)
Địa dư	
Hà Nội (n, %)	85 (31,8%)
Các tỉnh khác (n, %)	182 (68,2%)

Nhận xét: 267 thai phụ trong nghiên cứu có tuổi từ 17 - 40 tuổi, trung bình là 28,9±4,6 tuổi, trong đó nhóm < 35 tuổi chiếm tỷ lệ cao là 93%. Tuổi thai từ 16 - 31 tuần, trung bình là 19,3±3,9 tuần, trong đó nhóm tuổi thai < 20 tuần chiếm tỷ lệ cao là 73,8%. Thai phụ

đến từ Hà Nội chiếm tỷ lệ 31,8%, thai phụ đến từ 27 tỉnh khu vực phía bắc chiếm 68,2%.

3.2. Xét nghiệm gen thalassemia của thai phụ

Bảng 3.2. Xét nghiệm gen thalassemia của thai phụ

Phân loại đột biến		Số lượng	
		n	%
α -thal (183 thai phụ/68,5%)	α -thal silent	16	6,0
	α -thal trait	165	61,8
	HbH	2	0,7
β -thal (46 thai phụ/17,3%)	β -thal silent	46	17,3
HbE (26 thai phụ/9,7%)	HbE	26	9,7
Kết hợp (12 thai phụ/4,5%)	α/β -thal	5	1,9
	α /HbE	5	1,9
	β -thal/HbE	2	0,7
Tổng		267	100

Ghi chú: α -thal: α -thalassemia; β -thal: β -thalassemia; silent: Người mang gen; trait: Thể nhẹ

Nhận xét: Xét nghiệm gen của 267 thai phụ cho thấy nhóm mang đột biến α -thal chiếm tỷ lệ cao nhất là 68,5%, trong đó α -thal thể nhẹ chiếm tỷ lệ 61,8%, người mang gen α -thal chiếm tỷ lệ 6,0% và có 2 thai phụ

mắc bệnh HbH. Nhóm mang đột biến β -thal chiếm 17,3%. Nhóm mang đột biến HbE chiếm tỷ lệ 9,7%. Nhóm mang đột biến phối hợp α , β -thal và HbE chiếm tỷ lệ 4,5%, trong đó α/β -thal và α /HbE chiếm 1,9% mỗi loại và có 2 thai phụ mắc bệnh β -thal/HbE.

3.3. Phân bố đột biến gen thalassemia của thai phụ

Bảng 3.3. Phân bố đột biến gen của thai phụ

Kiểu đột biến		Số lượng	
		n	%
α -thal (183 thai phụ/68,5%)	-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$	165	61,8
	$-\alpha^{3.7}/\alpha\alpha$	7	2,6
	$-\alpha^{4.2}/\alpha\alpha$	3	1,1
	$\alpha\alpha^{Cs}/\alpha\alpha$	4	1,5
	$\alpha\alpha^{Qs}/\alpha\alpha$	1	0,4
	$\alpha\alpha^{c.2delT}/\alpha\alpha$	1	0,4
	-- ^{SEA} / $-\alpha^{3.7}$	2	0,7
β -thal (46 thai phụ/17,3%)	$\beta/\beta^{Cd41/42}$	22	8,2
	β/β^{Cd17}	12	4,5
	$\beta/\beta^{Cd71/72}$	4	1,5
	$\beta/\beta^{IVS2-654}$	1	0,4
	β/β^{IVS1-1}	2	0,7
	β/β^{-28}	5	1,9
HbE (26 thai phụ/9,7%)	β/β^{Cd26}	26	9,7
Kết hợp (12 thai phụ/4,5%)	-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$ và β/β^{Cd26}	5	1,9
	-- ^{SEA} / $\alpha\alpha$ và β/β^{Cd17}	3	1,1

	-- ^{SEA} /αα và β/β ^{Cd41/42}	1	0,4
	αα ^{CS} /αα và β/β ^{Cd17}	1	0,4
	β ^{Cd26} /β ^{Cd17}	1	0,4
	β ^{Cd26} /β ^{Cd41/42}	1	0,4
Tổng		267	100

Nhận xét: Trong 6 kiểu đột biến gen α-thal thì dị hợp tử SEA gặp nhiều nhất với tỷ lệ 61,8%. Tiếp theo là các đột biến theo tần suất gặp giảm dần lần lượt là 3.7, HbCs và 4.2. Đột biến HbQs và c2delT hiếm gặp hơn chỉ với 1 trường hợp/mỗi đột biến. Có 2 thai phụ mắc HbH có kiểu gen (--^{SEA}/- α^{3.7}). Có 6 kiểu đột biến gen β-thal, trong đó dị hợp tử Cd41/42 gặp nhiều nhất chiếm tỷ lệ 8,2%. Tiếp theo là các đột biến theo tần suất gặp

giảm dần lần lượt là Cd17, Cd71/72, -28, IVS1-1 và thấp nhất là IVS2-654. Nhóm mang đột biến HbE gặp 26 trường hợp với tỷ lệ 9,7%. Nhóm kết hợp các đột biến α, β-thal và HbE thấp nhất là 12 trường hợp với tỷ lệ 4,5%. Có 2 thai phụ mắc bệnh β-thal (β-thal/HbE).

3.4. Kết quả chẩn đoán trước sinh của thai



Biểu đồ 3.1. Kết quả chẩn đoán trước sinh của thai

Nhận xét: 267 thai phụ được chỉ định xét nghiệm đột biến thalassemia từ dịch ối, phát hiện 80,2% thai mang đột biến gen và 19,8% thai không mang đột biến gen, trong đó:

- 72 (26,9%) thai mắc bệnh α-thal thể rất nặng gây phù thai. 9 (3,3%) thai mắc bệnh α-thal thể trung gian (HbH). 67 (25,0%) thai mang gen α-thal

- 18 (6,7%) thai mắc bệnh β-thal thể nặng và trung gian. 31 (11,7%) thai mang gen β-thal

- 11 (4,1%) thai mang gen HbE
- 6 (2,3%) thai mang gen α-thal kết hợp β-thal, HbE không gây bệnh.

3.5. Phân bố đột biến gen của thai

Bảng 3.4. Phân bố đột biến gen của thai

Kiểu gen		Số lượng			
		n	%	Tổng	%
α-thal	-- ^{SEA} /αα	61	22,8	146	54,7
	-α ^{3.7} /αα	4	1,5		
	αα ^{CS} /αα	2	0,7		

	--SEA/- $\alpha^{3.7}$	6	2,2		
	--SEA/- $\alpha^{4.2}$	2	0,7		
	--SEA/ $\alpha\alpha^{Cs}$	1	0,4		
	--SEA/--SEA	70	26,2		
HbE	β/β^{Cd26}	11	4,1	11	4,1
β -thal	$\beta/\beta^{Cd41/42}$	18	6,7	37	13,9
	β/β^{Cd17}	9	3,4		
	$\beta/\beta^{Cd71/72}$	1	0,4		
	β/β^{IVS1-1}	1	0,4		
	β/β^{-28}	1	0,4		
	$\beta/\beta^{IVS2-654}$	1	0,4		
	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$	2	0,7		
	$\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd17}$	4	1,5		
Kết hợp	$\beta^{Cd26}/\beta^{Cd17}$	3	1,1	20	7,5
	$\beta^{Cd26}/\beta^{Cd41/42}$	5	1,9		
	$\beta^{Cd26}/\beta^{IVS1-1}$	2	0,7		
	$\beta^{Cd26}/\beta^{Cd71/72}$	1	0,4		
	$\beta^{Cd26}/\beta^{IVS-654}$	1	0,4		
	--SEA/ $\alpha\alpha$ và β/β^{Cd26}	4	1,5		
	--SEA/ $\alpha\alpha$ và β/β^{Cd17}	1	0,4		
	--SEA/ $\alpha\alpha$ và $\beta/\beta^{Cd41/42}$	1	0,4		
--SEA/--SEA và β/β^{Cd26}	2	0,7			
Bình thường		53	19,8	53	19,8
Tổng		267	100	267	100

Nhận xét: Thực hiện xét nghiệm Multiplex PCR từ tế bào ôi phát hiện 146 (54,7%) thai mang gen đột biến α -thal. Với 4 kiểu đột biến (SEA, 3.7, 4.2, HbCs), 70 thai mang đột biến đồng hợp tử SEA (--SEA/--SEA) gây phù thai do Hb Bart's chiếm tỷ lệ cao nhất là 26,2%. 9 thai mắc bệnh HbH. 67 thai mang gen dị hợp tử SEA, 3.7 và HbCs. 37 (13,9%) thai mang đột biến β -thal với 6 kiểu đột biến (Cd41/42, Cd17, Cd71/72, -28, IVS1-1, IVS2-654), trong đó 6 (2,2%) thai mắc bệnh β -thal thể nặng ($\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd41/42}$ và $\beta^{Cd41/42}/\beta^{Cd17}$) và 31 (11,7%) thai mang gen β -thal. 20 (7,5%) thai mang đột biến gen α/β -thal, α -thal/HbE, trong đó có 2 (0,7%) thai đột biến đồng hợp tử SEA kết hợp với HbE

(--SEA/--SEA và β/β^{Cd26}) gây phù thai do Hb Bart's, 12 (4,5%) thai mắc bệnh β -thal thể trung gian (β -thal/HbE) và 6 thai có đột biến kết hợp α/β -thal và α -thal/HbE không gây bệnh. 53 (19,8%) thai không mang đột biến.

IV. BÀN LUẬN

Thalassemia là bệnh di truyền gen lặn trên NST thường, khi cả 2 vợ chồng cùng mang gen thalassemia thì có 25% nguy cơ sinh con mắc bệnh, trường hợp một người mắc bệnh và một người mang gen bệnh thalassemia thì mỗi lần sinh có 50% nguy cơ sinh con mắc bệnh. Chính vì vậy, với các cặp vợ chồng cùng mang gen bệnh α hoặc β -thalassemia hoặc một người mang gen β -

thalassemia và một người mang HbE thì nhất thiết phải được tư vấn, sàng lọc và chẩn đoán trước sinh cho mỗi lần sinh. Tại Việt Nam, từ năm 2020, theo quyết định số 1807/QĐ-BYT quy định đưa bệnh thalassemia là 1 trong 4 bệnh bắt buộc phải sàng lọc trước 14 tuần thai tại tất cả các cơ sở khám, quản lý thai nghén trên cả nước hiện nay.

Trong nghiên cứu, 183 thai phụ có nguy cơ sinh con mắc hội chứng Hb Bart's ($--^{SEA}/-^{SEA}$) được chỉ định hút dịch ối với tuổi thai trung bình là 19,3 tuần (16-31 tuần), chủ yếu người mang gen dị hợp tử đột biến SEA (α^0), đây là loại đột biến phổ biến nhất ở khu vực Đông Nam Á. Nghiên cứu đã phát hiện 72 thai mắc hội chứng phù thai do Hb Bart's chiếm tỷ lệ 26,9%. Các thai phụ mang thai được chẩn đoán Hb Bart's một số trường hợp có kết quả siêu âm bất thường như phù thai, tim thai to hoặc có tiền sử sinh con phù thai hoặc đình chỉ thai nghén do Hb Bart's, một số trường hợp chưa phát hiện bất thường trên siêu âm hoặc sinh con lần đầu được sàng lọc bệnh thalassemia giai đoạn 3 tháng đầu của thai kỳ.... Cả 72 thai phụ đều chấp nhận chấm dứt thai kỳ sau khi đã được các chuyên gia di truyền tư vấn. Điều này đặc biệt có ý nghĩa giúp thai phụ giảm thiểu được biến chứng thai kỳ do mang thai mắc bệnh α -thalassemia thể rất nặng. Kết quả nghiên cứu tương đồng với nghiên cứu của Thiện Đ.T.H. phát hiện 28,6% trường hợp Hb Bart's [6].

46 thai phụ mang gen β -thalassemia chiếm tỷ lệ 17,3%, trong đó 40 thai phụ mang đột biến β^0 -thalassemia, 26 thai phụ mang đột biến HbE chiếm 9,7%. Trong nghiên cứu gặp 6 loại đột biến β -thalassemia, đây đều là những đột biến phổ biến ở khu vực Đông Nam Á và ở Việt Nam. Những cặp vợ chồng cùng mang đột biến β^0 sẽ có 25% nguy cơ sinh con mắc bệnh β -thalassemia

mức độ nặng. Bệnh β -thalassemia thể trung gian và thể nhẹ là sự kết hợp giữa β^0 , β^+ và β^E , trong đó β -thalassemia thể trung gian có biểu hiện lâm sàng đa dạng từ nhẹ đến nặng. Chẩn đoán phân biệt β -thalassemia thể nặng hay thể trung gian rất quan trọng trong việc lựa chọn phương pháp điều trị. Nghiên cứu phát hiện 18 thai mắc bệnh β -thalassemia, trong đó có 6 thai mắc bệnh β -thalassemia thể nặng, cả 6 thai phụ đều quyết định đình chỉ thai nghén sau khi được tư vấn, điều này giúp cho thai phụ và gia đình không sinh ra những trẻ mắc bệnh thalassemia thể nặng, làm giảm gánh nặng cho gia đình và xã hội.

12 thai mắc bệnh β^0/β^E và β^+/β^E có thể có biểu hiện thiếu máu từ trung bình đến nặng, gia đình nên được tư vấn kỹ về biểu hiện bệnh lý và theo dõi điều trị sau này. Nếu thai phụ và gia đình mong muốn tiếp tục giữ thai thì được tư vấn khám và điều trị cho trẻ sớm ngay sau sinh. Việc điều trị sớm sẽ giúp giảm những biến chứng của bệnh β -thalassemia thể nặng cho trẻ sau này.

Bệnh HbH là bệnh α -thalassemia có triệu chứng (dị hợp tử kép α^0 và α^+ , hoặc α^T) bao gồm một đột biến mất đoạn hai gen và một đột biến mất đoạn hoặc đột biến điểm trên một gen. Nghiên cứu phát hiện 9 thai mắc bệnh HbH chiếm 3,3%, trong đó 8 thai mắc HbH thể mất đoạn và 1 thai mắc HbH thể không mất đoạn ($--^{SEA}/-\alpha^{Cs}$). Kết quả tỷ lệ thai mắc HbH tương đương với nghiên cứu của Thiện Đ.T.H. [6]. Nghiên cứu của Chen và cộng sự về đặc điểm lâm sàng và di truyền của 114 bệnh nhân mắc bệnh HbH cho thấy bệnh nhân HbH thể không mất đoạn ($--/\alpha^T$) có biểu hiện lâm sàng nặng hơn so với bệnh nhân HbH thể mất đoạn ($--/\alpha$) [7]. Đối với bệnh HbH, việc tư vấn di truyền sau khi có kết quả chẩn đoán trước sinh cũng cần được cân nhắc, do có sự khác nhau về kiểu

hình với các kiểu gen tương ứng.

Nghiên cứu phát hiện 8 thai có đột biến α kết hợp với β -thalassemia, và α -thalassemia kết hợp HbE, trong đó có 2 thai có Hb Bart's có kiểu gen đồng hợp tử SEA kết hợp với HbE ($--^{SEA}/--^{SEA}$ và β/β^{Cd26}) do cặp vợ chồng thai phụ có một người mang gen đột biến SEA và một người mang gen SEA kết hợp HbE. Vì vậy nên chỉ định xác định đột biến α -thalassemia cho các cặp vợ chồng mang gen β -thalassemia hoặc HbE, vì các cặp vợ chồng đó có 25% nguy cơ sinh con mắc bệnh Hb Bart's hoặc HbH [8]

Nghiên cứu từ tháng 8/2019 đến tháng 6/2023 đã phát hiện thai mắc bệnh α -thalassemia mức độ nặng gây hội chứng Bart's chiếm tỷ lệ rất cao là 26,9% và 6,7% thai mắc bệnh β -thalassemia thể nặng. Chẩn đoán trước sinh sớm giúp phát hiện chính xác thai mắc bệnh thalassemia thể nặng để có thể tư vấn gia đình ngăn sinh ra những trẻ mắc bệnh nặng đồng thời giúp làm giảm biến chứng cho thai phụ.

Như vậy, nên triển khai sàng lọc và chẩn đoán trước sinh bệnh thalassaemia thành hệ thống thường quy giúp chẩn đoán sớm cho thai và tư vấn di truyền nhằm đưa ra các biện pháp can thiệp kịp thời và điều trị hiệu quả.

V. KẾT LUẬN

Chẩn đoán trước sinh bằng xét nghiệm Multiplex PCR trên nhóm thai phụ có nguy cơ cao sinh con mắc bệnh thalassemia giúp chẩn đoán chính xác thai mắc bệnh

thalassemia nhằm đưa ra biện pháp xử lý kịp thời.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Modell B, Darlison M (2008).** Global epidemiology of haemoglobin disorders and derived service indicators, Bulletin of the World Health Organization, 86, 480-487.
2. **Thalassemia Internation Federation annual report (2013).**
3. **King A.J., Higgs D.R. (2018).** Potential new approaches to the management of the Hb Bart's hydrops fetalis syndrome: the most severe form of alpha thalassemia. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, (1), 353-360.
4. **David H K Chui, et al (2005).** α -Thalassemia: Hb H Disease and Hb Barts Hydrops Fetalis. Ann. N.Y. Acad. Sci., 1054, 25–32.
5. **Stamatoyannopoulos G. (2005).** Prospects for developing a molecular cure for thalassemia. Hematology, 1, 255-257.
6. **Thịện Đ.T.H (2019).** Nghiên cứu sàng lọc bệnh thalassemia ở phụ nữ có thai đến khám và điều trị tại bệnh viện Phụ Sản trung ương. Luận án tiến sĩ y học.
7. **Chen F.E., Ooi C., Ha S.Y., et al. (2000).** Genetic and clinical features of hemoglobin H disease in Chinese patients. N Engl J Med, 343(8), 544-50
8. **Wu. H, Wang. H, et al (2018).** Invasive molecular prenatal diagnosis of alpha and beta thalassemia among Hakka pregnant women. Medicine, 97(52), e13557.

BÁO CÁO MỘT TRƯỜNG HỢP NHỊP TIM THAI CHẬM VÀ HỘI CHỨNG QT KÉO DÀI

Trần Nhật Thăng^{1,2}, Hoàng Quốc Trung², Nguyễn Hữu Huy²,
Nguyễn Thị Kim Loan², Mai Thị Bích Chi²,
Luu Nguyễn Trung Thông², Vi Kim Phong²,
Nguyễn Hoàng Bắc^{1,2}, Lê Minh Khôi^{1,2}, Nguyễn Thị Băng Sương^{1,2}

TÓM TẮT⁵

Đặt vấn đề: Hội chứng QT kéo dài (LQTS) được đặc trưng bởi nhiều triệu chứng khác nhau, bao gồm rối loạn nhịp thất đa hình được gọi là "xoắn đỉnh" và rung tâm thất, có thể dẫn đến ngất hoặc đột tử. Đột biến KCNQ1 là nguyên nhân phổ biến nhất gây ra LQTS.

Mục tiêu: Báo cáo một trường hợp bệnh nhi có nhịp tim thai chậm nghi ngờ mắc LQTS

Đối tượng-Phương pháp: Bệnh nhi và gia đình được làm siêu âm tim, điện tâm đồ ECG, xét nghiệm di truyền CES để phát hiện đột biến gây bệnh

Kết quả: Phát hiện đột biến dị hợp ở vị trí c.1022C>T (p.Ala341Val) tại exon 7 của gen KCNQ1 trên mẫu bệnh nhi và người mẹ cho thấy bệnh nhi di truyền đột biến này từ người mẹ.

Kết luận: Nhịp tim thai chậm trong thai kỳ có thể là dấu hiệu của LQTS. Những trẻ này nên được làm điện tâm đồ sau sinh và xét nghiệm di truyền để loại trừ hoặc xác nhận LQTS.

Từ khóa: Hội chứng QT kéo dài bẩm sinh, đột biến KCNQ1, nhịp tim thai chậm

SUMMARY

A CASE REPORT: FETAL SINUS BRADYCARDIA AND LONG QT SYNDROME

Background: Long QT syndrome (LQTS) is characterized by various symptoms, including polymorphic ventricular arrhythmia known as "torsade de points" and ventricular fibrillation, which can lead to syncope or sudden death. KCNQ1 mutations are the most common cause of LQTS.

Objectives: Report a case of a pediatric patient with fetal sinus bradycardia suspected of having LQTS

Methods: Pediatric patient and her families were subjected to echocardiography, electrocardiogram ECG, and CES genetic testing to find disease-causing mutation.

Results: Detection of mutation at position c.1022C>T (p.Ala341Val) at exon 7 of the KCNQ1 gene in pediatric and maternal samples showed that the patient inherited this mutation from her mother.

Conclusion: Sinus bradycardia during pregnancy may indicate fetal LQTS. These children should get postnatal electrocardiography and genetic testing to rule out or confirm LQTS.

Keywords: Congenital long QT syndrome, KCNQ1 mutation, Fetal sinus bradycardia

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Huy

SĐT: 0857461789

Email: huy.nh2@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 8.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 9.7.2023

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng QT kéo dài (LQTS) là một hội chứng rối loạn nhịp tim nguyên phát do di truyền. LQTS biểu hiện bằng hình ảnh QT dài trên điện tâm đồ và những rối loạn nhịp thất gây ngất và đột tử. Trên điện tâm đồ bề mặt, đặc trưng của LQTS là khoảng thời gian QT hiệu chỉnh (corrected QT, QTc) kéo dài, cơn tim nhanh thất đa hình thái, xoắn đỉnh và đột tử. Hơn nữa, xét nghiệm gen là phương pháp chính xác nhất để phân loại thể bệnh như là LQTS loại 1 nếu có đột biến gen KCNQ1, LQTS loại 2 nếu có đột biến gen KCNH2 và LQTS loại 3 nếu có đột biến gen SCN5A. Hiện tại, các đột biến đã được xác định ở ít nhất 17 gen liên quan đến LQTS. LQTS có căn nguyên rất phức tạp, bao gồm cả nguyên nhân di truyền và không di truyền (3,5) Tại Việt Nam, mặc dù việc chẩn đoán và điều trị LQTS bẩm sinh đã được chú ý với báo cáo chẩn đoán và điều trị ca bệnh lâm sàng, nhưng việc áp dụng phối hợp đánh giá lâm sàng, điện tâm đồ và xét nghiệm di truyền trong chẩn đoán, phân tầng nguy cơ và điều trị vẫn còn chưa đầy đủ.

Trong nghiên cứu này, kỹ thuật giải trình tự CES đã được ứng dụng để nghiên cứu phát hiện đột biến trên một trường hợp bệnh nhi có nhịp tim thai chậm nghi ngờ mắc LQTS nhằm phát hiện biến thể liên quan đến bệnh, từ đó có thể xác định sớm quá trình phát triển loạn nhịp tim và quản lý lâm sàng triệt để hơn.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Một gia đình bệnh nhân người Việt Nam được làm xét nghiệm di truyền và tư vấn lâm sàng tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. Bệnh nhi là nữ, 3 ngày tuổi được thực hiện xét nghiệm gen G4500

(CES) cùng cha mẹ ruột do có nhịp tim thai chậm, nghi ngờ mắc LQTS.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Giải trình tự NGS

ADN được tách chiết và được chuẩn bị thư viện giải trình tự bằng kit New England Biolabs (Hoa Kỳ). Các phân mảnh ADN trong vùng gen mục tiêu sẽ được làm giàu sử dụng mẫu dò đặc hiệu IDT DNA (Hoa Kỳ), sau đó được giải trình tự trên hệ thống giải trình tự thế hệ mới NextSeq, Illumina (Hoa Kỳ) với độ phủ trung bình khoảng 100X. Tối thiểu 95% vùng gen mục tiêu có độ phủ trên 10X. Kết quả giải trình tự sẽ so sánh với bộ gen tham chiếu GRCh38 để xác định biến thể di truyền. Dựa trên cơ sở dữ liệu di truyền hiện có (bao gồm dữ liệu 1000 bộ gen, ESP), các biến thể hiếm với tần suất dưới 1% trong quần thể sẽ được tiếp tục phân lớp. Các biến thể được phân loại dựa trên cơ sở dữ liệu ClinVar của Viện sức khỏe quốc gia Hoa Kỳ (US. National Institutes of Health) được cập nhật tới thời điểm trả kết quả.

Khẳng định kết quả bằng phương pháp Sanger

Trình tự đoạn gen chứa vị trí đột biến cần kiểm tra được lấy từ cơ sở dữ liệu Genome (GRCh38) của NCBI. Primer được thiết kế bằng phần mềm Primer3Plus và được đánh giá độ đặc hiệu bằng công cụ Primer-BLAST của NCBI kết hợp với công cụ In-Silico PCR của UCSC. Sau đó, các trình tự primer được gửi đi tổng hợp bởi IDT. Trình tự DNA quan tâm được dùng để thực hiện PCR trên máy ProFlex™ 3x32-well PCR System của hãng Applied Biosystems dựa vào primer đã tổng hợp. Sản phẩm PCR sau khi tinh sạch được giải trình tự Sanger trên hệ thống 3130xl Genetic Analyzer sử dụng POP-7™ Polymer (Applied Biosystems). Kết quả giải trình tự được phân tích bằng phần mềm CodonCode

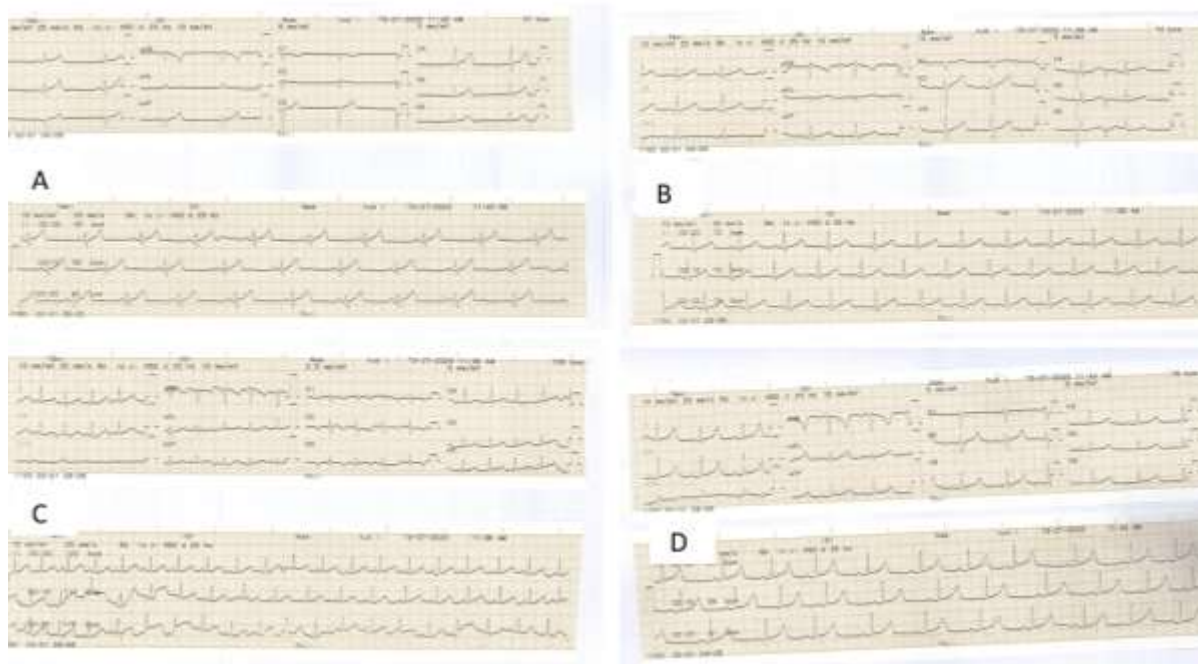
Aligner (v. 9.0.1) kết hợp với UCSC Genome Browser (GRCh38) và công cụ BLAST của NCBI để xác định vị trí đột biến và loại đột biến.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu thực hiện trên một bệnh nhi sơ sinh (SN 2022) nữ, nhịp xoang chậm, sinh lúc 37 tuần 6 ngày. Trong thai kì nhịp tim thai chậm bất thường 100-110 l/ph, siêu âm tim thai chưa ghi nhận bất thường. Các kết quả lâm sàng cho thấy bệnh nhân có siêu âm tim bình thường, tuy nhiên kết quả điện tâm đồ ECG cho thấy hình ảnh nhịp tim bất

thường với hội chứng QT kéo dài có giá trị giá trị khoảng QTc trung bình 471 ms, được xem là giá trị QT bất thường ở cả nam giới và nữ giới. Kết quả lâm sàng của người mẹ (SN 1989) có kết quả siêu âm tim bình thường, kết quả điện tâm đồ ECG kéo dài 474 ms. Kết quả lâm sàng của người cha (SN 1982) có kết quả siêu âm tim bình thường, nhịp xoang chậm 58 l/p, kết quả điện tâm đồ ECG bình thường. Kết quả lâm sàng của anh trai bệnh nhi (SN 2012) có kết quả siêu âm tim bình thường, kết quả điện tâm đồ ECG kéo dài 464 ms. Bệnh nhi được tư vấn nguy cơ bệnh lý tim mạch và hướng dẫn theo dõi điều trị tại bệnh viện Nhi Đồng 2.



Hình 1. Kết quả điện tâm đồ ECG của gia đình bệnh nhi

(A) ECG bệnh nhi sơ sinh (SN 2022). (B) ECG của người mẹ (SN 1989). (---C) ECG của người cha (SN 1982). (D) ECG của anh trai bệnh nhi (SN 2012).

3.2. Kết quả đánh giá đột biến

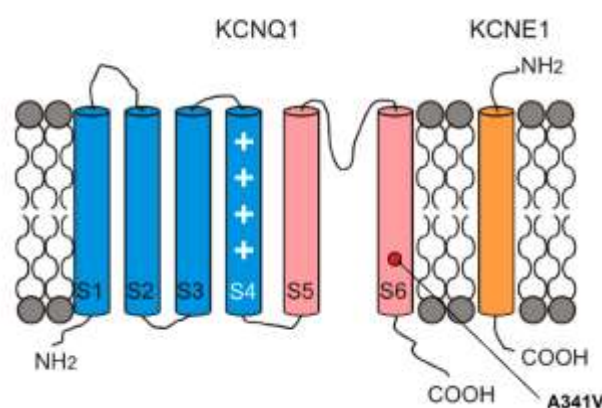
Chúng tôi đã ứng dụng phương pháp giải trình tự gen thế hệ mới Illumina phân tích vùng mã hóa của 4.503 gen liên quan đến

bệnh được xác định rõ nhất đến hiện nay. Kết quả là chúng tôi đã phát hiện một đột biến dị hợp sai nghĩa trên gen KCNQ1 trên mẫu bệnh nhi nữ và mẫu người mẹ (bệnh nhi nam không làm xét nghiệm gen). Đột biến phát hiện bằng kỹ thuật CES được xác nhận lại bằng phương pháp giải trình tự Sanger.



Hình 2. Kết quả giải trình tự Sanger của gen KCNQ1

Nhận xét: Phát hiện đột biến dị hợp ở vị trí c.1022C>T (p.Ala341Val) tại exon 7 của gen KCNQ1 trên mẫu bệnh nhi và người mẹ cho thấy bệnh nhi di truyền đột biến này từ người mẹ.



Hình 3. Vị trí đột biến trên cấu trúc protein KCNQ1

Nhận xét: Protein KCNQ1 (Potassium Voltage-Gated Channel Subfamily Q Member 1) bao gồm 676 amino acid, được mã hóa bởi KCNQ1 nằm trên nhiễm sắc thể 11. Protein KCNQ1 chứa sáu domain xuyên màng (S1–S6) với vùng cảm biến điện áp được tạo thành bởi S1–S4 và vùng lỗ kênh (S5 và S6). Đột biến A341V nằm trong vùng domain S6 tạo thành lỗ của kênh Kali.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã áp dụng kỹ thuật CES để xác định trình tự vùng mã hóa của 4.503 gen của bệnh nhân, từ đó phát hiện ra một đột biến sai nghĩa c.1022C>T (p.Ala341Val) tại exon 7 của gen

KCNQ1 trên mẫu bệnh nhi và người mẹ. Ở người, gen KCNQ1 mã hóa kênh Kv7.1 nhạy cảm với adrenergic chịu trách nhiệm cho dòng kali đi ra chậm (I_K). Protein KCNQ1 liên kết với các protein trong họ KCNE (ví dụ protein KCNE1) để tạo thành các kênh kali chức năng. Bốn tiểu đơn vị alpha được tạo ra từ các protein KCNQ1 hình thành nên cấu trúc của mỗi kênh. Một tiểu đơn vị beta được tạo ra từ một protein KCNE liên kết vào kênh và điều chỉnh hoạt động của nó. Trong tim, kênh kali liên quan đến cơ chế nạp năng lượng cho cơ tim sau mỗi nhịp tim để duy trì nhịp đều đặn. Đột biến p.Ala341Val nằm tại vùng domain S6 của protein KCNQ1 là đột biến hotspot của gen

KCNQ1 đã được báo cáo trên nhiều chủng tộc. Đột biến p.Ala341Val làm mất khả năng phosphoryl hóa của KCNQ1 làm ảnh hưởng đến chức năng cho dòng kali đi ra chậm khi KCNQ1 được hoạt hóa bởi protein kinase A (PKA) và cAMP (1,4) .

Dấu hiệu gợi ý đến LQTS của bệnh nhi là trong thai kì nhịp tim thai chậm bất thường 100-110 l/ph. Dấu hiệp nhịp tim thai chậm đã được báo cáo trong các trường hợp LQTS tuy nhiên các bác sĩ sản khoa khó nhận biết dấu hiệu này để hướng đến tầm soát LQTS trong các trường hợp bệnh nhi không có tiền sử gia đình rõ ràng (2,6). Dù không mới nhưng LQTS vẫn là bệnh lý khó chẩn đoán nếu chỉ dựa vào dấu hiệu lâm sàng nên xét nghiệm giải trình tự gen giúp ích cho chẩn đoán chính xác và theo dõi điều trị người bệnh.

V. KẾT LUẬN

Nhịp tim thai chậm trong thai kỳ có thể là dấu hiệu của LQTS. Điện tâm đồ sau sinh và xét nghiệm di truyền nên được thực hiện ở những trẻ này để loại trừ hoặc xác nhận LQTS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Heijman, J., Spätjens, R. L., Seyen, S. R., Lentink, V., Kuijpers, H. J., Boulet, I. R.,... & Volders, P. G. (2012). Dominant-negative control of cAMP-dependent IKs upregulation in human long-QT syndrome type 1. *Circulation research*, 110(2), 211-219.
2. Mitchell, J. L., Cuneo, B. F., Etheridge, S. P., Horigome, H., Weng, H. Y., & Benson, D. W. (2012). Fetal heart rate predictors of long QT syndrome. *Circulation*, 126(23), 2688-2695.
3. Neira, V., Enriquez, A., Simpson, C., & Baranchuk, A. (2019). Update on long QT syndrome. *Journal of cardiovascular electrophysiology*, 30(12), 3068-3078.
4. Schwartz, P. J., Moreno, C., Kotta, M. C., Pedrazzini, M., Crotti, L., Dagradi, F., ... & Volders, P. G. (2021). Mutation location and IKs regulation in the arrhythmic risk of long QT syndrome type 1: the importance of the KCNQ1 S6 region. *European Heart Journal*, 42(46), 4743-4755.
5. Wallace, E., Howard, L., Liu, M., O'Brien, T., Ward, D., Shen, S., & Prendiville, T. (2019). Long QT syndrome: genetics and future perspective. *Pediatric cardiology*, 40, 1419-1430.
6. Wilders, R., & Verkerk, A. O. (2018). Long QT syndrome and sinus bradycardia—a mini review. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 5, 106.

GIÁ TRỊ CỦA XÉT NGHIỆM TSI VÀ TRAB HUYẾT THANH TRONG CHẨN ĐOÁN BỆNH BASEDOW

Nguyễn Thị Tân¹, Trần Huy Thịnh²,
Phạm Thiện Ngọc³, Lương Quỳnh Hoa¹

TÓM TẮT

TSI (Thyroid Stimulating Immunoglobulin) là xét nghiệm định lượng kháng thể kích thích tuyến giáp TRSAb (TSH Receptor Stimulating Antibody), vì vậy đặc hiệu hơn xét nghiệm TRAB trong chẩn đoán bệnh Basedow, có giá trị chẩn đoán phân biệt giữa bệnh Basedow và một số nguyên nhân khác gây ra hội chứng nhiễm độc giáp (NĐG) trên lâm sàng.

Mục tiêu: Khảo sát giá trị của xét nghiệm TSI và TRAB huyết thanh ở bệnh nhân Basedow và bệnh nhân có hội chứng NĐG do một số nguyên nhân khác.

Đối tượng và phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 178 bệnh nhân có hội chứng NĐG chia làm hai nhóm: 110 bệnh nhân Basedow được chẩn đoán lần đầu và 68 bệnh nhân không phải Basedow mà NĐG do nguyên nhân khác; đến khám và điều trị tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương từ 01/2023– tháng 06/2023.

Kết quả: Ở nhóm Basedow: 97,27% bệnh nhân có kết quả TSI dương tính ($> 0,55$ IU/L); 99,09% bệnh nhân có kết quả TRAB dương tính ($> 1,75$ IU/L). Ở nhóm NĐG do nguyên nhân

khác: 0% bệnh nhân có kết quả TSI dương tính; 97,06% bệnh nhân có kết quả TRAB dương tính. Có mối tương quan thuận giữa TSI và TRAB ($r=0,793$) ở nhóm bệnh nhân Basedow.

Kết luận: TSI có giá trị chẩn đoán đặc hiệu hơn so với xét nghiệm TRAB trong chẩn đoán bệnh Basedow.

Từ khóa: TSI, TRAB, nhiễm độc giáp, Basedow.

SUMMARY

THE VALUES OF SERUM TSI AND TRAB TEST IN THE DIAGNOSIS OF GRAVES' DISEASE

TSI (Thyroid Stimulating Immunoglobulin) is a quantitative assay for thyroid-stimulating antibody (TRSAb: TSH Receptor Stimulating Antibody), so it is more specific than the TRAB assay in the diagnosis of Graves' disease, and it is valuable for distinguishing Graves' disease from some other causes of thyrotoxicosis syndrome in clinical trials.

Objectives: to investigate the values of serum TSI and TRAB levels in Graves' patients and patients with thyrotoxicosis syndrome due to other causes.

Subjects and Methods: A cross-sectional descriptive study on 178 patients with thyrotoxicosis syndrome was divided into two groups: 110 patients with first diagnosed Graves' and 68 patients with non-Graves' (thyrotoxicosis due to other causes); were diagnosed and treated at the National Hospital of Endocrinology from 01/2023 to 06/2023.

¹Bệnh viện Nội tiết Trung ương

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Trường Đại học Phenikaa

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Tân

SĐT: 0346543616

Email: bstan.hsbvnt@gmail.com

Ngày nhận bài: 7.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 8.7.2023

Results: In the Graves' group: 97,27% of patients had positive TSI result ($> 0,55$ IU/L); 99,09% of patients had positive TRAb result ($> 1,75$ IU/L). In the group of patients with thyrotoxicosis due to other causes: 0% of patients had positive TSI result; 97,06% of patients had positive TRAb result ($> 1,75$ IU/L). There was a positive correlation between TSI and TRAb ($r=0,793$) in Graves' patients.

Conclusions: TSI has more specific value than TRAb assay in the diagnosis of Graves' disease.

Keywords: TSI, TRAb, thyrotoxicosis, Graves'.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh Basedow là bệnh lý nội tiết thường gặp ở Việt Nam cũng như trên thế giới. Bệnh được định nghĩa là bệnh tự miễn, có nhiều yếu tố tác động làm thay đổi trình diện tự kháng nguyên lên bề mặt tế bào tuyến giáp, kích thích hệ miễn dịch sản xuất ra tự kháng thể TRAb. TRAb gắn vào thụ thể của TSH tại màng tế bào tuyến giáp, kích thích gây tăng sinh tế bào tuyến giáp, tăng cường hoạt động chức năng của tuyến giáp gây nên các biểu hiện NĐG trên lâm sàng. TRAb là thuật ngữ chung chỉ ba loại tự kháng thể xuất hiện trong bệnh Basedow là: TRSAb kích thích tế bào tuyến giáp, TRBAb ức chế tế bào tuyến giáp và TRNAb không ảnh hưởng. Tác dụng sinh học khác nhau của ba loại tự kháng thể này là do cấu trúc phân tử của chúng có điểm khác nhau nên cách gắn vào thụ thể của TSH tại màng tế bào tuyến giáp khác nhau. Trong bệnh Basedow, tự kháng thể TRSAb được sản xuất nhiều dẫn đến nhiễm độc giáp. Mức độ nặng hay nhẹ của bệnh phụ thuộc vào tỷ lệ giữa TRSAb/TRBAb, tỷ lệ này càng tăng thì biểu hiện NĐG càng nặng và ngược lại. TRAb là xét nghiệm phát hiện cả

3 loại tự kháng thể xuất hiện trong bệnh Basedow, do vậy nên có thể cho kết quả dương tính giả trong một số trường hợp dẫn tới nhầm lẫn trong chẩn đoán. Để khắc phục được nhược điểm này, TSI là xét nghiệm chỉ định lượng kháng thể kích thích tuyến giáp TRSAb, vì vậy đặc hiệu hơn TRAb trong chẩn đoán bệnh Basedow, có giá trị chẩn đoán phân biệt giữa bệnh Basedow với một số bệnh lý tuyến giáp khác có hội chứng NĐG trên lâm sàng. Ở Việt Nam hiện nay còn ít nghiên cứu về giá trị của TSI trong chẩn đoán phân biệt bệnh Basedow với một số nguyên nhân khác gây ra hội chứng NĐG. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: Phân tích giá trị của xét nghiệm TSI so với xét nghiệm TRAb huyết thanh trong chẩn đoán phân biệt bệnh nhân Basedow với bệnh nhân NĐG do các nguyên nhân khác.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và thời gian nghiên cứu

– Đối tượng nghiên cứu: 178 bệnh nhân có hội chứng NĐG chia làm 2 nhóm: 110 bệnh nhân Basedow được chẩn đoán lần đầu và 68 bệnh nhân NĐG do nguyên nhân khác (bướu nhân độc tuyến giáp, viêm tuyến giáp bán cấp giai đoạn nhiễm độc giáp; viêm tuyến giáp tự miễn Hashimoto giai đoạn nhiễm độc giáp...).

– Thời gian nghiên cứu: từ tháng 01/2023 đến tháng 06/2023.

– Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Nội tiết Trung ương

– Tiêu chuẩn lựa chọn:

+ Có hội chứng NĐG trên lâm sàng và xét nghiệm (FT_3 ; FT_4 ; TSH).

+ Nhóm Basedow được chẩn đoán lần đầu dựa vào: hội chứng NĐG, có một trong ba triệu chứng đặc hiệu của bệnh Basedow

(bướu mạch, lồi mắt, phù niêm trước xương chày); xét nghiệm FT₃; FT₄; TSH, siêu âm tuyến giáp và siêu âm Doppler mạch máu tuyến giáp.

+ Nhóm NĐG do các nguyên nhân khác như bướu đơn nhân độc, bướu đa nhân độc, viêm tuyến giáp bán cấp giai đoạn NĐG, viêm tuyến giáp tự miễn Hashimoto giai đoạn NĐG.

+ Có kết quả xét nghiệm TSI và TRAb.

+ Đồng ý tham gia nghiên cứu.

– Tiêu chuẩn loại trừ: Các bệnh nhân có bệnh lý kèm theo như suy thận nặng, viêm gan cấp, suy gan, nhiễm khuẩn nặng, bệnh lý tim mạch nặng. Bệnh nhân đang điều trị thuốc ức chế miễn dịch. Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

– Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

– Thiết kế nghiên cứu: chọn những bệnh nhân có hội chứng NĐG, được khai thác thông tin (tuổi, giới, chiều cao, cân nặng, tiền sử bệnh tuyến giáp), triệu chứng lâm sàng, siêu âm tuyến giáp, siêu âm Dopple mạch máu tuyến giáp, xét nghiệm FT₃, FT₄, TSH, TRAb, TSI. Bệnh nhân được chia làm 2 nhóm: nhóm Basedow và nhóm NĐG do nguyên nhân khác.

– Kỹ thuật thực hiện trong nghiên cứu: các xét nghiệm sử dụng được thực hiện tại Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nội tiết Trung ương. Các xét nghiệm FT₃, FT₄, TSH, TRAb: thực hiện bằng kỹ thuật miễn dịch điện hóa phát quang trên hệ thống máy Cobas E601. Xét nghiệm TSI: thực hiện bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy miễn dịch tự động IMMULITE 2000 XPi. Các xét nghiệm được thực hiện nội kiểm tra chất lượng, kết quả nội kiểm nằm trong giới hạn cho phép trước khi tiến hành chạy mẫu nghiên cứu cho bệnh nhân.

– Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

– Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng đạo đức Bệnh viện Nội tiết Trung ương. Nghiên cứu thu thập thông tin theo mẫu bệnh án và thu thập mẫu máu của bệnh nhân. Việc nghiên cứu không làm tổn hại sức khỏe và điều trị của bệnh nhân. Các thông tin về bệnh nhân hoàn toàn được giữ kín. Kết quả nghiên cứu chỉ nhằm phục vụ học tập, nghiên cứu và công tác chẩn đoán, điều trị, tiên lượng cho bệnh nhân, không dùng cho mục đích nào khác.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm chức năng tuyến giáp

Bảng 1: Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

		Nhóm Basedow (n=110)	Nhóm NĐG do NN khác (n=68)	P
Tuổi trung bình X ± SD		34,35 ± 11,89	45,29 ± 13,84	0,00
Giới (nam/nữ)		10/100	9/59	0,384
Triệu chứng bướu mạch		107 (97,4%)	5 (7,4%)	0,00
Triệu chứng lồi mắt		45 (40,9%)	0 (0%)	0,00
Hội chứng cường giáp	Nhịp tim nhanh	109 (99,1%)	62 (91,2%)	0,01
	Run tay	106 (96,4%)	29 (42,6%)	0,00
	Hội hộp đánh trống ngực	109 (99,1%)	64 (94,1%)	0,07
	Gầy sút	103 (93,6%)	37 (54,4%)	0,00

Nhận xét:

– Nhóm Basedow có độ tuổi trung bình thấp hơn ($p = 0,00$). Tỷ lệ nam/nữ của 2 nhóm có sự khác biệt ($p = 0,384$).

– Bướu mạch, lồi mắt là triệu chứng đặc hiệu của Basedow, tuy nhiên vẫn có một tỷ lệ nhỏ trong nhóm NĐG do nguyên nhân khác có biểu hiện bướu mạch.

Bảng 2: Kết quả xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp

		Nhóm Basedow (n=110)	Nhóm NĐG do NN khác (n=68)	P
TSH (U/mL)	Giá trị trung vị (IQR)	0,03 (0,03 – 0,03)	0,03 (0,03 – 0,03)	0,00
	Thấp nhất – Cao nhất	0,03 – 0,05	0,03 – 0,24	
FT ₃ (pmol/L)	Giá trị trung vị (IQR)	20,5 (11,99 – 35,68)	9,91 (7,42 – 12,60)	0,00
	Thấp nhất – Cao nhất	5,4 – 50,00	4,23 – 50,00	
FT ₄ (pmol/L)	Giá trị trung vị (IQR)	59,59 (34,3 – 87,30)	29,58 (25,39 – 40,00)	0,00
	Thấp nhất – Cao nhất	15,6 – 100,00	15,61 – 98,23	

IQR: Khoảng tứ phân vị

Nhận xét: Giá trị FT₃ và FT₄ của nhóm Basedow cao hơn so với nhóm NĐG do nguyên nhân khác ($p < 0,05$).

3.2. Giá trị xét nghiệm TRAb và TSI trong chẩn đoán phân biệt bệnh Basedow và nhóm NĐG do nguyên nhân khác

Bảng 3: Kết quả xét nghiệm TRAb và TSI

		Nhóm Basedow (n=110)	Nhóm NĐG do NN khác (n=68)	P
TRAb (IU/L)	Giá trị trung vị (IQR)	14,35 (10,67 – 24,67)	3,10 (2,63 – 3,77)	0,00
	Thấp nhất – Cao nhất	1,74 – 40	1,54 – 40	
TSI (IU/L)	Giá trị trung vị (IQR)	7,38 (3,59 – 13,9)	0,1 (0,1 – 0,1)	0,00
	Thấp nhất – Cao nhất	0,1 – 40	0,1 – 0,37	

Nhận xét: Giá trị TSI và TRAb ở nhóm Basedow cao hơn so với nhóm NĐG do nguyên nhân khác ($p < 0,05$).

Bảng 4: Giá trị chẩn đoán của xét nghiệm TRAb và TSI

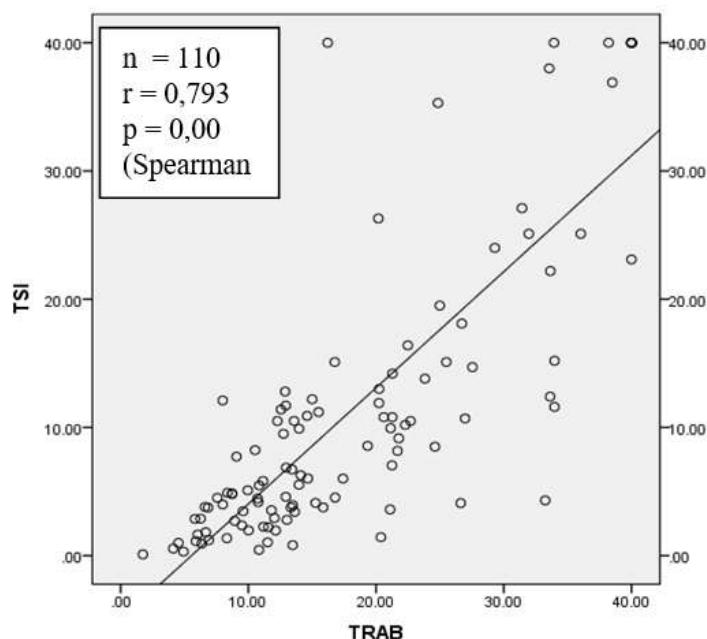
		Nhóm Basedow (n=110)	Nhóm NĐG do NN khác (n=68)	P
TRAb (IU/L)	< 1,75	1 (0,91%)	2 (2,94%)	0,00
	> 1,75	109 (99,09%)	66 (97,06%)	
TSI (IU/L)	< 0,55	3 (2,73%)	68 (100%)	0,00
	> 0,55	107 (97,27%)	0 (0%)	

Nhận xét:

– Ở nhóm Basedow: 97,27% bệnh nhân có kết quả TSI dương tính (> 0,55 IU/L là giá trị ngưỡng chẩn đoán bệnh Basedow); 99,09% bệnh nhân có kết quả TRAb dương

tính (> 1,75 IU/L là giá trị ngưỡng chẩn đoán bệnh Basedow).

– Ở nhóm NĐG do nguyên nhân khác: 0% bệnh nhân có kết quả TSI dương tính; 97,06% bệnh nhân có kết quả TRAb dương tính.



Biểu đồ 1: Mối tương quan giữa xét nghiệm TRAB và TSI của nhóm Basedow

Nhận xét: Ở nhóm Basedow, kết quả xét nghiệm TSI và TRAB có mối tương quan đồng biến chặt chẽ với hệ số tương quan $r = 0,793$.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm đánh giá chức năng tuyến giáp

Bệnh Basedow có thể gặp ở mọi lứa tuổi tuy nhiên hay gặp ở tuổi trẻ và trung niên. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình của nhóm Basedow là $34,35 \pm 11,89$ tuổi; kết quả này tương tự với kết quả của tác giả Bùi Thị Tuyết Mai là $37,75 \pm 12,99$ tuổi [1]. Ở nhóm NĐG do NN khác, độ tuổi trung bình cao hơn so với nhóm Basedow, kết quả này khá tương đồng với kết quả của tác giả Tianqi Liu [8].

Theo y văn tỷ lệ mắc bệnh Basedow ở nữ thường cao hơn ở nam, trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ nam/nữ trong nhóm Basedow

là 1/10; tỷ lệ nữ/nam ở nhóm NĐG do nguyên nhân khác có sự chênh lệch ít hơn.

Các triệu chứng NĐG như nhịp tim nhanh, hồi hộp, run tay, gầy sút... xuất hiện ở hầu hết các bệnh nhân nghiên cứu – kết quả của sự tăng nồng độ của các hormone tuyến giáp lưu hành trong máu của bệnh nhân và không đặc hiệu.

Các triệu chứng đặc hiệu của bệnh Basedow là bướu mạch, lồi mắt và phù niêm trước xương chày; trong đó bướu mạch là triệu chứng thường gặp nhất. Ở nhóm Basedow, bướu mạch gặp ở 97,4%. Ở nhóm NĐG do nguyên nhân khác, có một tỷ lệ nhỏ có bướu mạch (7,4%), thường gặp trong trường hợp các bệnh nhân bị viêm giáp (bướu kích thước nhỏ hơn, tiếng thổi không rõ; số đốm mạch và tốc độ dòng chảy thường chỉ tăng nhẹ trên siêu âm Doppler tuyến giáp).

96,07% (171/178) bệnh nhân có NĐG rõ

(FT₃ tăng, FT₄ tăng, TSH giảm); 3,93% bệnh nhân NĐG dưới lâm sàng (chỉ có TSH giảm). Tuy nhiên mức độ thay đổi nồng độ hormone tuyến giáp cũng có sự khác biệt giữa hai nhóm.

Ở nhóm Basedow, do bệnh nhân chưa được điều trị nên FT₃, FT₄ tăng cao và rất cao; TSH đa số ở dưới ngưỡng phát hiện 0,03. Kết quả FT₄ có giá trị trung vị là 59,59 (IQR 34,3-87,30 (pmol/L)); tương đồng với kết quả của tác giả Cao Văn Khoa trên 41 bệnh nhân Basedow mới phát hiện: FT₄ trung bình $62,6 \pm 31,37$ (pmol/L) [2].

Ở nhóm NĐG, FT₃, FT₄ tăng ít hơn. Các nguyên nhân gây ra hội chứng NĐG không phải Basedow thường gặp là bướu nhân độc tuyến giáp, viêm tuyến giáp bán cấp giai đoạn NĐG, viêm tuyến giáp mạn tính Hashimoto giai đoạn NĐG. Kết quả FT₄ nhóm này thấp hơn so với một số nghiên cứu khác: tác giả Nguyễn Thị Ngọc Hoa nghiên cứu trên 48 bệnh nhân viêm tuyến giáp bán cấp cho kết quả FT₄ trung bình là $34,5 \pm 13,7$ (pmol/L) [6]; tác giả Nguyễn Trọng Thành nghiên cứu trên 39 trẻ em cường giáp do viêm tuyến giáp Hashimoto cho kết quả FT₄ trung bình là $67,59 \pm 18,87$ (pmol/L) [5].

Từ kết quả của bảng 3 có thể thấy kết quả xét nghiệm hormone tuyến giáp của nhóm Basedow cao hơn rõ rệt so với nhóm NĐG do nguyên nhân khác. Tuy nhiên trong nhóm NĐG do nguyên nhân khác có một số trường hợp nồng độ hormone giáp cũng tăng rất cao (FT₃: 50 pmol/L, FT₄: 98,23 pmol/L). Vì vậy, FT₃, FT₄ là xét nghiệm sơ bộ định hướng nguyên nhân gây ra bệnh chứ không đủ căn cứ để chẩn đoán xác định bệnh Basedow.

4.2. Giá trị xét nghiệm TRAb và TSI trong chẩn đoán phân biệt bệnh Basedow và nhóm NĐG do nguyên nhân khác

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả TRAb và TSI của 2 nhóm đối tượng nghiên cứu có sự khác biệt rõ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Ở nhóm Basedow, kết quả TRAb và TSI đều tăng cao. Giá trị trung vị (IQR) của TRAb là 14,35 (10,67 – 24,67) IU/L – cao hơn nhiều lần so với ngưỡng giá trị chẩn đoán bệnh Basedow (1,75 IU/L). Kết quả TRAb này cao hơn so với kết quả của tác giả Trần Hoài Nam: $11,7 \pm 11,1$ IU/L nhưng lại thấp hơn so với tác giả Nguyễn Mạnh Tường: $19,2 \pm 11,7$ IU/L [3] [4].

Theo bảng 4, nhóm Basedow có giá trị TSI là 7,38 (3,59 – 13,9) IU/L – cao hơn nhiều lần so với ngưỡng giá trị chẩn đoán bệnh Basedow (0,55 IU/L). Kết quả TSI này khá tương đồng với kết quả của tác giả Tianqi Liu nghiên cứu 227 bệnh nhân Basedow mới: kết quả TSI là 7,10 (3,13 – 16,65) IU/L [8].

Ở nhóm NĐG do nguyên nhân khác, nồng độ TRAb tăng nhưng tăng ít hơn nhiều lần so với nhóm Basedow, chỉ tăng khoảng 2 lần so với ngưỡng giá trị chẩn đoán bệnh; giá trị trung vị (IQR) là 3,1 (2,63 – 3,77) IU/L, kết quả TRAb này cao hơn so với kết quả của tác giả Yao Hu nghiên cứu 393 bệnh nhân bệnh tuyến giáp khác không phải Basedow cho kết quả TRAb trung bình là $2,6 \pm 4,8$ IU/L [7].

Trong nghiên cứu, 175/178 bệnh nhân có kết quả TRAb > 1,75 IU/L. Trong nhóm Basedow, có 109/110 bệnh nhân dương tính (Giá trị trung vị (IQR): 14,35 (10,67 – 24,67)

IU/L)), điều này cho thấy TRAb là một xét nghiệm có độ nhạy cao cho chẩn đoán bệnh Basedow. Tuy nhiên, ở nhóm NĐG do nguyên nhân khác vẫn có đến 97,06% bệnh nhân có TRAb > 1,75 IU/L tuy nồng độ TRAb (Giá trị trung vị (IQR): 3,10 (2,63 – 3,77) IU/L) tăng ít hơn so với nhóm Basedow.

Xét nghiệm TRAb thực tế đang sử dụng tại Việt Nam được xét nghiệm bằng phương pháp xét nghiệm phát hiện TRAb trong huyết thanh của bệnh nhân bằng khả năng cạnh tranh gắn kết TSH receptor với phối tử TSH receptor đã biết (TSH hoặc kháng thể đơn dòng chống TSH Receptor)), các xét nghiệm này không thể phân biệt TRAb kích thích hay không kích thích (ức chế hay trung tính). Vì vậy, trong một số trường hợp độ đặc hiệu của TRAb bị hạn chế, dẫn đến kết quả dương tính giả.

Trong nhóm NĐG do nguyên nhân khác, phần lớn bệnh nhân đều có kết quả TRAb tăng nhưng có thể không tăng thật sự thành phần TRAb có tác dụng kích thích thụ thể TSH tuyến giáp TRSAbs, do vậy xét nghiệm TRAb dương tính (với ngưỡng 1,75 IU/L) chưa đủ để chẩn đoán mắc Basedow. Từ điều này có thể thấy giá trị ngưỡng để chẩn đoán Basedow của xét nghiệm TRAb là 1,75 IU/L do nhà cung cấp hóa chất xét nghiệm công bố chưa phù hợp với quần thể bệnh nhân Việt Nam. Như vậy, nếu sử dụng xét nghiệm TRAb với ngưỡng chẩn đoán 1,75 IU/L để chẩn đoán bệnh Basedow có thể dẫn tới chẩn đoán không chính xác ở một số trường hợp.

Bàn luận đến kết quả TSI, số liệu của Bảng 4 cho thấy sự tăng nồng độ TSI ở hai nhóm nghiên cứu có sự khác biệt rõ rệt so

với sự tăng nồng độ TRAb: ở nhóm Basedow có 97,27% bệnh nhân có TSI dương tính trong khi ở nhóm bệnh nhân NĐG do nguyên nhân khác không có bệnh nhân nào có TSI dương tính. Kết quả này cho thấy TSI có giá trị đặc hiệu cao để loại trừ chẩn đoán bệnh Basedow trên những trường hợp bệnh nhân có hội chứng NĐG.

Tác giả Tianqi Liu và CS nghiên cứu trên nhóm đối tượng tương tự đưa ra kết quả: tỷ lệ dương tính của TSI và TRAb ở bệnh nhân Basedow mới khởi phát lần lượt là 96,92% và 95,15%. Trong số 8 trường hợp Basedow mới được chẩn đoán có kết quả kháng thể định tính không phù hợp, TSI có nhiều khả năng phù hợp với chẩn đoán lâm sàng của bệnh Basedow hơn (6 bệnh nhân dương tính với TSI so với 2 bệnh nhân dương tính với TRAb) [8].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ở nhóm Basedow, xét nghiệm TSI và TRAb có mối tương quan thuận chặt chẽ với nhau với hệ số tương quan $r = 0,793$; kết quả này khá tương đồng với kết quả của tác giả Tianqi Liu và CS [8].

V. KẾT LUẬN

TSI có giá trị chẩn đoán đặc hiệu hơn so với xét nghiệm TRAb trong chẩn đoán bệnh Basedow.

Xét nghiệm TRAb là một xét nghiệm có giá trị trong chẩn đoán bệnh Basedow trên đối tượng người trưởng thành với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Tuy nhiên, trong một số trường hợp bệnh nhân có hội chứng NĐG do những nguyên nhân khác như bướu nhân độc tuyến giáp, viêm tuyến giáp bán cấp, viêm tuyến giáp Hashimoto... kết quả xét nghiệm

TRAb có thể tăng nhẹ nên cần xem xét lại ngưỡng giá trị chẩn đoán cho bệnh nhân trước khi chẩn đoán mắc Basedow, tránh những giá trị dương tính giả gây ra nhầm lẫn trong chẩn đoán và điều trị bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Thị Tuyết Mai** (2020), Nghiên cứu tình trạng tăng enzyme gan ở bệnh nhân Basedow chưa được điều trị, Luận văn Bác sĩ chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội.
2. **Cao Văn Khoa** (2018), Nghiên cứu chỉ số TRAb huyết thanh trong theo dõi điều trị Basedow bằng Thiamazole, Luận văn chuyên khoa cấp II, Trường Đại học Y Hà Nội.
3. **Đào Văn Tùng, Nguyễn Quang Tập và Trần Hoài Nam** (2018), Xác định nồng độ TRAb và mối liên quan với TSH, FT3, FT4 ở bệnh nhân Basedow tại Bệnh viện Hữu Nghị Việt Tiệp, Tạp chí Y học Việt Nam, (470), 88-93.
4. **Nguyễn Mạnh Tường và Vũ Bích Nga** (2022), Khảo sát nồng độ NT-PROBNP huyết thanh ở bệnh nhân Basedow mới chẩn đoán tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Tạp chí Y Học Việt Nam, 520(1A),183-188.
5. **Nguyễn Trọng Thành và Vũ Chí Dũng** (2021), Cường giáp do viêm tuyến giáp Hashimoto ở trẻ em, Tạp chí Nghiên cứu Y học, Trường Đại học Y Hà Nội, 140(4),26-31.
6. **Nguyễn Thị Ngọc Hoa và Lê Quang Toàn** (2022), Kết quả điều trị viêm tuyến giáp bán cấp tại Bệnh viện Nội tiết Trung ương, Vietnam J Diabetes Endocrinol, (52), 72–80.
7. **Hu Y., Ni J., Cen Y. et al.** (2021). Evaluation of analytic and clinical performance of two immunoassays for detecting thyroid-stimulating receptor antibody in the diagnosis of Graves' disease. J Clin Lab Anal, 35(12).
8. **Liu T., Zhang X., Long L. et al.** (2022). Clinical evaluation of an automated TSI bridge immunoassay in the diagnosis of Graves' disease and its relationship to the degree of hyperthyroidism. BMC Endocr Disord, 22(1), 218.

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ HÓA SINH CỦA BỆNH NHÂN UNG THƯ TUYẾN GIÁP SAU PHẪU THUẬT SỬ DỤNG DAO LIGASURE TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Lê Thị Hương Lan¹, Nguyễn Công Hoàng², Nguyễn Thị Ngọc Anh²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả đặc điểm lâm sàng, Hóa Sinh máu ở bệnh nhân UTTG sau phẫu thuật sử dụng dao Ligasure. **Đối tượng:** 80 bệnh nhân ung thư tuyến giáp được điều trị phẫu thuật sử dụng dao Ligasure tại Bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên từ tháng 09 năm 2022 đến tháng 03 năm 2023. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang. **Kết quả:** Tuổi trung bình $48,33 \pm 12,67$ tuổi, thấp nhất 17 tuổi, cao nhất 75 tuổi. Tỷ lệ giới: nữ (87,5%), nam (12,5%), tỷ lệ nữ/nam = 7/1. 93,7% ung thư tuyến giáp thể nhú. 32,5% có triệu chứng hạ canxi trên lâm sàng. Khàn giọng và nuốt đau là hai triệu chứng thường gặp trong 24 giờ đầu sau phẫu thuật ung thư tuyến giáp. 56,3% bệnh nhân ung thư tuyến giáp sau phẫu thuật có nồng độ 25(OH)D3 thấp. Tỷ lệ hạ canxi huyết thanh sau phẫu thuật tuyến giáp là 32,5%; trong đó có 11,3% được chẩn đoán suy tuyến cận giáp.

Kết luận: Các thông số Hóa sinh cần quan tâm ở bệnh nhân ung thư tuyến giáp sau phẫu thuật là nồng độ canxi huyết thanh, 25(OH)D3 và

PTH, đặc biệt ở nhóm phẫu thuật cắt toàn bộ tuyến giáp.

Từ khóa: Ung thư tuyến giáp, phẫu thuật, đặc điểm Hóa sinh, Bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên, dao Ligasure.

SUMMARY

CLINICAL AND BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF PATIENTS AFTER THYROIDECTOMY USING LIGASURE AT THAI NGUYEN GENERAL HOSPITAL

To describe the clinical and biological characteristics of patients after thyroidectomy using the Ligasure. **Subjects:** 80 thyroid cancer patients who were treated using the Ligasure at Thai Nguyen General Hospital from September 2022 to March 2023. **Methods:** Descriptive study **Results:** The mean age was 48.33 ± 12.67 years, the youngest was 17 years old, and the oldest was 75 years. Gender ratio: female (87.5%), male (12.5%), female/male ratio = 7/1. 93.7% papillary thyroid cancer 32.5% have clinical symptoms of hypocalcemia. Hoarseness and painful swallowing are two fairly common symptoms in the first 24 hours after thyroid cancer surgery. 56.3% of thyroid cancer patients after surgery had a lower 25(OH)D3. The rate of hypocalcemia after thyroid surgery was 32.5%, of which 11.3% were diagnosed with hypoparathyroidism. **Conclusion:** Biochemical parameters that need attention in patients with thyroid cancer after surgery are serum calcium,

¹Bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên

²Bộ môn Tai mũi họng - Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm : Lê Thị Lan Hương

SĐT: 0982090308

Email: lanhuong.bvtutn@gmail.com

Ngày nhận bài: 29.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Nghiêm Luật

Ngày duyệt bài: 2.7.2023

25(OH)D3, and PTH, especially in the total thyroidectomy group.

Keywords: Thyroid cancer, thyroidectomy, biochemical characteristic, Ligasure.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư tuyến giáp (UTTG) là ung thư phổ biến nhất vùng đầu cổ và có xu hướng ngày càng gia tăng. Theo GLOBOCAN năm 2020, UTTG xếp thứ 9 trong các bệnh ung thư phổ biến, 586.202 ca mới mắc hàng năm với 48.143 ca tử vong. Triệu chứng của UTTG thường nghèo nàn trong giai đoạn đầu, ở giai đoạn muộn hoặc khối u xâm lấn có thể xuất hiện triệu chứng như: chèn ép, xâm lấn dây thần kinh quặt ngược gây nói khàn. Phẫu thuật là phương pháp điều trị hàng đầu trong UTTG. Sau phẫu thuật suy tuyến cận giáp tạm thời hay vĩnh viễn là một trong các biến chứng hay gặp ở bệnh nhân sau phẫu thuật UTTG là suy giảm chức năng tuyến giáp, hạ canxi máu. Tỷ lệ suy tuyến cận giáp vĩnh viễn sau khi cắt tuyến giáp toàn bộ từ 0,7 - 2% tùy nhiên theo một số tác giả thì hạ canxi máu thoáng qua là triệu chứng xảy ra ở hầu hết bệnh nhân phẫu thuật UTTG.

Tại Bệnh viện Trung Ương Thái Nguyên (BVTƯTN) phẫu thuật UTTG được tiến hành thường quy với sự hỗ trợ của dao Ligasure. Tuy nhiên sau phẫu thuật việc đánh giá tình trạng suy tuyến cận giáp cũng như các đặc điểm lâm sàng trên bệnh nhân phẫu thuật UTTG chưa có nghiên cứu đánh giá cụ thể và chi tiết. Vì vậy chúng tôi nghiên cứu đề tài với mục tiêu: “*Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân UTTG sau phẫu thuật sử dụng dao Ligasure*”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

- Đối tượng: 80 bệnh nhân UTTG được phẫu thuật tại BVTƯTN sử dụng dao Ligasure.

* Tiêu chuẩn chọn

+ Các BN được chẩn đoán xác định là UTTG nguyên phát: dựa vào lâm sàng, cận lâm sàng và mô bệnh học, vào điều trị tại BVTƯTN.

+ Có hồ sơ lưu trữ đầy đủ: mô tả rõ triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng, mô bệnh học, được điều trị phẫu thuật và có biên bản ghi rõ cách thức phẫu thuật.

+ Được phẫu thuật tại BVTWTN sử dụng dao Ligasure.

+ Được điều trị sau phẫu thuật và tái khám định kỳ tại BVTƯTN.

+ Được tái khám tại thời điểm nghiên cứu và thực hiện các xét nghiệm cận lâm sàng (siêu âm, xét nghiệm máu).

+ Không bị bệnh ung thư ở các cơ quan, bộ phận khác kèm theo.

+ BN và gia đình đồng ý tham gia nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn loại trừ:

+ BN không đáp ứng một trong các tiêu chuẩn trên.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

- **Thời gian và địa điểm nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện tại khoa Tai mũi họng và Trung tâm Ung bướu - BVTƯTN từ tháng 09 năm 2022 đến tháng 03 năm 2023

- Cỡ mẫu và chọn mẫu

Cỡ mẫu: được tính theo công thức ước tính một tỷ lệ trong quần thể:

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

n: là cỡ mẫu nghiên cứu.

p: tỷ lệ bệnh nhân ung thư tuyến giáp bị hạ canxi máu sau phẫu thuật cắt tuyến giáp lấy từ nghiên cứu trước là 40% [3].

Δ : là độ chính xác tuyệt đối của nghiên cứu, lấy = 0,1.

α : mức ý nghĩa thống kê, lấy $\alpha = 0,05$. Khi đó, $Z(1-\alpha/2) = 1,96$.

Cỡ mẫu tối thiểu được tính theo công thức cho kết quả là 61,4.

Chọn mẫu: chọn mẫu ngẫu nhiên các bệnh nhân UTTG điều trị tại khoa Tai mũi họng và Trung tâm Ung bướu - BVTƯTN trong thời gian tiến hành nghiên cứu.

Chỉ số, biến số nghiên cứu

Thông tin chung và đặc điểm lâm sàng: tuổi, giới, tiền sử gia đình, tiền sử bản thân. Thời gian phát hiện bệnh đến nay. Lý do vào viện, chẩn đoán giải phẫu bệnh (thể nhú, thể nang, thể không biệt hóa); chẩn đoán giai đoạn ung thư; phương pháp phẫu thuật.

Đặc điểm cận lâm sàng: canxi huyết thanh, canxi ion, PTH, albumin, phospho máu trong vòng 24 giờ đầu sau phẫu thuật. Hạ canxi huyết thanh được chẩn đoán khi dưới 2,1 mmol/L. Chẩn đoán suy tuyến cận giáp khi nồng độ PTH dưới 14 pg/mL (<1,5 pmol/L) và nồng độ canxi huyết thanh dưới 8,5 mg/dL (< 2,1 mmol/L) [1, 3].

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thu thập phân tích bằng phần mềm SPSS 22.0. So sánh tỷ lệ hai nhóm bằng kiểm định χ^2 khi tần số mong đợi của mỗi ô trên 5 và dùng kiểm định fisher's exact test khi tần số mong đợi.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Các đối tượng tham gia nghiên cứu một cách tự nguyện. Các thông tin được giữ bí mật và chỉ được sử dụng với mục đích nghiên cứu, đem lại lợi ích cho bệnh nhân.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm ở đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung đối tượng nghiên cứu (n = 80)

Đặc điểm chung		Tần số (n)	Tỷ lệ %
Tuổi	18 - 39 tuổi	35	43,8
	40 - 59 tuổi	30	37,5
	≥ 60 tuổi	15	18,7
Giới	Nam	10	12,5
	Nữ	70	87,5
Phân loại UT	Ung thư tuyến giáp biệt hóa thể nhú	75	93,7
	Ung thư tuyến giáp biệt hóa thể nang	5	6,3
	Ung thư tuyến giáp thể không biệt hóa	0	0
Phương pháp PT	PT toàn bộ tuyến giáp	74	92,5
	PT thùy trái tuyến giáp	6	7,5

Độ tuổi trung bình là $48,33 \pm 12,67$ tuổi; 43,8% dưới 40; tỷ lệ trên 60 tuổi là 18,7%. Về giới, phần lớn đối tượng ung thư tuyến giáp là nữ giới với tỷ lệ 87,5%.

Đa số BN là UTTG thể nhú với 93,7%; chỉ có 6,3% là UTTG thể nang. Có 92,5% phẫu thuật cắt toàn bộ tuyến giáp, 7,5% là phẫu thuật 1 thùy.

Bảng 2. Các triệu chứng lâm sàng gặp phải trong 24 giờ sau phẫu thuật cắt tuyến giáp của bệnh nhân UTTG

Đặc điểm	Tần số (Tỷ lệ %)		p-value
	Cắt tuyến giáp toàn bộ (n=74)	Phẫu thuật cắt thùy tuyến giáp (n=6)	
Tụ máu vết mổ	1 (1,3)	0 (0)	0,04**
Khàn giọng	6 (7,5)	2 (2,5)	0,3**
Nuốt đau	16 (20)	5 (6,3)	0,03*
Có triệu chứng hạ canxi trên lâm sàng sau phẫu thuật (%)	21 (26,3)	5 (6,3)	0,03*

*chi - squared test, **Fisher' exact test.

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy triệu chứng nuốt đau sau phẫu thuật gặp với tỷ lệ nhiều nhất đối với nhóm cắt tuyến giáp toàn bộ là 20%, với nhóm cắt thùy là 6,3%; Kết quả này cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm cắt 1 thùy tuyến giáp với $p < 0,05$. Triệu chứng khàn giọng với tỉ lệ lần lượt tại 2 nhóm là 7,5 % và 2,5%. Ngoài ra, tụ máu

gặp ở 1 BN trong nhóm phẫu thuật cắt tuyến giáp toàn bộ. Về triệu chứng hạ canxi trên lâm sàng, có 26,3% gặp ở nhóm cắt toàn bộ tuyến giáp; 6,3% ở nhóm cắt thùy, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.2. Đặc điểm một số chỉ số hóa sinh và mối liên quan ở bệnh nhân phẫu thuật cắt tuyến giáp bằng dao Ligasure

Bảng 3. Mối liên quan giữa xét nghiệm Hóa sinh sau phẫu thuật và phương pháp phẫu thuật cắt tuyến giáp

Các xét nghiệm Hóa sinh	PT một thùy tuyến giáp (TB \pm SD)	PT toàn bộ tuyến giáp (TB \pm SD)	p
TSH (μ IU/mL)	1,3 \pm 0,7	1,5 \pm 0,8	0,6 ^b
PTH (pmol/L)	3,01 \pm 0,56	1,63 \pm 0,56	0,000 ^a
25(OH)D3 (ng/mL)	25,7 \pm 10,3	23,5 \pm 3,75	0,35 ^b
Phospho máu (mmol/L)	1,13 \pm 0,08	1,25 \pm 0,2	0,56 ^a
Canxi huyết thanh (mmol/L)	2,1 \pm 0,06	2,06 \pm 0,17	0,000 ^b
Canxi ion (mmol/L)	1,18 \pm 0,04	1,15 \pm 0,08	0,000 ^a

aT-test, bMann-Whitney test

Kết quả ở Bảng 3 cho thấy nồng độ PTH, canxi huyết thanh và canxi ion hóa ở nhóm phẫu thuật toàn bộ tuyến giáp thấp hơn so với nhóm phẫu thuật 1 thùy có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Các chỉ số khác như TSH, Phospho máu không có sự khác biệt và đều ở ngưỡng bình thường. Nồng độ 25(OH)D3 trung bình ở 2 nhóm không khác biệt nhưng đều ở ngưỡng thấp.

Bảng 4. Mối liên quan giữa phương pháp phẫu thuật tuyến giáp và một số đặc điểm Hóa sinh máu của bệnh nhân

Các đặc điểm	PT tuyến giáp toàn bộ (n = 74)	PT 1 thùy tuyến giáp (n = 6)	Chung (n=80)	P
Hạ canxi huyết thanh (%)	21 (26,3)	5 (6,3)	26 (32,5)	0,000*
Hạ 25(OH)D3 (%)	35 (43,8)	10 (12,5)	45 (56,3)	0,045**
Suy tuyến cận giáp (%)	8 (10)	1 (1,25)	9 (11,3)	0,000**

Kết quả ở Bảng 4 cho thấy nhóm phẫu thuật cắt toàn bộ tuyến giáp có tỷ lệ hạ canxi huyết thanh, 25(OH)D3, suy tuyến cận giáp cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm phẫu thuật 1 thùy ($p < 0,05$). Nghiên cứu cho thấy chỉ có mối tương quan trung bình có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ 25(OH)D3 và nồng độ canxi huyết thanh sau phẫu thuật với $r = 0,46$, $p < 0,05$.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung của UTTG

Kết quả tại bảng 1 cho thấy UTTG gặp phần lớn ở nữ giới với tỷ lệ 87,5% và tỷ lệ nữ/nam = 7/1. Tỷ lệ nữ/nam trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả của Trần Minh Khởi là 7/1 và cao hơn tác giả Mai Thế Vương là 5/1 [2, 4].

Tuổi trung bình $48,33 \pm 12,67$ tuổi thấp nhất 17 tuổi, cao nhất 75 tuổi. Không có BN nào dưới 15 tuổi. Kết quả này cũng tương tự như kết quả của các tác giả Mai Thế Vương [3]. Tuổi là một trong những yếu tố tiên lượng với bệnh, những BN trên 45 tuổi hoặc dưới 15 tuổi có tiên lượng xấu hơn so với nhóm BN còn lại

Đa số bệnh nhân trong nghiên cứu là ung thư thể nhú chiếm 93,7%, thể nang chiếm 6,3% và không có bệnh nhân nào UTTG thể không biệt hóa hoặc thể tủy. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước, cùng đồng ý với kết luận UTTG hay gặp nhất là thể nhú sau đó là thể nang, thể tủy và thể không biệt

hóa hiếm gặp [5].

4.2. Đặc điểm lâm sàng sau phẫu thuật ung thư tuyến giáp

Kết quả qua bảng 2 cho thấy hạ canxi huyết thanh là một biến chứng thường gặp sau phẫu thuật tuyến giáp. Nó thường xảy ra trong những ngày đầu tiên sau phẫu thuật và nó có thể có triệu chứng hoặc không có triệu chứng trên lâm sàng. Nghiên cứu cho thấy có 26,3% bệnh nhân có triệu chứng hạ canxi trên lâm sàng trong 24 giờ đầu sau phẫu thuật ở nhóm phẫu thuật cắt toàn bộ tuyến giáp và tỷ lệ này thấp hơn ở nhóm cắt một thùy với 6,3% với $p < 0,05$. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Xuân Hậu, nguyên nhân có thể do nghiên cứu của chúng tôi bệnh nhân được bổ sung canxi và vitamin D giúp giảm các triệu chứng hạ canxi trên lâm sàng [3].

Ngoài triệu chứng hạ canxi máu trên lâm sàng, triệu chứng nuốt đau sau phẫu thuật gặp với tỷ lệ đối với nhóm PT cắt tuyến giáp toàn bộ chiếm 20%, với nhóm cắt thùy là 6,3%, sự khác biệt giữa 2 nhóm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Triệu chứng khàn giọng với tỉ lệ lần lượt ở 2 nhóm là 7,5% và 6,3%. Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn đáng kể so với nghiên cứu của tác giả Nguyễn Xuân Hậu do trong nghiên cứu 100% BN sử dụng dao Ligasure trong phẫu thuật, Kết quả của chúng tôi tương tự như của Mai Thế Vương (2019) cho thấy các yếu tố như cắt tuyến giáp toàn bộ so với cắt thùy và eo ($p = 0,042$), kèm theo vết hạch cổ

($p = 0,044$) làm gia tăng tỷ lệ khản tiếng một cách rõ rệt và có ý nghĩa thống kê [4, 6].

4.3. Đặc điểm một số chỉ số Hóa sinh máu sau phẫu thuật UTTG

Khi đánh giá mối liên quan xét nghiệm Hóa Sinh sau phẫu thuật và phương pháp phẫu thuật, kết quả tại bảng 3 và bảng 4 cho kết quả tỷ lệ hạ canxi huyết thanh ở cả nhóm phẫu thuật cắt tuyến giáp toàn bộ cao hơn so với nhóm cắt 1 thùy với tỷ lệ lần lượt là 26,3% và 6,3%. Kết quả này tương tự Gupta S và cộng sự năm 2015 cũng cho thấy có sự khác biệt giữa nhóm phẫu thuật cắt toàn bộ tuyến giáp và cắt một thùy tuyến giáp về nồng độ canxi sau phẫu thuật (38,8% ở nhóm cắt toàn bộ so với 13,8% ở nhóm cắt 1 thùy, $p < 0,001$). Theo Trahan J và cộng sự (2018) tỷ lệ hạ canxi huyết thanh sau phẫu thuật là 15,7% với nồng độ canxi huyết thanh trung bình là $7,66 \pm 0,5$ mg/dL so với $8,96 \pm 0,5$ mg/dL ở nhóm khỏe mạnh [6, 7].

Trong nghiên cứu đánh giá tỷ lệ hạ 25(OH)D3 là 43,8% ở nhóm phẫu thuật cắt tuyến giáp toàn bộ và 12,5% ở nhóm phẫu thuật cắt 1 thùy tuyến giáp thấp hơn tác giả Vũ Ngọc Hà. Như vậy, có thể thấy tỷ lệ hạ vitamin D sau phẫu thuật cắt tuyến giáp là rất phổ biến. Hầu hết các nghiên cứu báo cáo mức vitamin D thấp hơn đáng kể ở bệnh nhân ung thư tuyến giáp so với đối tượng bị các bệnh tuyến giáp lành tính. Một phân tích tổng hợp gần đây trong số 14 nghiên cứu bệnh chứng đã cho thấy nồng độ 25(OH)D3 trong huyết thanh thấp hơn ở những bệnh nhân UTTG trước phẫu thuật so với nhóm đối chứng. Thiếu vitamin D tăng nguy cơ ung thư tuyến giáp lên 30% so với những người không thiếu với OR = 1,3 (95%CI: 1,001 - 1,69). Ngoài ra, nghiên cứu cũng tìm thấy mối tương quan giữa nồng độ Canxi huyết thanh sau phẫu thuật ở nhóm cắt toàn

bộ tuyến giáp với nồng độ 25(OH)D3. Kết quả tương tự như nghiên cứu của Sammel J. Rubin, 25(OH)D3 là một yếu tố dự báo có ý nghĩa về hạ calci huyết sau phẫu thuật cắt bỏ tuyến giáp [1, 8].

Trong 80 BN tỷ lệ suy tuyến cận giáp thấp là 11,3% trong đó chủ yếu nhóm cắt tuyến giáp toàn bộ chiếm 10%. Tỷ lệ thấp hơn Nguyễn Xuân Hậu là 15,4%, Trần Hữu Hiệu là 16,7% [3]. Nguyên nhân có thể do nghiên cứu chúng tôi được phẫu thuật sử dụng dao Ligasure do đó làm giảm đáng kể tác dụng nhiệt đặc biệt trong thi bóc tách bảo tồn tuyến cận giáp, bảo đảm mạch nuôi của tuyến. Suy tuyến cận giáp là biến chứng phổ biến nhất sau phẫu thuật tuyến giáp. Theo các báo cáo tỷ lệ trung bình của suy tuyến cận giáp tạm thời và vĩnh viễn sau phẫu thuật tuyến cận giáp dao động từ 19 - 38% và 0% - 3%. Suy tuyến cận giáp biểu hiện qua tình trạng hạ canxi máu, là một trong những biến chứng cần quan tâm trong hậu phẫu cũng như quá trình tái khám của BN. Sau phẫu thuật cắt giáp, hạ canxi máu thoáng qua có thể giải thích do thao tác phẫu thuật viên trên tuyến giáp và tuyến cận giáp. Tuyến cận giáp bị thương tổn có thể do chấn thương trực tiếp, do tổn thương mạch máu nuôi, hay do bị mất nhiệt trong quá trình phẫu thuật. Kết quả cuối cùng là thiếu máu nuôi tuyến cận giáp, do đó làm giảm tiết PTH. Các thương tổn này có thể phục hồi và tình trạng hạ canxi máu chỉ là thoáng qua. Các báo cáo cũng cho thấy hạ canxi huyết thanh có thể xảy ra độc lập với giảm PTH, nhưng khi giảm PTH thì luôn luôn xảy ra tình trạng hạ canxi máu, mặc dù thời gian có thể trễ từ vài giờ đến vài ngày. Đồng thời, kể cả khi không bị tổn thương tuyến cận giáp thì vẫn có khoảng 5% bệnh nhân có triệu chứng hạ canxi máu và có thể kéo dài đến 6 tháng.

Như vậy, vấn đề suy tuyến cận giáp, hạ canxi huyết thanh và 25(OH)D3 là các vấn đề cận lâm sàng cần được quan tâm ở bệnh nhân phẫu thuật ung thư tuyến giáp [5].

V. KẾT LUẬN

Đa số là ung thư thể nhú (93,7%). Sau phẫu thuật 24h, triệu chứng thường gặp là khàn giọng và nuốt đau. Có 32,6% BN có triệu chứng hạ canxi trên lâm sàng.

Các chỉ số Hóa sinh cần quan tâm chỉ định theo dõi và bổ sung trong quá trình điều trị ở bệnh nhân UTTG sau phẫu thuật là: Nồng độ PTH và Canxi TP huyết thanh, canxi ion hóa giảm rõ rệt sau phẫu thuật UTTG đặc biệt là phẫu thuật tuyến giáp toàn bộ với $p < 0.001$, Nồng độ 25(OH)D3 có giảm tuy nhiên chưa có ý nghĩa thống kê.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị một số bệnh ung bướu.** Ban hành theo Quyết định số 1514/QĐ-BYT ngày 01 tháng 04 năm 2020 của Bộ trưởng Bộ Y tế. Nhà xuất Bản Y học 2020: 217- 224.
2. **Trần Minh Khởi, Huỳnh Thảo Luật, Phạm Tuấn Khải.** Nghiên cứu các biến chứng phẫu thuật cắt trọn ung thư tuyến giáp - nạo hạch cổ trên bệnh nhân ung thư biểu mô tuyến giáp dạng nhú tại Bệnh viện Ung bướu Cần Thơ. Tạp chí ung thư học Việt Nam 2018; 4: 29-33.
3. **Nguyễn Xuân Hậu.** Kết quả phẫu thuật ung thư tuyến giáp thể nang. Tạp chí Nghiên cứu Y học 2021; 143(7): 53-59.
4. **Mai Thế Vương, Lê Văn Quảng, Ngô Quốc Duy.** Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị phẫu thuật vi ung thư tuyến giáp thể nhú tại Bệnh viện K. Tạp chí Y học Việt Nam 2019; 2(481): 189-194.
5. **Zhang D, Zhang J, Dionigi G, et al.** Recurrent Laryngeal Nerve Morbidity: Lessons from Endoscopic via Bilateral Areola and Open Thyroidectomy Technique. World J Surg 2019 Nov; 43(11): 2829-2841.
6. **Gupta S, Chaudhary P, Durga CK, et al.** Validation of intra-operative parathyroid hormone and its decline as early predictors of hypoparathyroidism after total thyroidectomy: A prospective cohort study. Int J Surg 2015 Jun; 18: 150-153.
7. **Jason Trahan, Laura Pelaez, Michael DiLeo, et al.** Retro-Auricular Thyroidectomy: An Open Approach. Indian J Otolaryngol Head Neck Surg 2018 Jun; 70(2): 218-222.
8. **Papaleontiou M, Hughes DT, Guo C, et al.** Population-Based Assessment of Complications Following Surgery for Thyroid Cancer. J Clin Endocrinol Metab 2017 Jul 1; 102(7): 2543-2551.

HIỆU QUẢ BỔ SUNG THỰC PHẨM TỪ TRƯỚC VÀ TRONG KHI CÓ THAI ĐẾN NỒNG ĐỘ HEPICIDIN VÀ TÌNH TRẠNG SẮT CỦA PHỤ NỮ TẠI HUYỆN CẨM KHÊ TỈNH PHÚ THỌ

Nguyễn Thị Diệp Anh¹, Hoàng Thu Nga¹,
Lê Bạch Mai¹, Phạm Thiện Ngọc²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả bổ sung thực phẩm cho phụ nữ từ trước và trong khi mang thai đến nồng độ hepcidin và tình trạng sắt. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu can thiệp có đối chứng. 60 phụ nữ 18-30 tuổi chưa từng mang thai sống tại Cẩm Khê, Phú Thọ được phân ngẫu nhiên vào 2 nhóm; Nhóm can thiệp được bổ sung thực phẩm giàu sắt, kẽm, vitamin A, vitamin B₁₂ và folate sẵn có tại địa phương 5 ngày/tuần từ trước khi mang thai đến khi sinh con; nhóm chứng: không bổ sung thực phẩm. Hiệu quả can thiệp được đánh giá bằng các chỉ số: Hepcidin, Transferrin receptor, Sắt, Ferritin, Body Iron (BI). Nhiễm trùng được đánh giá bằng các chỉ số: C-Reactive Protein và Alpha 1-Acid Glycoprotein. **Kết quả:** Tại thời điểm thai 32 tuần, nồng độ hepcidin và nồng độ sắt trong cơ thể (BI) ở nhóm can thiệp là 5,2 ng/ml; 4,1 mg/kg cao hơn có YNTK so với nhóm chứng (1,8 ng/ml; -3,2 mg/kg). Tỷ lệ thiếu sắt tạo hồng cầu và thiếu sắt trong mô cơ thể của nhóm can thiệp là 20,6% và 10,3% thấp hơn có YNTK so với các tỷ lệ này ở nhóm chứng tương ứng 72,4%

và 62,0%. **Kết luận:** Bổ sung thực phẩm tự nhiên từ trước khi mang thai cho tới khi sinh đã cải thiện tình trạng dinh dưỡng sắt ở phụ nữ trong thai kỳ.

Từ khóa: Bổ sung thực phẩm, hepcidin, body iron, ferritin, transferrin-receptor, thiếu sắt, phụ nữ có thai, Phú Thọ.

SUMMARY

EFFECT OF FOOD SUPPLEMENTATION PRIOR TO AND DURING PREGNANCY ON HEPICIDIN CONCENTRATION AND NUTRITIONAL IRON STATUS FOR WOMEN IN CAM KHE DISTRICT, PHU THO PROVINCE

Objective: To evaluate the improvement of iron status of the food supplementation prior to and during pregnancy for women living in Cam Khe district, Phu Tho province. **Subjects and Methods:** Randomized controlled study. 60 women who have not been pregnant of 18-30 years old living in Cam Khe, Phu Tho were randomly assigned into two groups; Intervention group: were supplemented with foods rich in iron, zinc, vitamin A, vitamin B₁₂ and folate available locally for 5 days per week from prenatal to postnatal; Control group: do not have food supplementation. The efficacy of the intervention was evaluated by the following indicators: Hepcidin, Transferrin receptor, Ferritin, Body Iron (BI). Infections are evaluated by the following indexes: C-Reactive Protein and

¹Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia

²Đại học Penika

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Diệp Anh
SĐT: 0982137022

Email: diepanhnin@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

Alpha 1-Acid Glycoprotein. **Results:** At the gestation of 32 weeks, the hepcidin concentration and the body iron concentration in the intervention group were 5.2 ng/ml and 4.1 mg/kg, respectively, which were higher (statistically significant) than that of the control group (1.8 ng/ml; -3.2 mg/kg). The percentage of iron-deficient erythropoiesis and deficiency of iron in body tissue were 20.6% and 10.3%, respectively, which were lower (statistically significant) than that of the control group (72.4%; 62.0%) **Conclusion:** Natural food supplementation from prior to and during pregnancy has improved nutritional iron status in women during pregnancy.

Keywords: Food supplementation, hepcidin, body iron, ferritin, transferrin-receptor, iron deficiency, pregnant women, Phu Tho

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong nhiều năm qua, thiếu máu vẫn là vấn đề có ý nghĩa sức khỏe cộng đồng. Theo thống kê của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) năm 2011 có đến 38% phụ nữ có thai (PNCT) trên toàn cầu bị thiếu máu phần lớn là ở các nước đang phát triển [1]. Trên 50% các trường hợp thiếu máu ở phụ nữ có thai là do thiếu sắt. Thiếu máu thiếu sắt ở PNCT ảnh hưởng đến sự phát triển ở giai đoạn bào thai và tác động không tốt đến quá trình tăng trưởng của trẻ sau này. Tại Việt Nam, thiếu sắt là bệnh khá phổ biến đặc biệt ở các vùng nông thôn. Theo tổng điều tra toàn quốc năm 2015 của Viện Dinh dưỡng, tỷ lệ thiếu máu ở phụ nữ tuổi sinh đẻ là 25,5%, riêng ở miền núi là 27,9%, tỷ lệ phụ nữ mang thai thiếu máu là 32,8%, trong số đối tượng thiếu máu có 54,3% bị thiếu sắt [2].

Hepcidin là hoocmon peptide do gan sản xuất có tác dụng điều hòa sắt nội môi. Hepcidin liên kết với ferroportin (thụ thể của

hepcidin và là kênh trao đổi sắt). Khi cơ thể dự trữ đủ sắt hoặc viêm, nồng độ hepcidin tăng khiến ferroportin bị thoái hóa. Ngược lại, khi cơ thể thiếu sắt hoặc có hoạt động tăng tạo hồng cầu sẽ ức chế hepcidin đồng nghĩa với việc tăng nồng độ ferroportin tạo điều kiện cho sắt được hấp thu trong ruột và kích thích sắt được phóng thích từ các đại thực bào và tế bào gan để tổng hợp các hồng cầu mới [3]. Nhu cầu sắt của mẹ và thai nhi tăng lên trong thời kỳ có thai được bù đắp bởi sự gia tăng hấp thu sắt ở ruột. Các nghiên cứu trên động vật và một số nghiên cứu theo dõi trên người cho thấy, hepcidin bị ức chế đáng kể trong thai kỳ ở những phụ nữ hoàn toàn khỏe mạnh. Do vậy cùng với các chỉ số đánh giá tình trạng sắt truyền thống (ferritin, sắt, transferrin receptor) việc sử dụng thêm chỉ số hepcidin để đánh giá sự thay đổi tình trạng sắt rất có ý nghĩa trong các nghiên cứu này.

Dinh dưỡng của bà mẹ kém cả trước và trong khi mang thai là nguyên nhân cơ bản gây nên tình trạng thiếu máu thiếu sắt, việc tăng cường dự trữ của người mẹ từ trước khi có thai giúp đảm bảo đáp ứng nhu cầu của thai nhi trong thời kỳ mang thai [4]. Thực phẩm là nguồn cung cấp các chất dinh dưỡng cần thiết cho con người. Đặc biệt thực phẩm có nguồn gốc động vật là nguồn cung cấp các chất dinh dưỡng có giá trị sinh học cao như sắt, kẽm, vitamin A, vitamin B₁₂... những chất này rất quan trọng với sức khỏe sinh sản và sự phát triển của thai nhi. Tuy nhiên, những nghiên cứu thử nghiệm bổ sung thực phẩm tự nhiên để cải thiện tình trạng vi chất của mẹ và kết quả thai nghén còn ít [4]. Do vậy, nhóm tác giả tiến hành nghiên cứu can thiệp bổ sung thực phẩm giàu dinh dưỡng sẵn có tại địa phương cho phụ nữ từ trước khi mang thai cho tới khi sinh tại huyện Cẩm

Khê Phú Thọ, nhằm cải thiện tình trạng dinh dưỡng sắt trên nhóm đối tượng này.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn lựa chọn: Phụ nữ tuổi từ 18 đến 30. Mới đăng ký kết hôn và dự định có con ngay. Hiện tại không mang thai, không bị nhiễm trùng. Sinh sống tại 29 xã của huyện Cẩm Khê tỉnh Phú Thọ.

Tiêu chuẩn loại trừ: Phụ nữ đã có con. Phụ nữ đang mang thai. Phụ nữ có dự định đi làm xa nhà hoặc phụ nữ hiện có chồng đi làm xa trong thời gian dài hoặc không sống cùng với chồng. Phụ nữ có nồng độ CRP > 5 mg/L hoặc AGP > 1,0 g/L. Phụ nữ có vấn đề về sức khỏe tâm thần, giảm sút trí nhớ.

Thời gian nghiên cứu: Từ năm 2013 đến tháng 7 năm 2016

Cỡ mẫu: Áp dụng công thức tính cỡ mẫu so sánh sự khác biệt giữa hai nhóm trong nghiên cứu có đánh giá nhiều lần theo thời gian [5].

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 (1 + (n^* - 1)\rho)}{n^*[(\mu_1 - \mu_2)/\sigma]^2}$$

Áp dụng công thức tính cỡ mẫu so sánh sự khác biệt giữa hai nhóm trong nghiên cứu có đánh giá nhiều lần theo thời gian [5].

Trong đó: n^* : là số thời điểm đánh giá, $n^* = 3$; ρ là tương quan giả định giữa các lần đo lặp lại, ước tính $\rho = 0,87$; σ : phương sai giả định chung giữa hai nhóm, $\sigma = 5,5$ dựa vào nghiên cứu trước [6]; $(\mu_1 - \mu_2) = 4$ là kỳ vọng sự khác biệt trung bình giữa hai nhóm. Với độ tin cậy 95% và lực mẫu là 0,80; ta có $Z_{\alpha} = 1,96$ và $Z_{\beta} = 0,84$. Thay số vào công thức tính được $n = 27$. Thực tế, đề tài đã chọn

30 phụ nữ cho mỗi nhóm, tổng số mẫu cho 2 nhóm là 60 phụ nữ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu:

- **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu can thiệp có đối chứng. Đối tượng được chia ngẫu nhiên vào một trong hai nhóm:

- Nhóm 1 can thiệp (CT): Nhóm phụ nữ được bổ sung thực phẩm giàu dinh dưỡng từ khi đăng ký tham gia nghiên cứu cho đến khi sinh con.

- Nhóm chứng: Nhóm phụ nữ không được ăn bổ sung thực phẩm.

Thực phẩm sử dụng trong can thiệp là những thực phẩm sẵn có tại địa phương gồm thịt lợn, gan lợn, tiết lợn, tôm, trứng vịt lộn và rau theo mùa được xây dựng thành 10 thực đơn quay vòng. Mỗi thực đơn trung bình cung cấp khoảng 15 (mg) sắt, 5 (mg) kẽm, 600 (μ g) vitamin A, 9 (μ g) Vitamin B₁₂ và 400 (μ g) folate. Năng lượng của khẩu phần bổ sung không vượt quá 200 Kcal/ngày. Đối tượng được ăn thực phẩm bổ sung hàng ngày trừ cuối tuần và các ngày lễ tết. Đối tượng ăn thực phẩm bổ sung tại các điểm quy định của mỗi xã, không ăn ở nhà. Người tổ chức ăn giám sát, cân lại thực phẩm không ăn hết và ghi vào sổ theo dõi ăn hàng ngày. Đối tượng không đến ăn 10 ngày liên tiếp hoặc ăn 1 năm mà không có thai bị loại khỏi nghiên cứu.

Thu thập thông tin, nhân trắc, khẩu phần: phỏng vấn thông tin dựa vào bộ câu hỏi thiết kế sẵn. Đo cân nặng, chiều cao. Dụng cụ đo được trang bị mới và giống nhau ở các xã.

Thu thập mẫu máu: Mẫu máu được thu thập tại 3 thời điểm: trước khi có thai (T₀); thai 16 tuần (T₁₆) và thai 32 tuần (T₃₂). Máu

tĩnh mạch được lấy vào buổi sáng khi đói, cho vào ống không có chất chống đông. Ly tâm ống máu ở 3000 vòng trong 10 phút, tách lấy huyết thanh chia vào các ống eppendorf. Bảo quản mẫu ở -20°C , tại trung tâm Y tế huyện trong 2 tuần. Sau 2 tuần, mẫu được vận chuyển về Viện Dinh dưỡng và bảo quản ở -80°C cho đến khi phân tích.

Định lượng các chỉ số hóa sinh:

Hepcidin và Alpha 1-Acid Glycoprotein (AGP): được định lượng dựa trên phương pháp ELISA tại Viện Dinh dưỡng. Ferritin; Transferrin receptor (Tf-R); và C-Reactive Protein (CRP): được định lượng dựa trên phương pháp hóa sinh, miễn dịch, sử dụng hóa chất của hãng Roche, làm trên máy Cobas 800 tại Bệnh viện Bạch Mai. Sắt huyết tương được phân tích bằng phương pháp khối phổ cảm ứng plasma, làm trên máy ICP-MS tại Na Uy.

Tiêu chuẩn đánh giá tình trạng sắt:

Thiếu sắt dự trữ khi: Tf-R > 4.4 mg/L hoặc ferritin < 20 $\mu\text{g/L}$ và không bị nhiễm trùng.

Thiếu sắt tạo hồng cầu khi: Tf-R $> 8,5$ mg/L hoặc ferritin < 12 $\mu\text{g/L}$ và không bị nhiễm trùng. Nồng độ BI được tính dựa trên tỷ số giữa Tf-R và ferritin theo công thức [7].

$$\text{BI (mg/kg)} = - (\log(\text{Tf-R/Ferritin}) - 2,822)/0,1207$$

Lượng sắt trong mô cơ thể cạn kiệt khi: BI < 0 (mg/kg) và không bị nhiễm trùng.

Tiêu chuẩn đánh giá tình trạng nhiễm trùng:

- Nhiễm trùng khi: CRP > 5 mg/L hoặc AGP $> 1,0$ g/L.

2.3. Phân tích số liệu: Sử dụng phần mềm STATA 14.2 MP để phân tích

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

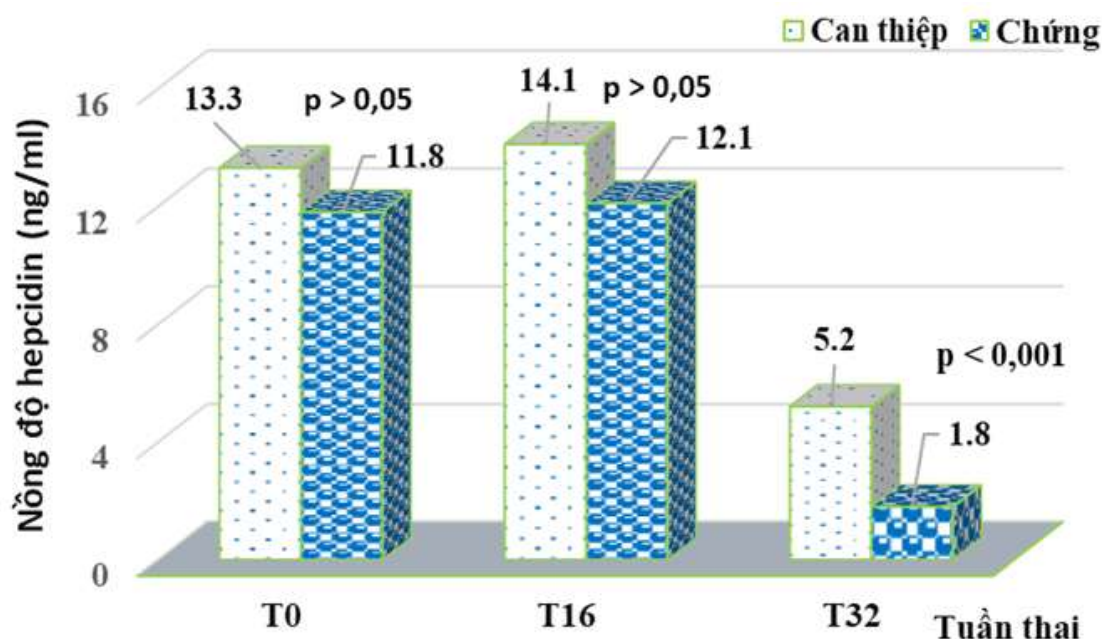
3.1. Thông tin chung của đối tượng tại thời điểm ban đầu

Ở thời điểm tham gia nghiên cứu (T_0) có đủ 60 phụ nữ. Tới T_{16} còn 59 đối tượng đáp ứng đủ tiêu chí nghiên cứu, loại bỏ 1 bà mẹ bị nhiễm trùng ở nhóm chứng và thời điểm T_{32} loại 1 trường hợp nhiễm trùng ở nhóm can thiệp. Kết thúc nghiên cứu còn 58 đối tượng đảm bảo đủ số lượng mẫu phân tích. Độ tuổi trung bình của phụ nữ tham gia nghiên cứu là $(21,2 \pm 2,3)$ tuổi với BMI trung bình là $(19,8 \pm 1,5)$. Không thấy sự khác biệt về các chỉ số tuổi; BMI; thành phần các chất dinh dưỡng và các chỉ số hóa sinh giữa 2 nhóm tại thời điểm T_0 với $p > 0,05$ trong tất cả các trường hợp.

3.2. Hiệu quả bổ sung thực phẩm lên tình trạng sắt của phụ nữ trong thai kỳ

Để hạn chế các yếu tố nhiễu trong đánh giá hiệu quả can thiệp bổ sung thực phẩm giàu vi chất dinh dưỡng lên tình trạng sắt, ngoài việc loại trừ các đối tượng bị nhiễm trùng, nghiên cứu đã thống kê và phân tích tỷ lệ % phụ nữ uống bổ sung viên sắt folic trong các giai đoạn của thai kỳ. Kết quả cho thấy, tỷ lệ bà mẹ uống bổ sung viên sắt-folic ở nhóm chứng rất cao cụ thể tại T_{16} là 65,5% và T_{32} là 75,8% tỷ lệ này cao hơn có YNTK so với tỷ lệ bà mẹ uống viên sắt ở nhóm can thiệp (T_{16} là 20,0% và T_{32} là 41,4%) với $p < 0,01$ và $p < 0,05$. Không thấy sự khác biệt về tỷ lệ đối tượng uống viên sắt-folic giữa 2 nhóm ở thời điểm trước khi mang thai ($p > 0,05$).

Hiệu quả can thiệp được đánh giá qua sự so sánh nồng độ hepcidin của 2 nhóm nghiên cứu trong các giai đoạn thai kỳ, được trình bày trong hình 1



Hình 1. So sánh nồng độ hepcidin của 2 nhóm trong các giai đoạn thai kỳ

Kết quả nghiên cứu cho thấy, trung vị (p25; p75) của nồng độ hepcidin tại T₃₂ của nhóm CT là 5,2 (3,0; 6,8) ng/ml cao hơn có YNTK so với nhóm chứng [1,8 (0,8; 3,8) ng/mL] với p < 0,001, không thấy sự khác biệt có YNTK về nồng độ hepcidin giữa nhóm CT và nhóm chứng ở cả T₀ và T₁₆, với p > 0,05 trong cả 2 thời điểm.

Bảng 1: So sánh nồng độ các chỉ số đánh giá tình trạng sắt của 2 nhóm trong thai kỳ

		Can thiệp		Chứng	
		n	Trung vị (p25; p75)	n	Trung vị (p25; p75)
Ferritin (µg/L)	T ₀	30	35,9 (21,7; 98,2)	30	54,3 (38,1; 75,8)
	T ₁₆	30	59,6 (30,2; 92,0)	29	63,6 (51,8; 119,4)
	T ₃₂	29	19,2 (12,1; 27,4)**	29	3,6 (0,1; 12,2)**
sTfR (mg/L)	T ₀	30	4,1 (3,0; 5,6)	30	3,7 (3,0; 4,2)
	T ₁₆	30	2,9 (2,2; 3,9)	29	2,6 (2,4; 3,3)
	T ₃₂	29	3,9 (3,4; 5,1)	29	4,5 (3,9; 6,0)
BI (mg/kg)	T ₀	30	6,2 (3,3; 9,9)*	30	7,9 (7,5; 9,6)*
	T ₁₆	30	9,4 (6,7; 11,5)	29	10,7 (7,9; 12,1)
	T ₃₂	29	4,1 (2,6; 5,7)**	29	-3,2 (-15,3; 2,6)**
Sắt (µmol/L)	T ₀	30	17,3 (15,1; 22,4)	30	15,1 (12,3; 21,8)
	T ₁₆	30	19,0 (15,7; 21,8)	29	19,2 (17,3; 22,4)
	T ₃₂	29	16,8 (13,4; 22,9)*	29	13,9 (8,9; 17,3)*

Số liệu được trình bày: trung vị (p25; p75); Wilcoxon rank sum test so sánh giữa 2 nhóm trong cùng thời điểm; *p<0,05, ** p < 0,01.

Kết quả cho thấy, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (YNTK) về nồng độ sTfR giữa 2 nhóm ở cả 3 thời điểm nghiên cứu. Tại thời điểm T₀ và T₁₆, nồng độ ferritin

và sắt giữa 2 nhóm không có sự khác biệt ($p > 0,05$).

Nồng độ BI ở T_0 của nhóm CT là 6,2 mg/kg thấp hơn có YNTK so với nhóm chứng (7,9 mg/kg) với $p < 0,05$. Không thấy sự khác biệt về nồng độ BI ở T_{16} . Tuy nhiên

tại T_{32} , nồng độ ferritin; BI và sắt huyết tương của nhóm CT tương ứng là: 19,2 $\mu\text{g/L}$; 4,1 mg/kg và 16,8 $\mu\text{mol/L}$ đều cao hơn có YNTK so với nhóm chứng lần lượt là: 3,6 $\mu\text{g/L}$; -3,2 mg/kg và 13,9 $\mu\text{mol/L}$ tương ứng với $p < 0,001$; $p < 0,001$ và $p < 0,05$.

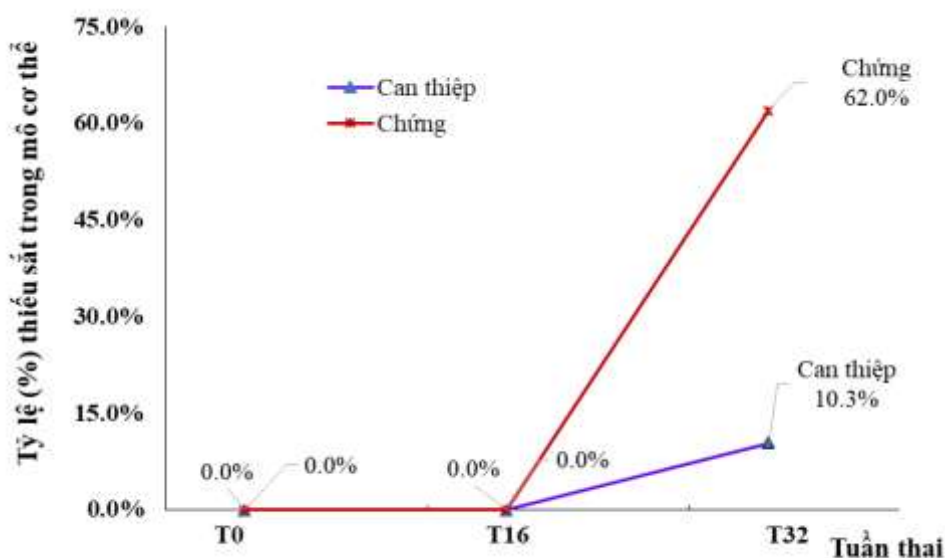
Bảng 3: So sánh mức độ thiếu sắt của 2 nhóm trong thai kỳ

		Can thiệp		Chứng		P
		n	Tỷ lệ % (n)	n	Tỷ lệ % (n)	
Tỷ lệ thiếu sắt dự trữ Ferritin < 20 ($\mu\text{g/L}$) hoặc Tf-R > 4,4 (mg/L)	T_0	30	33,3 (10)	30	26,7 (8)	> 0,05 ^a
	T_{16}	30	26,7 (8)	29	24,1 (7)	> 0,05 ^b
	T_{32}	29	58,6 (17)	29	79,3 (23)	> 0,05 ^b
Tỷ lệ thiếu sắt tạo hồng cầu Ferritin < 12 ($\mu\text{g/L}$) hoặc Tf-R > 8,5 (mg/L)	T_0	30	10,0 (3)	30	6,7 (2)	> 0,05 ^a
	T_{16}	30	0,0 (0)	29	0,0 (0)	> 0,05 ^b
	T_{32}	29	20,6 (6)	29	72,4 (21)	< 0,01^b

^a sử dụng Fisher's Exact test; ^b sử dụng χ^2 - test so sánh tỷ lệ giữa 2 nhóm, khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Kết quả bảng 3 cho thấy, không thấy sự khác biệt về tỷ lệ thiếu sắt dự trữ giữa hai nhóm tại các thời điểm nghiên cứu ($p > 0,05$).

Tại thời điểm T_{32} tỷ lệ thiếu sắt tạo hồng cầu của nhóm CT là 20,6% thấp hơn có YNTK so với nhóm chứng (72,4%) với $p < 0,01$. Không thấy sự khác biệt về tỷ lệ thiếu sắt tạo hồng cầu giữa 2 nhóm tại thời điểm T_0 và T_{16} .



Hình 2: So sánh tỷ lệ % phụ nữ thiếu sắt trong mô cơ thể giữa hai nhóm

Hình 2 cho thấy, tại thời điểm thai được 32 tuần, tỷ lệ % phụ nữ thiếu sắt trong mô cơ thể của nhóm CT là 10,3% thấp hơn có YNTK so với nhóm chứng (62,0%) với $p < 0,001$. Tại thời điểm T_0 và T_{16} không có phụ nữ nào bị thiếu sắt trong mô cơ thể ở cả hai nhóm nghiên cứu.

IV. BÀN LUẬN

Hepcidin là hoocmon peptid do gan sản xuất có chức năng điều tiết cân bằng sắt trong cơ thể, hoocmon này ức chế hấp thu sắt có trong khẩu phần và ức chế giải phóng sắt từ các đại thực bào và tế bào gan. Hoạt động tạo hồng cầu và dự trữ sắt trong cơ thể làm tăng sản sinh ra hoocmon này. Trong thời kỳ có thai, hepcidin của thai nhi điều tiết sự chuyển sắt qua nhau thai từ huyết tương của mẹ vào tuần hoàn của thai. Nhu cầu sắt của mẹ và thai nhi tăng lên trong thời kỳ có thai được bù đắp bởi sự gia tăng hấp thu sắt ở ruột. Kết quả nghiên cứu cho thấy, nồng độ hepcidin thay đổi với mức thấp nhất ở cuối thai kỳ. Bổ sung thực phẩm giàu vi chất dinh dưỡng sớm, từ trước khi mang thai và trong suốt thai kỳ đã thể hiện hiệu quả can thiệp thông qua ở nồng độ hepcidin ở T_{32} , với trung vị nồng độ hepcidin ở T_{32} của nhóm CT (5,2 ng/ml) cao hơn so với nhóm chứng (1,8 ng/ml) với $p < 0,001$. Nồng độ hepcidin của cả 2 nhóm trong nghiên cứu này đều thấp hơn so với một số nghiên cứu đã công bố trên thế giới ở phụ nữ cùng giai đoạn thai kỳ. Nồng độ hepcidin ở T_{32} và T_{16} của nhóm CT (14,1 ng/ml; 5,2 ng/ml) và nhóm chứng (12,1 ng/ml; 1,8 ng/ml) ở Cẩm Khê đều thấp hơn so với nghiên cứu của Finkenstedt trên 42 phụ nữ có thai ở quý 1 và quý 3 (16 ng/ml; 9,5 ng/ml). Trong khi nồng độ hepcidin ở T_{32} của nhóm CT (5,1 ng/ml) cao hơn so với nghiên cứu của Gyarmati B. trên 38 phụ nữ

có thai 40 tuần (2,52 ng/ml) và nghiên cứu của Toldi G trên 37 phụ nữ có thai 36 tuần (3,74 ng/ml) thì nồng độ hepcidin của nhóm chứng (1,8 ng/ml) trong nghiên cứu này lại thấp hơn so với cả 2 nghiên cứu của Gyarmati (2,52 ng/ml) của Toldi G (3,74 ng/ml). Từ những phân tích trên cho thấy, nồng độ hepcidin của nhóm CT trong nghiên cứu này không cao so với các nghiên cứu khác trên thai phụ phát triển bình thường, trong khi nồng độ hepcidin ở nhóm chứng (1,8 ng/ml) rất thấp, thậm chí thấp hơn so với nồng độ này ở những thai phụ trên 36 tuần. Kết quả cho thấy sự tăng nồng độ hepcidin ở thời điểm T_{32} của nhóm CT cao hơn so với nhóm chứng là do dự trữ sắt của những phụ nữ trong nhóm được bổ sung thực phẩm đã cao hơn so với phụ nữ ở nhóm chứng. Mặc dù tỷ lệ phụ nữ uống bổ sung viên sắt trong thai kỳ ở nhóm can thiệp tại T_{16} là 20,0% và T_{32} là 41,4% đều thấp hơn có YNTK so với tỷ lệ này ở nhóm chứng (T_{16} là 65,5% và T_{32} là 75,8%) nhưng kết quả các chỉ số đánh giá tình trạng sắt giữa nhóm CT đã thể hiện hiệu quả của can thiệp bổ sung thực phẩm sớm từ trước khi có thai và trong suốt thai kỳ mang lại, nhận định này được minh chứng thông qua việc so sánh nồng độ các chỉ số đánh giá tình trạng sắt ở T_{32} giữa 2 nhóm nghiên cứu [trung vị nồng độ các chỉ số đánh giá tình trạng sắt của nhóm CT: ferritin là 19,2 ($\mu\text{g/L}$); BI là 4,1 (mg/kg) và sắt là 16,8 ($\mu\text{mol/L}$) đều cao hơn có YNTK so với các chỉ số đánh giá tình trạng sắt ở nhóm chứng tương ứng: ferritin (3,6 $\mu\text{g/L}$); BI (-3,2 mg/kg) và sắt (13,9 $\mu\text{mol/L}$) với $p < 0,001$; $p < 0,001$ và $p < 0,01$].

Việc sử dụng thực phẩm tự nhiên đặc biệt thực phẩm có nguồn gốc động vật với hàm lượng protein cao rất dễ hấp thu lượng vi chất vào cơ thể, tuy nhiên với 1 lượng hấp

thu nhỏ hàng ngày đòi hỏi việc bổ sung phải thường xuyên lâu dài mới mang lại hiệu quả. Đây cũng chính là lý do có rất ít nghiên cứu đánh giá hiệu quả can thiệp bổ sung thực phẩm tự nhiên vì đòi hỏi cần phải có thời gian và kinh phí rất lớn.

Trong khi ferritin là chỉ số đánh giá tình trạng dự trữ sắt, thì Tf-R mang thông tin về nhu cầu sắt của tế bào và tỷ lệ tăng sinh hồng cầu. Tf-R lưu thông có từ việc các thụ thể tách khỏi các nguyên hồng cầu đang hình thành, nồng độ Tf-R tăng khi nguồn cung cấp sắt cho mô tạo hồng cầu bị hạn chế. Kết quả nghiên cứu cho thấy ở T₂₃ đã có sự cải thiện rõ rệt ở nhóm được bổ sung thực phẩm với tỷ lệ thiếu tạo hồng cầu (20,0%) thấp hơn rõ rệt so với tỷ lệ này ở nhóm chứng (72,4%) với $p < 0,01$.

BI là chỉ số đặc biệt hữu ích để đánh giá tình trạng sắt trong cơ thể đặc biệt với đối tượng có nguy cơ cao thiếu sắt như trẻ dưới 5 tuổi và phụ nữ có thai. Sử dụng chỉ số BI có giá trị tốt trong các nghiên cứu can thiệp bổ sung sắt để đánh giá hiệu quả cải thiện sự thiếu sắt [7] [8]. Kết quả cho thấy, hiệu quả bổ sung thực phẩm đã cải thiện rõ rệt tình trạng sắt của phụ nữ có thai ở thời điểm 32 tuần, với tỷ lệ % đối tượng thiếu sắt trong mô cơ thể của nhóm can thiệp là 10,3% thấp hơn so với nhóm chứng (62,0%) với $p < 0,001$. Tỷ lệ thiếu sắt trong mô cơ thể ở nhóm can thiệp (10,3%) thấp hơn so với tỷ lệ này của phụ nữ có thai ở quý thứ 3 trong điều tra quốc gia về tình trạng sắt của phụ nữ có thai của Hoa kỳ (29,7%) [8].

Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc bổ sung thực phẩm tự nhiên giàu vi chất là rất cần thiết cho phụ nữ mang thai, đặc biệt giai đoạn đầu thai kỳ khi cơ thể có sự thay đổi sinh lý, gây cảm giác nghén. Giai đoạn này với năng lượng trong khẩu phần của đối

tượng còn thiếu nhiều so với nhu cầu khuyến nghị, cùng với nhu cầu sắt chưa cao, thay vì uống viên sắt phụ nữ nên ăn thực phẩm có nguồn gốc động vật giàu protein và vi chất sẽ an toàn và nâng cao sức khỏe dinh dưỡng.

V. KẾT LUẬN

Bổ sung thực phẩm tự nhiên từ trước khi mang thai cho tới khi sinh đã cải thiện tình trạng dinh dưỡng sắt ở phụ nữ trong thai kỳ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **World Health Organization** (2014), "Global nutrition targets 2025: anaemia policy brief". (WHO/ NMH/ NHD/ 14.4). Geneva: World Health Organization.
2. **Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia** (2015), "Số liệu điều tra về vi chất dinh dưỡng năm 2014-2015.", Số liệu thống kê về vi chất dinh dưỡng, trang mạng của Viện Dinh Dưỡng Quốc Gia.
3. **Tomas Ganz and Elizabeta Nemeth** (2011), "Hepcidin and disorders of iron metabolism". *Annu Rev Med* (62), p. 347–360.
4. **Ramakrishnan U, et al.** (2014), "Maternal Nutrition Intervention to improve maternal, newborn, and child health outcomes". *Nestle Nutr Inst Workshop Ser. Vol.78: 71-80*. Doi:10.1159/000354942.
5. **Diggle P, et al.** (2002), "Analysis of longitudinal data". 2nd, Oxford University Press.
6. **Dao M.C, et al.**, Obesity during pregnancy and fetal iron status: Is hepcidin the link? . *J. Perinatol* 2013. 33: p. 177–181.
7. **Cook J D, Flowers C H and Skikne B S.** (2003), "The quantitative assessment of body iron". *Blood*. 101(9): p. 3359-3364.
8. **Mei Z, et al.** (2011), "Assessment of iron status in US pregnant women from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES), 1999–2006". *Am J Clin Nutr*. 93: p. 1312–1320.

KẾT QUẢ THỰC HIỆN NGHIỆM PHÁP DUNG NẠP ĐƯỜNG TRÊN CÁC THAI PHỤ MANG SONG THAI TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG

Nguyễn Hải Phương¹, Nguyễn Phương Tú²,
Phạm Thị Thanh Thủy¹, Hoàng Thị Diệu Lan¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá nguy cơ mắc đái tháo đường thai kỳ ở những thai phụ mang song thai so với những thai phụ đơn thai. **Đối tượng & Phương pháp:** Nghiên cứu hồi cứu trên nhóm 115 thai phụ mang song thai từ 13 tuần và nhóm chứng gồm 3579 thai phụ đơn thai thực hiện nghiệm pháp dung nạp đường tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 03 năm 2023. **Kết quả:** Tỷ lệ thai phụ đơn thai mắc đái tháo đường thai kỳ trên tổng số phụ nữ đơn thai là 25.6%. Tỷ lệ thai phụ song thai mắc đái tháo đường thai kỳ trên tổng số phụ nữ song thai là 42.6%. **Kết luận:** Nhóm thai phụ song thai có nguy cơ mắc đái tháo đường thai kỳ cao gấp đôi so với nhóm thai phụ đơn thai.

Từ khóa: song thai, nghiệm pháp dung nạp đường, đái tháo đường thai kỳ, hỗ trợ sinh sản.

SUMMARY

RESULTS OF ORAL GLUCOSE TOLERANCE TEST ON PREGNANT WOMEN WITH TWINS AT THE NATIONAL HOSPITAL OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

¹Bệnh viện Phụ sản Trung ương

²Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hải Phương
SĐT: 0904508042

Email: drhaiphuongnguyen@gmail.com

Ngày nhận bài: 29.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 2.7.2023

Objectives: Survey of the results of oral glucose tolerance tests of pregnant women with twins and compare with the group of women with singleton pregnancies. **Subjects & method:** The retrospective study involved a group of 115 pregnant women with twins from 13 weeks and a control group of 3579 singleton pregnancies performing an oral glucose tolerance test at the National Hospital of Obstetrics and Gynecology from January 2021 to March 2023. **Results:** The percentage of singleton pregnancies with gestational diabetes mellitus to the total number of singleton pregnancies was 25.6%. That of twin pregnancies with gestational diabetes to the total number of twin women was 42.6%. **Conclusion:** The group of twin pregnancies was twice as likely to develop gestational diabetes mellitus as the group of singleton pregnancies.

Keywords: twins, oral glucose tolerance test, gestational diabetes, assisted reproduction.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đa thai ngày càng trở nên phổ biến do quá trình sử dụng các biện pháp hỗ trợ sinh sản như bơm tinh trùng vào buồng tử cung (IUI) và thụ tinh ống nghiệm (IVF). Dù mang đơn thai hay song thai thì thai phụ đều phải đối mặt với nguy cơ mắc các biến chứng thai kỳ. Mà trong đó, đái tháo đường là một trong số những biến chứng phổ biến. Tại Việt Nam, tỷ lệ mắc đái tháo đường thai kỳ được ghi nhận là 20.5% [1] Trên toàn cầu, tỷ

lệ mắc bệnh này thường khoảng 6% và có xu hướng đang dần tăng lên [2].

Việc kiểm soát và điều trị đái tháo đường thai kỳ rất quan trọng để đảm bảo sức khỏe của cả mẹ và con. Nếu không được kiểm soát và điều trị đúng cách, đái tháo đường thai kỳ có thể gây ra các vấn đề cho mẹ và thai nhi, bao gồm tăng nguy cơ tiền sản giật, sinh non, đẻ khó, nhu cầu mổ lấy thai ở bà mẹ và thai to, hạ đường huyết ở trẻ sơ sinh [3]. Tuy nhiên các dữ liệu tại Việt Nam về mối liên quan giữa song thai hoặc đa thai với bệnh lý đái tháo đường thai kỳ đối với kết quả của một ca song thai khá khan hiếm.

Để đóng góp kiến thức vào lĩnh vực này, nhóm nghiên cứu tiến hành đề tài **“Kết quả thực hiện nghiệm pháp dung nạp đường trên các thai phụ mang song thai tại Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương”**.

III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm chung của nhóm thai phụ tham gia nghiên cứu

Bảng 1: Đặc điểm về tuổi trung bình của bệnh nhân tham gia nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm thai phụ song thai n = 115	Nhóm thai phụ đơn thai n = 3579	P
Tuổi trung bình			
Tuổi trung bình (mean ± SD)	31.21 ± 4.654	29.78 ± 5.317	< 0.05
Nhóm tuổi			
< 18 tuổi	0 (0.0%)	5 (0.1%)	> 0.05
18 – 24 tuổi	9 (7.8%)	549 (15.3%)	< 0.05
25 – 29 tuổi	32 (27.8%)	1292 (36.1%)	> 0.05
30 – 34 tuổi	48 (41.7%)	1038 (29.0%)	< 0.05
35 – 39 tuổi	24 (20.9%)	542 (15.1%)	> 0.05
> 40 tuổi	2 (1.7%)	153 (4.3%)	> 0.05

Nhóm thai phụ song thai có độ tuổi trung bình là 31.21 lớn hơn độ tuổi trung bình của nhóm thai phụ đơn thai là 29.26. Nhóm tuổi hay gặp nhất ở các ca song thai là nhóm 30 đến 34 tuổi. Còn ở các ca đơn thai, nhóm

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: nhóm song thai gồm 115 thai phụ mang thai từ 13 tuần và nhóm chứng gồm 3579 thai phụ đơn thai từ 24 đến 28 tuần thực hiện nghiệm pháp dung nạp đường tại bệnh viện Phụ Sản Trung Ương từ tháng 01 năm 2021 đến tháng 03 năm 2023.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại khoa Sinh hóa, bệnh viện Phụ Sản Trung Ương từ tháng 05 năm 2023 đến tháng 06 năm 2023.

2.3 Phương pháp nghiên cứu:

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu hồi cứu.

2.3.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán

Chẩn đoán xác định đái tháo đường thai kỳ theo phương pháp 1 bước của Bộ Y Tế (IADPSG năm 2010).

2.3.3. Xử lý số liệu: Sử dụng phần mềm SPSS 22.0

tuổi hay gặp nhất là nhóm 25 đến 29 tuổi. Kết quả này cũng giống với nghiên cứu của tác giả McLenan [4]: xác suất mang song thai tăng theo tuổi mẹ, với tỷ lệ sinh đôi chiếm 6,9% trẻ sơ sinh do phụ nữ từ 40 tuổi

trở lên sinh ra, so với 5,0% đối với phụ nữ từ 35 đến 39, 4,1% đối với phụ nữ từ 30 đến 34, 3,1% đối với phụ nữ từ 25 đến 29. Điều này được lý giải về việc sử dụng các phương pháp hỗ trợ sinh sản ở những phụ nữ càng

lớn tuổi là càng lớn. Mặt khác, nồng độ hormon FSH ở phụ nữ lớn tuổi là cao hơn có thể dẫn đến số lượng các nang trứng được kích thích trong một chu kỳ nhiều hơn.

Bảng 2. Đặc điểm về tuần thai thực hiện nghiệm pháp của nhóm thai phụ nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm thai phụ song thai n = 115	Nhóm thai phụ đơn thai n = 3579	p
Tuần thai trung bình			
Tuần thai trung bình (mean±SD)	25.70 ± 4.09	26.53 ± 4.02	< 0.05
Nhóm tuần thai			
13 đến dưới 24 tuần	33 (28.7%)	721 (20.1%)	< 0.05
24 – 28 tuần	53 (46.1%)	1608 (44.9%)	> 0.05
Trên 28 tuần	29 (25.2%)	1250 (34.9%)	< 0.05

Tuần thai thực hiện nghiệm pháp đường ở nhóm phụ nữ song thai và đơn thai chủ yếu (chiếm 46,1% và 44.9%) là từ 24 đến 28 tuần theo hướng dẫn của Bộ Y tế. Các thời điểm trước 24 tuần và sau 28 tuần chiếm tỉ lệ ít

hơn với giá trị lần lượt là 28.7% và 25.2%. Nhóm song thai có tỉ lệ được chỉ định làm nghiệm pháp dung nạp glucose trước 24 tuần nhiều hơn so với nhóm đơn thai.

Bảng 3. Đặc điểm về phương pháp hỗ trợ sinh sản của nhóm thai phụ song thai

Chỉ số	Nhóm thai phụ song thai n = 115	Nhóm thai phụ đơn thai n = 3579	p
Các phương pháp hỗ trợ sinh sản			
Không sử dụng	77 (67.0%)	3459 (96.7%)	< 0.05
Sử dụng IUI	4 (3.5%)	3 (0.1%)	< 0.05
Sử dụng IVF	34 (29.6%)	116 (3.2%)	< 0.05

Tỉ lệ thai phụ mang song thai có sử dụng phương pháp hỗ trợ sinh sản là nhiều hơn đơn thai. Số liệu của chúng tôi cũng cho thấy kết quả tương tự như báo cáo của tác giả Wang [5]. Các phương pháp hỗ trợ sinh sản vừa có thể gây kích thích nhiều nang trứng phát triển trong cùng một chu kỳ, đồng thời có khả năng chuyển nhiều phôi vào buồng tử

cung của người phụ nữ và gây nên hiện tượng đa thai cho các sản phụ. Bên cạnh đó, một số nguyên nhân gây vô sinh như hội chứng buồng trứng đa nang vừa gây tăng khả năng đa thai, vừa tăng nguy cơ mắc đái tháo đường nói chung.

3.2. Kết quả nghiệm pháp dung nạp Glucose trên nhóm thai phụ nghiên cứu

Bảng 4. Kết quả nghiệm pháp dung nạp Glucose trên nhóm thai phụ

Chỉ số	Nhóm thai phụ song thai n = 115	Nhóm thai phụ đơn thai n = 3579	p
Đường huyết khi đói			
Nồng độ trung bình (Mean ± SD)	4.39 ± 0.06	4.28 ± 0.48	< 0.05
Đường huyết sau uống Glucose 1 giờ			
Nồng độ trung bình (Mean ± SD)	8.69 ± 1.96	8.20 ± 1.84	< 0.05
Đường huyết sau uống Glucose 2 giờ			
Nồng độ trung bình (Mean ± SD)	7.83 ± 1.97	7.31 ± 1.70	< 0.05
Số lần có kết quả vượt ngưỡng			
Không có kết quả vượt ngưỡng	66 (57.4%)	2662 (74.4%)	< 0.05
Có 1 kết quả vượt ngưỡng	27 (23.5%)	496 (13.9%)	< 0.05
Có 2 kết quả vượt ngưỡng	16 (13.9%)	349 (9.8%)	> 0.05
Có 3 kết quả vượt ngưỡng	6 (5.2%)	72 (2.0%)	< 0.05

Như vậy, không chỉ nồng độ trung bình các chỉ số: đường huyết khi đói, sau thời điểm uống glucose 1 giờ và 2 giờ của nhóm thai phụ mang song thai cao hơn nhóm đơn thai thì nhóm song thai còn có tỉ lệ kết quả vượt ngưỡng nhiều hơn nhóm đơn thai. Khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Tần suất có chỉ

số vượt ngưỡng nhiều nhất ở cả hai nhóm đơn thai và song thai để ghi nhận ở thời điểm sau uống glucose 2 giờ với nhóm đơn thai chiếm 17.1% và nhóm song thai chiếm 31.3%. Đứng thứ hai là thời điểm sau uống glucose 1 giờ.

Bảng 5. So sánh các tiêu chí chẩn đoán đái tháo đường thai kỳ trên 2 nhóm thai phụ

Chỉ số	Nhóm thai phụ song thai n = 115	Nhóm thai phụ đơn thai n = 3579	p
Dựa trên đường huyết khi đói ≥ 5.1 mmol/L			
Âm tính	103 (89.6%)	3442 (96.2%)	< 0.05
Dương tính	12 (10.4%)	137 (3.8%)	
Dựa trên tiêu chuẩn ADA 2001			
Âm tính	94 (81.7%)	3182 (88.9%)	< 0.05
Dương tính	21 (18.3%)	397 (11.1%)	
Dựa trên tiêu chuẩn IADPSG năm 2010			
Âm tính	66 (57.4%)	2662 (74.4%)	< 0.05
Dương tính	49 (42.6%)	917 (25.6%)	

Một sự so sánh giữa các tiêu chuẩn chẩn đoán đã được nhóm nghiên cứu của chúng tôi thiết lập. Tiêu chuẩn IADPSG năm 2010

là tiêu chuẩn khi áp dụng sẽ cho tỉ lệ mắc đái tháo đường lớn nhất. Nếu chỉ sử dụng đường huyết khi đói để sàng lọc mà không làm

nghiệm pháp dung nạp Glucose sẽ có thể bỏ sót đến 32.2% thai phụ trong nhóm song thai và 21.8% thai phụ trong nhóm đơn thai. Hiện nay, trên thế giới đã có những nghiên cứu riêng trên đối tượng là thai phụ song thai để đưa ra tiêu chuẩn chẩn đoán đái tháo đường thai kỳ cho đối tượng đặc thù này [6].

IV. KẾT LUẬN

Như vậy, nhóm thai phụ song thai có nguy cơ mắc đái tháo đường thai kỳ cao gấp đôi so với nhóm thai phụ đơn thai. Các phương pháp hỗ trợ sinh sản và độ tuổi của người mẹ càng lớn sẽ góp phần làm tăng tỷ lệ sinh song thai. Nếu chỉ sử dụng đường huyết khi đói để sàng lọc mà không làm nghiệm pháp dung nạp Glucose sẽ có thể bỏ sót một lượng lớn thai phụ mắc đái tháo đường thai kỳ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Lê Thị Thanh Tâm. Nghiên cứu phân bố - một số yếu tố liên quan và kết quả sản khoa ở thai phụ đái tháo đường thai kỳ. Luận văn Tiến sỹ. Trường Đại Học Y Hà Nội. 2017. Trang 58.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists. ACOG Practice Bulletin No. 190: Gestational Diabetes Mellitus. *Obstet. Gynecol.* 2018, 131, e49–e64.
3. Horvath, K.; Koch, K.; Jeitler, K.; Matyas, E.; Bender, R.; Bastian, H.; Lange, S.; Siebenhofer, A. Effects of treatment in women with gestational diabetes mellitus: Systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2010, 340, c1395.
4. McLennan AS, Gyamfi-Bannerman C, Ananth CV, Wright JD, Siddiq Z, D'Alton ME, Friedman AM. The role of maternal age in twin pregnancy outcomes. *Am J Obstet Gynecol.* 2017 Jul;217(1):80.e1-80.e8. doi: 10.1016/j.ajog.2017.03.002. Epub 2017 Mar 9. PMID: 28286050; PMCID: PMC5571734.
5. Wang YA, Nikravan R, Smith HC, Sullivan EA. Higher prevalence of gestational diabetes mellitus following assisted reproduction technology treatment. *Hum Reprod.* 2013 Sep;28(9):2554-61. doi: 10.1093/humrep/det270. Epub 2013 Jun 27. PMID: 23814097.
6. Hirsch L, Shah BR, Berger H, Geary M, McDonald SD, Murray-Davis B, Guan J, Halperin I, Retnakaran R, Barrett J, Melamed N. DEVELOPING twin-specific 75-g oral glucose tolerance test diagnostic thresholds for gestational diabetes based on the risk of future maternal diabetes: a population-based cohort study. *BJOG.* 2021 Nov;128(12):1975-1985. doi: 10.1111/1471-0528.16773. Epub 2021 Jun 22. PMID: 34032350.

XÂY DỰNG QUY TRÌNH ĐỊNH LƯỢNG ANTI-VINCULIN TRONG HUYẾT THANH BẰNG KỸ THUẬT ELISA, ỨNG DỤNG PHÁT HIỆN HỘI CHỨNG RUỘT KÍCH THÍCH

Nguyễn Minh Hiền¹, Nguyễn Thị Thu Lê¹, Trần Thanh Tú¹,
Nguyễn Thành Vinh¹ Trương Việt Hải Long¹,
Lã Thị Huyền², Lê Thị Minh Phúc²

TÓM TẮT

Vinculin là một protein liên kết với actin tham gia vào quá trình kết dính tế bào. Sự hiện diện của các tự kháng thể kháng Vinculin trong hội chứng ruột kích thích (IBS) phù hợp với nghiên cứu trước đây cho thấy Vinculin là chất điều hòa quan trọng của hệ thần kinh ruột. **Mục tiêu:** Xây dựng quy trình định lượng nồng độ anti Vinculin trong huyết thanh bằng kỹ thuật Elisa gián tiếp. So sánh nồng độ anti Vinculin ở nhóm hội chứng ruột kích thích và người khỏe mạnh. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả trên hai nhóm: 251 bệnh nhân được chẩn đoán hội chứng ruột kích thích thể tiêu chảy tại bệnh viện Thanh Nhàn và nhóm 31 đối chứng khỏe mạnh. Thực hiện các thử nghiệm trong phòng thí nghiệm nhằm tối ưu hóa quy trình định lượng anti-Vinculin. **Kết quả:** Đã xây dựng được quy trình phát hiện anti Vinculin và có sự khác biệt về nồng độ anti vinculin ở nhóm IBS và người bình thường với $p < 0.001$. **Kết luận:** Có thể xác định được nồng độ kháng thể kháng Vinculin trong huyết thanh bằng phương pháp

Elisa. Nồng độ Anti vinculin huyết thanh tăng cao hơn ở nhóm hội chứng ruột kích thích so với nhóm tình nguyện.

Từ khóa: Hội chứng ruột kích thích thể tiêu chảy, anti-vinculin, IBS

SUMMARY

ESTABLISHING THE PROCESS ANTI VINCULIN ANTIBODY CONCENTRATIONS IN SERUM BY ELISA TECHNIQUE, APPLICATIONS TO DETECT IRRITABLE BOWEL SYNDROME

Vinculin is a cytoplasmic protein that binds to actin and is involved in cell adhesion. The presence of anti-vinculin autoantibodies in IBS is consistent with prior studies which have implicated vinculin as an important regulator of the enteric nervous system. **Objectives:** establishing the process for anti vinculin antibody in serum by indirect elisa, Comparison anti-Vinculin concentrations irritable bowel syndrome (IBS) with healthy people group. **Subjects and methods:** A cross-sectional descriptive study two groups: 251 IBS patients and 31 healthy controls. **Results:** there was a difference in anti-vinculin concentrations in the IBS group and normal people with $p < 0.001$. **Conclusion:** Serum Anti-Vinculin antibody levels can be determined by the Elisa. Serum Anti-vinculin concentrations in the irritable

¹Bệnh viện Thanh Nhàn

²Viện Công nghệ Sinh học

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thu Lê

SĐT: 0388352636

Email: nguyenthithule8387@gmail.com

Ngày nhận bài: 7.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 8.7.2023

bowel syndrome group were higher the volunteers.

Keywords: irritable bowel syndrome, anti-Vinculin, Vinculin

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vinculin là một protein có trọng lượng phân tử 116 kDa, bao gồm 1066 axit amin được phát hiện nhiều nhất ở những vùng mà tế bào tiếp xúc với nhau. Vinculin được biết như là chất kết dính nền tế bào. Trong lớp liên kết actin, vinculin tạo điều kiện cho việc tập hợp các protein bổ sung để điều chỉnh động lực kết dính khu trú và cho phép di chuyển tế bào hiệu quả. Các tế bào thiếu vinculin biểu hiện tính kết dính và các đặc tính di chuyển bị thay đổi. Vinculin liên quan đến sự di chuyển tế bào thần kinh và tăng trưởng sợi trục tế bào thần kinh đường tiêu hóa. Các kháng thể kháng Vinculin lần đầu tiên được phát hiện ở IBS và người ta thấy rằng có giá trị phân biệt IBD và IBS nhưng không có tính đặc hiệu cao ở IBS và bệnh dạ dày ruột. Dữ liệu trong IBS gợi ý rằng độc tố được tạo ra bởi vi khuẩn thường gây ra viêm dạ dày ruột và IBS tiếp theo có thể dẫn đến tự kháng thể phản ứng chéo với Vinculin và làm suy giảm khả năng vận động đường ruột. Nhiều nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng kháng thể Anti Vinculin có giá trị phân biệt IBS và IBD [1]. Ý nghĩa lâm sàng của việc tìm Anti-vinculin có thể hữu ích cho việc phân biệt các bệnh lý đường ruột liên quan đến kháng thể tự miễn tuy nhiên trên thị trường chưa có KIT thương mại phát hiện Anti Vinculin antibody trong máu, đó là lý do nhóm nghiên cứu thực hiện rất nhiều thử nghiệm trong phòng thí nghiệm với mục tiêu:

1. *Xây dựng quy trình định lượng nồng độ anti Vinculin trong huyết thanh bằng kỹ thuật Elisa gián tiếp.*

2. *So sánh nồng độ anti Vinculin huyết thanh ở nhóm IBS và người khỏe mạnh.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: thực hiện trên 2 nhóm: 215 bệnh nhân được chẩn đoán xác định hội chứng ruột kích thích thể tiêu chảy tại bệnh viện Thanh Nhân và 31 người bình thường khỏe mạnh

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân IBS thể tiêu chảy theo tiêu chuẩn Rome IV:

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

2.3. Kỹ thuật thực hiện xét nghiệm anti-vinculin

Lấy và bảo quản mẫu bệnh phẩm anti-vinculin:

Mẫu bệnh phẩm huyết thanh được sử dụng cho xét nghiệm anti-vinculin. Mẫu sẽ được bảo quản ở điều kiện -20°C .

Hóa chất sinh phẩm: Hóa chất sinh phẩm cho nghiên cứu được lựa chọn như sau: Protein vinculin có chiều dài đầy đủ của người (Ab131747, Abcam); các loại đệm borate pH8.2 (Sigma Aldrich), PBS (ThermoFisher), coating buffer; kháng thể kháng vinculin (Ab219649, Abcam); cộng hợp kháng thể kháng Ig người gắn HRP (Ab102420, Abcam); TMB (Ab171523, Abcam); H_2SO_4 (Ab210900, Abcam), Tween 20 (Sigma Aldrich), H_2O free RNase và DNase, đĩa 96 giếng, các loại đầu tip, ống falcon 15 mL và 50 mL, eppendorf 1.5 mL.

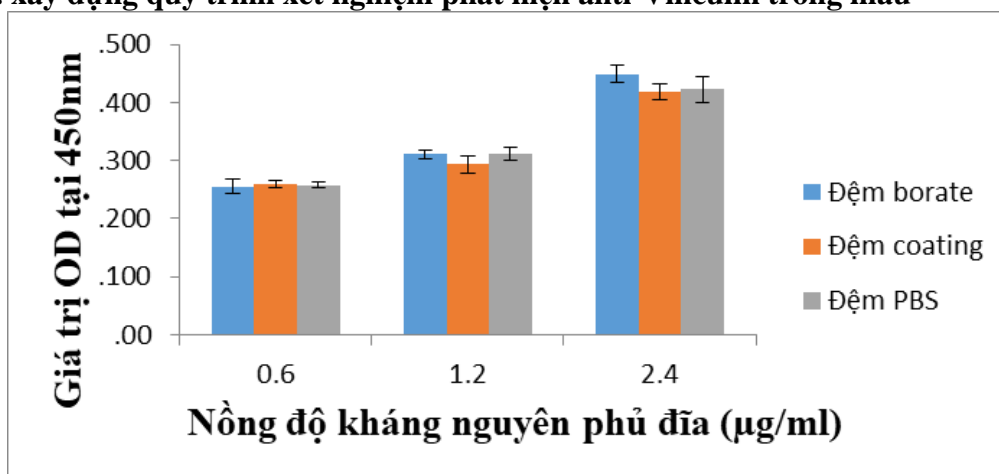
Phương pháp xét nghiệm ELISA gián tiếp

2.4. Địa điểm nghiên cứu: Khoa Hóa sinh bệnh viện Thanh Nhân

2.5. Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu được Ủy ban nhân dân thành phố Hà Nội cho phép thực hiện theo quyết định số 3723/QĐ-UBND ngày 27/1/2021 và được thông qua hội đồng đạo đức bệnh viện Thanh Nhân theo quyết định số 31/BVTN-HĐĐĐ

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

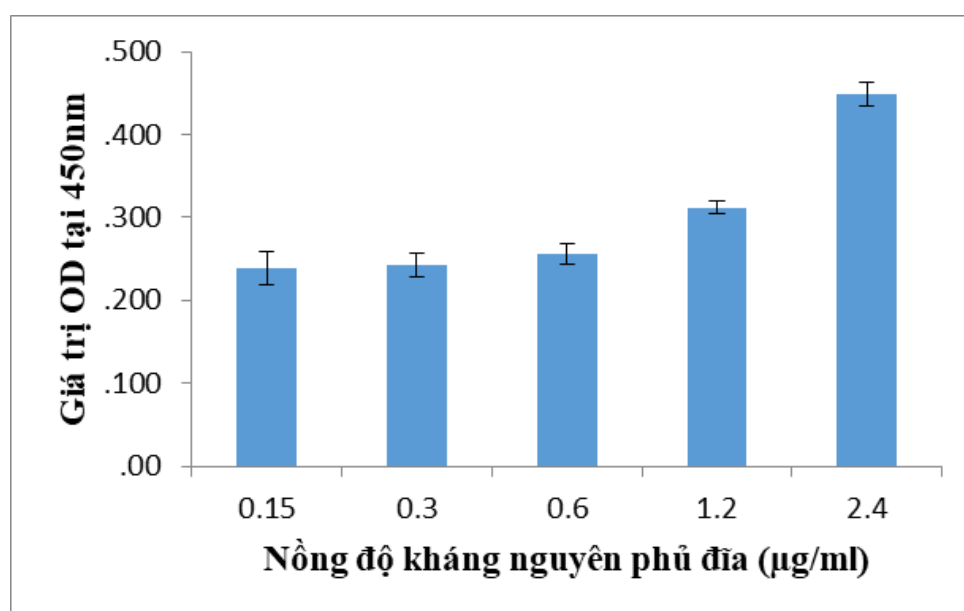
3.1. xây dựng quy trình xét nghiệm phát hiện anti-Vinculin trong máu



Hình 1. So sánh giá trị OD khi sử dụng các đệm phủ khác nhau để lựa chọn hệ đệm phù hợp cố định kháng nguyên vinculin

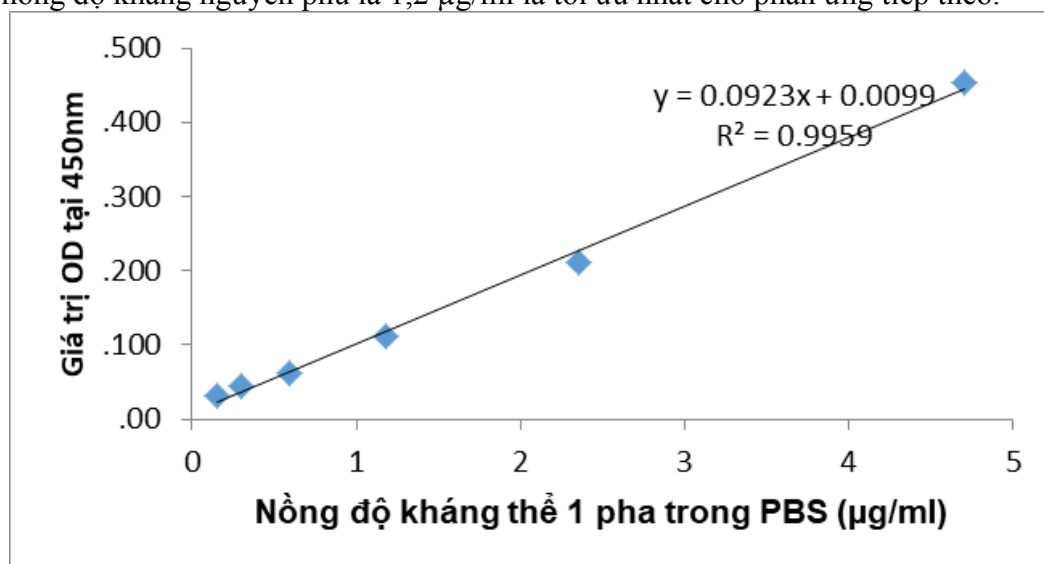
Nhận xét: So sánh độ hấp phụ của cùng một nồng độ kháng nguyên pha trong ba loại đệm khác nhau tại bước sóng 450 nm, với mẫu chứa nồng độ kháng nguyên là 0.6 µg/ml giá trị hấp phụ ở cả ba loại đệm là tương đương với nhau. Tuy nhiên, khi nồng độ kháng nguyên phủ pha trong đệm borate tăng lên đến 1.2 µg/ml và 2.4 µg/ml thì giá

trị hấp phụ thu được cao hơn so với hai loại đệm coating và PBS. Như vậy, đệm borate là loại đệm phù hợp nhất và tốt nhất trong ba loại đệm đã thử nghiệm cho việc gắn kết của kháng nguyên vinculin trên đĩa. Do đó, chúng tôi đã chọn đệm borate cho các thí nghiệm tiếp theo.



Hình 2: Tối ưu lượng kháng nguyên vinculin cố định trên đĩa

Nhận xét: Dùng kháng thể Vinculin chuẩn để phát hiện các KN gắn đĩa ở các mức nồng độ khác nhau ở mức 1,2 µg/ml và 2,4 µg/ml có độ hấp phụ thu được là cao hơn đáng kể so với các nồng độ kháng nguyên phủ đĩa thấp hơn và sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Lựa chọn nồng độ kháng nguyên phủ là 1,2 µg/ml là tối ưu nhất cho phản ứng tiếp theo.



Hình 3: Kết quả xây dựng đường chuẩn cho xác định kháng thể kháng vinculin

Nhận xét: Kháng thể kháng vinculin chuẩn được pha vào PBS với nồng độ 4.8 µg/ml (nồng độ này tương ứng với độ pha loãng kháng thể chuẩn 1:125). Sau đó tiếp tục pha loãng 2, 4, 8, 16, 32 lần cho đến nồng độ 0.15 µg/ml (nồng độ này tương ứng với độ pha loãng kháng thể chuẩn 1:4000) giá trị hấp phụ tại bước sóng 450 nm thu được tăng

dần lên và tỷ lệ thuận với nồng độ kháng thể kháng vinculin có trong mẫu. Trên cơ sở các giá trị OD thu được đã xây dựng được một đường thẳng tuyến tính với phương trình $y = 0.0923x + 0.0099$ và hằng số $R^2 = 0.9959$.

3.2. So sánh nồng độ anti Vinculin ở nhóm IBS và người khỏe mạnh

Bảng 1. Đặc điểm về tuổi và giới

Nhóm NC	IBS	Nhóm tình nguyện	Chung
n	215	31	246
Tỷ lệ (%)	67,8	9,8	77,6
Nam	103	24	127
Nữ	112	7	117
p	0,02		
Tuổi trung bình (năm) Mean (SD)	48,7 (13,2)	43,1 (11,3)	46,7 (13,0)
Tuổi lớn nhất	78	68	15
Tuổi nhỏ nhất	21	24	78
P (T test)	0.78		

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tuổi ở nhóm IBS và nhóm tình nguyện
Tỷ lệ nữ mắc IBS nhiều hơn nam

Bảng 2: So sánh nồng độ anti vinculin

Nhóm NC	IBS	Nhóm tình nguyện
n	215	31
Anti Vinculin (OD) (Median (IQR))	1,9 (1,2)	1,4 (0,6)
p	0,001	

Nhận xét: Vinculin huyết thanh ở nhóm IBS cao hơn có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) so với nhóm tình nguyện.

IV. BÀN LUẬN

ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay – xét nghiệm hấp thụ miễn dịch liên kết với enzyme) có nhiều dạng mà đặc điểm chung là đều dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể. Xét nghiệm bằng kỹ thuật này khá nhạy và đơn giản, cho phép việc xác định kháng nguyên hoặc kháng thể ở một nồng độ rất thấp (khoảng 0,1ng/ml). So với các xét nghiệm sử dụng kỹ thuật miễn dịch phóng xạ RIA thì xét nghiệm bằng kỹ thuật này có giá tiền rẻ hơn và an toàn hơn, song vẫn đảm bảo độ chính xác như nhau. ELISA được chia thành các loại phổ biến như ELISA trực tiếp, ELISA gián tiếp, ELISA sandwich và ELISA cạnh tranh. Mỗi loại có cách tiến hành khác biệt tuy nhiên cùng đều dựa trên nguyên lý chung là phản ứng bắt cặp đặc hiệu giữa kháng nguyên – kháng thể. Sau khi kháng nguyên được cố định trên đĩa, các kháng thể phát hiện được thêm vào và tạo thành một phức hợp kháng nguyên – kháng thể. Các kháng thể phát hiện được liên kết với một loại enzyme hoặc được liên kết với một kháng thể thứ cấp mang enzyme thông qua liên kết cộng hóa trị giữa các phân tử sinh học. Số lượng enzyme phân hủy cơ chất tỉ lệ thuận với cường độ màu qua đó tỷ lệ với lượng kháng nguyên ban đầu. Với mục đích tìm kháng thể anti Vinculin trong máu nhưng chưa được tối ưu hóa các bước (chưa có KIT

thương mại), nhóm nghiên cứu đã tiến hành hàng loạt các thử nghiệm để chọn hệ đệm, tối ưu hóa nồng độ kháng nguyên gắn đĩa, xây dựng đường chuẩn kết quả đã xây dựng được quy trình xác định anti Vinculin trong máu như sau: (1) Phủ mỗi giếng của khay ELISA với 50 µl kháng nguyên vinculin pha loãng đến nồng độ 1,2 ng/µl trong đệm borate. Ủ 4°C qua đêm. Giếng được phủ xen kẽ kháng nguyên và không kháng nguyên để xác định liên kết không đặc hiệu của huyết thanh. (2) Loại bỏ dung dịch và rửa qua bằng PBS 1X. (3) Block mỗi giếng bằng 300 µl dung dịch chứa 5% skim milk trong đệm borate. Ủ khay ở 37°C, 1h. (4) Loại bỏ dung dịch và rửa khay bằng PBS 1X ba lần. (5) Thêm 100 µl huyết thanh bệnh nhân đã pha loãng 20 lần trong PBS, ủ khay ở 37°C, 1h. (6) Loại bỏ dung dịch và rửa khay bằng PBS 1x + 0.05% Tween 20 ba lần. (7) Thêm 100 µl kháng thể 2 cộng hợp HRP đã pha loãng 20.000 lần, ủ khay ở 37°C, 1h. (8) Loại bỏ dung dịch và rửa khay bằng PBS 1x + 0.05% Tween 20 ba lần. (9) Thêm 100 µl cơ chất TMB, ủ 15 phút ở nhiệt độ phòng. (10) Stop phản ứng bằng 100 µl stop solution. (11) Đo OD tại 450 nm.

Sau khi chuẩn hóa quy trình với điều kiện tối ưu chúng tôi thực hiện trên các mẫu IBS và mẫu chứng thu thập được. Theo kết quả nghiên cứu hai nhóm nghiên cứu là tương đồng nhau về các đặc điểm tuổi trung bình và đặc điểm giới. Độ tuổi trung bình của nhóm IBS-D trong nghiên cứu này là 48,7 tuổi nhỏ nhất là 21 lớn nhất là 78. Nhóm bệnh nhân IBS có tỷ lệ gặp ở nữ nhiều hơn nam, kết quả

này phù hợp với nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy yếu tố nguy cơ được chứng minh rõ nhất đối với IBS là giới tính nữ, có liên quan đến tỷ lệ chênh lệch là 1,67 (KTC 95%: 1,53–1,82) qua nhiều nghiên cứu dựa trên dân số [2]. này được giải thích do sự khác nhau giữa hành vi tư vấn, chăm sóc sức khỏe khác nhau giữa các giới tính và chức năng sinh học (ví dụ, điều hòa nội tiết tố của chức năng ruột).

So sánh giá trị nồng độ anti vinculin ở hai nhóm nghiên cứu kết quả chúng tôi nhận thấy có sự khác biệt về nồng độ anti Vinculin ở nhóm IBS và người bình thường với $p < 0,001$. Kết quả này cũng phù hợp với các nghiên cứu khác trên thế giới. Maysaa El Sayed Zaki trong nghiên cứu năm 2021 thực hiện trên các mẫu máu từ 100 đối tượng IBS và 100 đối tượng khỏe mạnh đã được thử nghiệm. Kết quả mật độ quang học (OD) của nồng độ anti-vinculin tăng đáng kể ở những bệnh nhân mắc IBS ($1,58 \pm 0,496$ OD, $2,47 \pm 0,60$ OD) khi so sánh với các đối tượng kiểm soát ($1,13 \pm 0,249$ OD, $2,1 \pm 0,24$ OD), tương ứng với $P=0,001$ cho cả hai [3]. Mức độ kháng vinculin ở phân nhóm IBS-D cao hơn đáng kể so với các phân nhóm khác ($P=0,001$). Một số nghiên cứu khác cũng ủng hộ việc sử dụng Anti-vinculin là một công cụ đầu tiên để chẩn đoán sự hiện diện của IBS-D/ IBS-M theo tiêu chí Rome II[4]. Một nghiên cứu lớn đa trung tâm với 2375 đối tượng IBS thể tiêu chảy dựa trên tiêu chí Rome, 142 đối tượng mắc bệnh IBD và 43 đối chứng khỏe mạnh. Với mục đích đánh giá các kháng thể kháng vinculin đang lưu hành như là dấu ấn sinh học cho IBS-D ở người, các kết quả nghiên cứu khẳng định hiệu giá anti-vinculin cao hơn đáng kể trong IBS ($P < 0,001$) so với các nhóm khác. Tối ưu hóa cho thấy rằng đối với anti-vinculin (mật

độ quang ≥ 1.68), độ đặc hiệu, độ nhạy và tỷ lệ chẩn đoán tương ứng là 83,8%, 32,6% và 2,0. Những kết quả này xác nhận rằng các kháng thể anti-vinculin tăng cao trong IBS-D so với các đối tượng không IBS [5].

V. KẾT LUẬN

Đã xây dựng được quy trình xác định nồng độ Anti Vinculin trong huyết thanh bằng kỹ thuật Elisa.

Nồng độ Anti Vinculin ở nhóm IBS cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm không mắc bệnh

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Morales, W., et al.**, Second-Generation Biomarker Testing for Irritable Bowel Syndrome Using Plasma Anti-CdtB and Anti-Vinculin Levels. *Dig Dis Sci*, 2019. 64(11): p. 3115-3121.
2. **Lovell, R.M. and A.C. Ford**, Effect of gender on prevalence of irritable bowel syndrome in the community: systematic review and meta-analysis. *Am J Gastroenterol*, 2012. 107(7): p. 991-1000.
3. **Zaki, M.E.S., et al.**, Study of Antibodies to Cytolethal Distending Toxin B (CdtB) and Antibodies to Vinculin in Patients with Irritable Bowel Syndrome. *F1000Res*, 2021. 10: p. 303.
4. **Schmulson, M., R. Balbuena, and C. Corona de Law**, Clinical experience with the use of anti-CdtB and anti-vinculin antibodies in patients with diarrhea in Mexico. *Rev Gastroenterol Mex*, 2016. 81(4): p. 236-239.
5. **Pimentel, M., et al.**, Development and validation of a biomarker for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome in human subjects. *PLoS One*, 2015. 10(5): p. e0126438.

SỰ LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ FERRITIN HUYẾT TƯƠNG VỚI CÁC ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ CẬN LÂM SÀNG Ở BỆNH NHÂN NHIỄM COVID 19

Hồ Thị Hằng¹, Phạm Văn Trân¹,
Hoàng Thị Minh¹, Đinh Trọng Hà²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Một trong những thông số để đánh giá mức độ nghiêm trọng của bệnh COVID-19 là nồng độ ferritin máu. Mục tiêu của nghiên cứu này là khảo sát nồng độ và mối liên quan của Ferritin huyết tương (FHT) với các chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng ở bệnh nhân (BN) Covid-19. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện trên 155 đối tượng là BN mắc COVID-19, tại bệnh viện Quân y 103 từ tháng 02/2022 đến tháng 12/2022. Nồng độ FTH được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy DXI800 (Backman Coulter, Hoa Kỳ). **Kết quả:** Nồng độ Ferritin tăng theo mức độ bệnh, có sự khác biệt về nồng độ trung bình của Ferritin giữa các nhóm nhẹ, vừa, nặng ($p=0.000$). Ngưỡng ferritin phân biệt BN nhẹ-vừa là 150,6 ng/mL, phân biệt BN nặng là 446,08 ng/mL. Nồng độ FTH có mối tương quan nghịch mức độ nhẹ với SpO₂ (%) ($r = -0.173$, $p = 0.031$), tương quan thuận mức độ nhẹ với nồng độ LDH ($r = 0.176$, $p = 0.0028$), tương quan thuận mức độ vừa với nồng độ CRP và số lượng bạch cầu ($r = 0.496$, p

$= 0.000$; $r = 0.409$, $p = 0.000$). **Kết luận:** Nồng độ FTH quan với mức độ nghiêm trọng của COVID-19. Ngưỡng ferritin ở mức độ từ nhẹ đến trung bình của COVID-19 là 150,6 ng/mL và ngưỡng nặng là 446,08 ng/mL. Nồng độ FTH có mối tương quan nghịch mức độ nhẹ với SpO₂ (%) và nồng độ Albumin huyết tương, tương quan thuận mức độ nhẹ với nồng độ glucose, hoạt độ GPT và LDH, tương quan thuận mức độ vừa với nồng độ Bilirubin TP, CRP và số lượng bạch cầu.

SUMMARY

THE RELATIONSHIP BETWEEN PLASMA FERRITIN LEVELS AND CLINICAL AND SUBCLINICAL INDICATORS IN COVID-19 PATIENTS

Objective: One of the parameters to assess the severity of COVID-19 disease is blood ferritin concentration. The objective of this study was to investigate the concentration and relationship of plasma ferritin (PF) with clinical and subclinical indicators in Covid-19 patients. **Subjects and research methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 155 subjects who were patients with COVID-19, at Military Hospital 103 from February 2022 to December 2022. Plasma ferritin concentrations were quantified by chemiluminescence immunoassay on a DXI800 machine (Backman Coulter, USA). **Results:** Ferritin concentration increased with disease severity, there was a difference in average concentration of Ferritin

¹Bộ môn Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Quân y 103

²Bộ môn Sinh lý học, Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Đinh Trọng Hà

SĐT: 0944030928

Email: khimomo2014@gmail.com

Ngày nhận bài: 3.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Nguyễn Nghiêm Luật

Ngày duyệt bài: 5.7.2023

between light, moderate, and severe groups ($p = 0.000$). The ferritin threshold that differentiates mild-moderate patients is 150.6 ng/mL, and distinguishes severe patients is 446.08 ng/mL. PF concentration has a slight negative correlation with SpO₂ (%) ($r = -0.173$, $p = 0.031$), a slight positive correlation with LDH concentration ($r = 0.176$, $p = 0.0028$). Moderately positive relationship with CRP concentration and white blood cell count ($r = 0.496$, $p = 0.000$; $r = 0.409$, $p = 0.000$). **Conclusion:** Serum ferritin levels correlate with severity of COVID-19. The ferritin threshold for mild to moderate COVID-19 is 150.6 ng/mL and the severe threshold is 446.08 ng/mL. PF concentration has a slight negative correlation with SpO₂ (%) and plasma albumin concentration, a slight positive correlation with glucose concentration, GPT and LDH activity, and a moderate positive correlation with serum concentration. Bilirubin TP, CRP and white blood cell count.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh COVID-19 đã diễn ra ở tất cả các quốc gia trên thế giới với hơn 596.2 triệu người nhiễm và 6,45 triệu ca tử vong.

Việc sử dụng kết quả xét nghiệm trong theo dõi tiến triển bệnh COVID-19 giúp người bác sĩ lâm sàng có thêm bằng chứng cụ thể, mang tính chất định lượng để đánh giá tình trạng BN. Các nghiên cứu về mối tương quan giữa sự thay đổi của các dấu ấn sinh học như CRP, fibrinogen, ferritin, D-dimer và IL-6 với mức độ nghiêm trọng của bệnh. Trong đó, ferritin là những dấu ấn sinh học được cho là vượt trội hơn trong theo dõi tiến triển và tiên lượng cho BN [1, 2]. Tuy nhiên, các nghiên cứu trong nước vẫn chưa đầy đủ. Mục tiêu của nghiên cứu: *“Khảo sát nồng độ ferritin và mối liên quan với một số*

chỉ số lâm sàng, cận lâm sàng trên BN COVID-19”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 155 BN được chẩn đoán mắc Covid -19, điều trị tại khoa Truyền Nhiễm - Bệnh viện Quân y 103, bao gồm 35 BN nặng, 70 BN vừa, 50 BN nhẹ.

BN được chẩn đoán mắc Covid -19 ba mức độ: nhẹ, vừa, nặng theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị COVID-19 do chúng tôi rút Corona mới (SARS-CoV-2) của Bộ y tế.

Loại khỏi nghiên cứu các trường hợp: Mắc các bệnh lý viêm nhiễm trùng cấp tính khác. Mắc các bệnh tự miễn: lupus ban đỏ, viêm khớp dạng thấp. Mắc các bệnh lý ác tính như u tương bào, u tuỷ, u lympho, bệnh bạch cầu, ung thư buồng trứng. Người sử dụng thuốc ức chế miễn dịch kéo dài.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tất cả các BN đều được hỏi bệnh về tiền sử mắc các bệnh lý nền, sử dụng các thuốc, các triệu chứng khởi phát, tiền sử gia đình... Khám lâm sàng phát hiện các bệnh lý kết hợp, đo tần số thở, SpO₂ (%). Chụp X quang phổi thẳng nghiêng... Các mẫu máu được lấy theo một quy trình thông nhất. BN được yêu cầu nhịn ăn từ 22h tối hôm trước đến 7h sáng hôm sau để lấy mẫu máu. Lấy 3ml máu tĩnh mạch ngoại vi chống đông bằng heparin, ly tâm, tách lấy huyết tương để làm xét nghiệm hóa sinh và miễn dịch.

Các chỉ số hóa sinh được phân tích trên hệ thống AU5800 (Beckman Coulter, Hoa Kỳ). FHT được định lượng bằng phương pháp miễn dịch hóa phát quang trên máy xét nghiệm miễn dịch DXI800 (Beckman Coulter, Hoa Kỳ). Công thức máu được thực hiện trên hệ thống DXH600 (Beckman Coulter, Hoa Kỳ).

2.3. Phân tích thống kê

Quản lý các số liệu bằng Microsoft Office Excel 2019. Phân tích bằng SPSS 22.0. Kiểm định Kruskal Wallis, One-way ANOVA, Pearson's và Spearman được sử dụng. Đường cong ROC xác định điểm cắt

phân biệt mức độ bệnh từ nhẹ đến vừa, nặng.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Đề tài đã thông qua Hội đồng đạo đức cấp cơ sở Bệnh viện Quân y 103 theo Phiếu Chấp thuận số 157/CNChT-HĐĐĐ ngày 25 tháng 11 năm 2022.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Các đặc điểm của đối tượng nghiên cứu được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	n (155)	%
Giới		
Nam	89	57,4
Nữ	66	42,6
Tuổi ($X_{tb} \pm SD$)	52 ± 22	
Bệnh kèm theo		
Tăng huyết áp	51	32,9
Đái tháo đường	32	20,6
Bệnh khác	88	56,8
Mức độ bệnh		
Nhẹ	50	32,3
Vừa	70	45,2
Nặng	35	22,4

Bảng 1 cho thấy tỷ lệ nam mắc cao hơn nữ, độ tuổi trung bình của BN mắc Covid -19 là 52 ± 22. Đa phần BN mắc COVID -19 bị mắc ít nhất một bệnh kèm theo như THA hoặc ĐTĐ.

Bảng 2. Đặc điểm cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm nhẹ (50)	Nhóm vừa (70)	Nhóm nặng (35)	p
Tần số thở	18 ± 1.11	19 ± 2.35	22 ± 3.13	0.000**
SpO ₂	97 ± 1.39	96 ± 1.88	95 ± 3.91	0.000**
Protein TP(g/L)	71.52 (57.16– 85.13)	73.5 (26.43 – 94.43)	67.97 (46.29 – 80.88)	0.014*
Albumin (g/L)	38.56 (26.7 – 46.25)	37.3 (16.35 – 53.74)	33.88 (19.24 – 40.68)	0.000*
Bạch cầu (G/L)	6.28 (3.1- 18.9)	6.5 (3.9 -19.3)	8.7 (2.9 – 22.1)	0.005*
Hồng cầu (G/L)	4.46 (2.37- 5.39)	4.335 (2.23 – 6.3)	4.07 (1.69 – 5.26)	0.029*
PT-(s)	11.65	12.45	12.7	0.04*

	(10 -22.4)	(9.6 – 22.7)	(10.1 – 28.1)	
PT %	98 (41 – 125)	88 (39 – 137)	85 (29 – 126)	0.035*
INR	1.02 (0.87 – 1.92)	1.085 (0.84 – 1.95)	1.1 (0.91- 2.58)	0.037*
CRP (mg/L)	8.73 (0.28 – 262.73)	15.37 (0.77- 160.0)	53.48 (0.37- 358.04)	0.000*
LDH (U/L)	164.40 (111.10-500.5)	174.08 (94.20-1450.04)	217.00 (109.63- 864.70)	0.001*

* Kiểm định kruskal-wallis; ** Kiểm định One-way ANOVA

Bảng 2 cho thấy có sự khác biệt về tần số thở, SpO2 (%), nồng độ protein TP, albumin, CRP, LDH, số lượng bạch cầu, số lượng hồng cầu và các chỉ số phản ánh tình trạng đông máu giữa các mức độ bệnh.

3.2. Nồng độ Ferritin

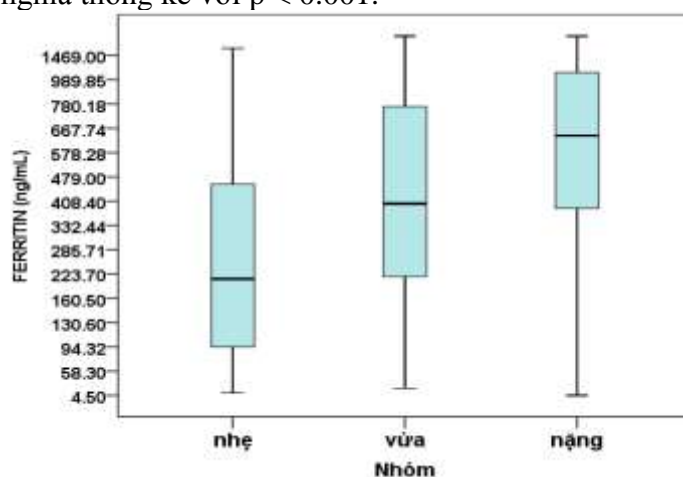
Nồng độ Ferritin của đối tượng nghiên cứu được thể hiện trong Bảng 3 và hình 1

Bảng 3. So sánh nồng độ Ferritin của đối tượng nghiên cứu

Nhóm	Nhóm nhẹ	Nhóm vừa	Nhóm nặng	p*
Feritin (ng/mL)				
Min-Max	6.6 – 1566.8	15.3 - 2000	4.5 - 2000	0.000
Tứ phân vị 1	95.115	218.24	423.03	
Trung vị	207.11	400.945	625.50	
Tứ phân vị 1	450.68	754.958	1174.32	

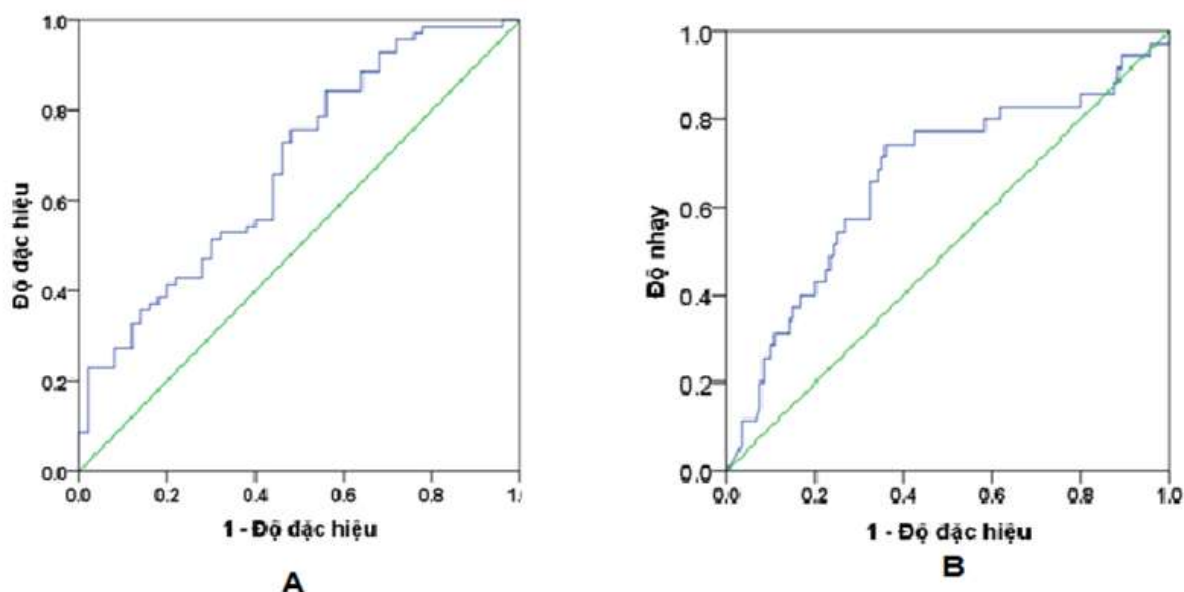
* Kiểm định kruskal-wallis

Các kết quả ở Bảng 2 cho thấy nồng độ ferritin tăng theo mức độ bệnh, giữa các mức độ bệnh khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0.001$.



Hình 1. Nồng độ ferritin ở đối tượng nghiên cứu

Hình 1 cho thấy giá trị nồng độ ferritin ở các đối tượng nghiên cứu phân phối không chuẩn, tăng dần theo mức độ bệnh, thấp nhất ở nhóm BN nhẹ, cao nhất ở nhóm BN nặng.



Hình 2. Đường cong ROC của nồng độ FTH giữa mức độ nhẹ và mức độ trung bình (A) và phân biệt mức độ nặng (B) của đối tượng nghiên cứu

Hình A: Diện tích dưới đường cong ROC (AUC) là 0,678; với $p = 0.001$; Điểm cắt 150,6 ng/mL. Nồng ferritiin có giá trị trong phân biệt giữa nhóm BN nhân mức độ nhẹ và trung bình với độ nhạy 84,3%, độ đặc hiệu 44%, Giá trị tiên đoán dương (PPV) 67,8 %, Giá trị dự đoán âm (NPV) 66,7 %.

Hình B: Diện tích dưới đường cong ROC (AUC) là 0,668; với $p = 0.003$; Điểm cắt

446.08 ng/mL. Nồng ferritiin có giá trị trong phân biệt nhóm BN mức độ nặng với độ nhạy 74,3%, độ đặc hiệu 64.2%, Giá trị tiên đoán dương (PPV) 37.7 %, Giá trị dự đoán âm (NPV) 89.5 %.

3.3. Sự tương quan giữa nồng độ Ferritin huyết tương với các chỉ số về lâm sàng và cận lâm sàng

Bảng 3. Sự tương quan giữa nồng độ ferritin với tuổi, giới và mức độ bệnh

Đặc điểm	Ferritin (ng/mL)	
	r	p
Tuổi	0.252	0.002*
Giới		
Nam (89)	-0.337	0.000**
Nữ (66)		
Mức độ bệnh		
Nhóm nhẹ (50)	0.352	0.000**
Nhóm vừa (70)		
Nhóm nặng (35)		

*Kiểm định tương quan Pearson's;

**Spearman correlation test; r: hệ số tương quan tuyến tính

Bảng 3 cho thấy nồng độ FTH ở BN COVID-19 có tương quan nghịch với giới, tương quan thuận với tuổi và mức độ bệnh.

Bảng 4. Sự tương quan giữa nồng độ ferritin với một số chỉ số cận lâm sàng

Đặc điểm	Ferritin (ng/mL)	
	r	p*
Tso thở	0.332	0.000
SpO2 (%)	-0.173	0.031
Glucose	0.221	0.006
Albumin	-0.298	0.000
Bilirubin TP	0.360	0.000
GPT	0.268	0.001
LDH	0.176	0.028
CRP	0.496	0.000
WBC	0.409	0.000

Bảng 4 cho thấy nồng độ FTH có mối tương quan nghịch mức độ nhẹ với SpO2 (%) và nồng độ Albumin huyết tương ($r = -0.173$, $p = 0.031$; $r = -0.298$, $p = 0.000$), tương quan thuận mức độ nhẹ với nồng độ glucose, hoạt độ GPT và LDH ($r = 0.021$, $p = 0.006$; $r = 0.268$, $p = 0.001$; $r = 0.176$, $p = 0.0028$), tương quan thuận mức độ vừa với nồng độ Bilirubin TP, CRP và số lượng bạch cầu ($r = 0.36$, $p = 0.000$; $r = 0.496$, $p = 0.000$; $r = 0.409$, $p = 0.000$).

IV. BÀN LUẬN

Nghiên cứu trên 155 BN được xác định mắc COVID-19 trong đó có 50 BN mức độ nhẹ (32,3%), 70 BN mức độ vừa (45,2%), 35 BN nặng (22,4%) chúng tôi thấy rằng nồng độ Ferritin tăng dần theo mức độ bệnh (Hình 1), có sự khác biệt về nồng độ trung bình của Ferritin giữa các nhóm nhẹ, vừa, nặng ($p=0.000$). Ngưỡng ferritin phân biệt BN nhẹ-vừa là 150,6 ng/mL (AUC = 0.678) và ngưỡng ngưỡng ferritin phân biệt BN nặng là 446.08 ng/mL (AUC = 0.668) (Hình 2). Dường như có một số khả năng dự đoán vừa phải trong việc ferritin có thể phân biệt mức độ bệnh. Tương tự như vậy, Bennouar S và CS cũng đã báo cáo AUC là 0,63 cho dự đoán mức độ nghiêm trọng trong một nhóm

gồm 330 BN người Algeria mắc COVID-19 trong khoảng thời gian từ ngày 27 tháng 3 đến ngày 22 tháng 4 năm 2020 [3]. Nghiên cứu của Jonathan và CS, dựa trên đánh giá hồi cứu 942 trường hợp COVID-19 trưởng thành cũng đã báo cáo AUC gần như tương tự khi dự báo tử vong và mức độ nghiêm trọng ở COVID-19, lần lượt là 0,63 và 0,68 [4]. Maghfirah AI và CS nghiên cứu trên 67 BN COVID-19 cho thấy nồng độ ferritin trong huyết thanh tương quan với mức độ nghiêm trọng của COVID-19. Ngưỡng ferritin ở mức độ nghiêm trọng từ nhẹ đến trung bình của COVID-19=153,89 ng/mL và ngưỡng ferritin khi tử vong=1145,54 ng/mL[5].

Chúng tôi đã nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ FTH với các chỉ số lâm sàng và cận lâm sàng. Kết quả thu được là nồng độ FTH ở BN COVID-19 có tương quan nghịch với giới tính, tương quan thuận với tuổi và mức độ bệnh; có mối tương quan nghịch mức độ nhẹ với SpO2 (%) và nồng độ Albumin huyết tương, tương quan thuận mức độ nhẹ với nồng độ glucose, hoạt độ GPT và LDH, tương quan thuận mức độ vừa với nồng độ Bilirubin TP, CRP và số lượng bạch cầu (bảng 3 và bảng 4). Kết quả này phù hợp với các báo cáo gần đây cho thấy mức độ cao

của CRP, LDH và ferritin có liên quan đến diễn biến lâm sàng nghiêm trọng hơn và có thể dự đoán tiên lượng xấu [6]. Nhiều báo cáo đã quan sát thấy mức CRP tăng đáng kể ở BN COVID-19 so với người bình thường, hơn nữa, mức CRP cao hơn được tìm thấy ở phần lớn BN COVID-19 bị bệnh nặng so với BN nhẹ hoặc không nặng. Thực tế là CRP, là một protein viêm cấp tính, thường được sử dụng như một dấu hiệu của tình trạng viêm toàn thân. Sự gia tăng nồng độ CRP có liên quan chặt chẽ với việc sản xuất quá mức các cytokine gây viêm cũng như sự phá hủy mô được thấy ở những BN mắc bệnh COVID-19 nghiêm trọng. Trong khi LDH, enzym được phân bố rộng rãi trong tế bào đóng vai trò thiết yếu trong quá trình chuyển hóa carbohydrate thông qua xúc tác chuyển hóa pyruvate thành lactat. Sự gia tăng mức LDH này được coi là một chỉ báo về sự phá hủy mô và tế bào cũng như tổn thương thường do SARS-CoV-2 gây ra. Vì lý do đó, nồng độ LDH tăng cao cũng được coi là yếu tố dự báo tiến triển thành bệnh nặng và tỷ lệ tử vong cao hơn [6, 7].

Kết quả quan sát của chúng tôi cũng cho thấy ferritin có liên quan đáng kể đến rối loạn chức năng gan. Điều này đặt ra câu hỏi liệu những rối loạn chức năng này là kết quả của sự phá hủy mô COVID-19 hay nó có liên quan đến bệnh đi kèm thường liên quan đến bệnh nặng. Các nghiên cứu sâu hơn là cần thiết để điều tra điểm này.

V. KẾT LUẬN

Ngưỡng Ferritin huyết tương ở mức độ nghiêm trọng từ nhẹ đến trung bình của

COVID-19 là 150,6 ng/mL và ngưỡng nặng là 446,08 ng/mL. Ferritin huyết tương có sự tương quan nghịch mức độ nhẹ với SpO₂ (%) và nồng độ Albumin huyết tương, tương quan thuận mức độ nhẹ với nồng độ glucose, hoạt độ GPT và LDH, tương quan thuận mức độ vừa với nồng độ Bilirubin TP, CRP và số lượng bạch cầu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Loomba RS, et al.** Serum biomarkers for prediction of mortality in patients with COVID-19. *Ann Clin Biochem* 2022; 59(1): 15-22.
2. **Samprathi, M and M Jayashree.** Biomarkers in COVID-19: An Up-To-Date Review. *Front Pediatr* 2020; 8: 607647.
3. **Bennouar S, et al.,** Usefulness of biological markers in the early prediction of corona virus disease-2019 severity. *Scand J Clin Lab Invest* 2020; 80(8): 611-618.
4. **Feld J, et al.** Ferritin levels in patients with COVID-19: A poor predictor of mortality and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Int J Lab Hematol* 2020; 42(6): 773-779.
5. **Maghfirah AI, Widaningsih Y and Bahrun U.** Correlation of Serum Ferritin Levels and COVID-19 Severity in Makassar. *J Microbiol Immunol* 2022; 4(1).
6. **Hachim IY, et al.** The inflammatory biomarkers profile of hospitalized patients with COVID-19 and its association with patient's outcome: A single centered study. *PLoS One* 2021; 16(12): e0260537.
7. **Bartziokas K and Kostikas K.** Lactate dehydrogenase, COVID-19 and mortality. *Med Clin (Engl Ed)* 2021; 156(1): 37.

MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN ĐẾN NGUY CƠ DIỄN BIẾN NẶNG TRÊN BỆNH NHÂN COVID-19 TẠI BỆNH VIỆN VIỆT NAM - THUY ĐIỂN UÔNG BÍ

Nguyễn Thị Thu Hà¹, Nguyễn Thị Ngọc Lan^{2,4}, Nguyễn Đức Tuấn^{2,4},
Đặng Công Sơn³, Nguyễn Diệu Thùy², Tạ Thành Văn^{2,4}

TÓM TẮT

Mục tiêu: khảo sát đặc điểm một số chỉ số hóa sinh cơ bản của bệnh nhân COVID-19 tại thời điểm nhập viện và mối liên quan giữa chúng với nguy cơ diễn biến nặng của bệnh nhân. **Đối tượng & Phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang hồi cứu trên 884 đối tượng nghiên cứu được chẩn đoán mắc COVID-19 theo tiêu chuẩn chẩn đoán của BYT và không mắc bệnh lý nền. **Kết quả:** 632 đối tượng nghiên cứu (ĐTNC), chiếm 71%, đã tiêm tối thiểu 2 mũi vaccin trở lên, và 214 ĐTNC (chiếm 24%) chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin, tỷ lệ diễn biến nặng ở 2 nhóm lần lượt là 4,9% và 13,7%, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê. Trong toàn bộ ĐTNC, nguy cơ diễn biến nặng của nhóm bệnh nhân trên 50 tuổi cao gấp 4,03 lần so với nhóm dưới 50 tuổi (95%CI 2.03-7.07, $p < 0,001$), đặc biệt trong nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin, nguy cơ này tăng lên tới 11,23 lần (95%CI 3,55-35,53; $p < 0,001$). Hơn thế nữa, nguy cơ diễn biến nặng của nhóm bệnh nhân có bất

thường về chỉ số glucose máu, CRP khi nhập viện cũng lần lượt cao hơn 1,8 lần (95%CI 1,10-2,94, $p < 0,01$) và 2,07 lần (95%CI 1,24- 3,47, $p < 0,01$) so với nhóm có chỉ số bình thường. **Kết luận:** trong nhóm bệnh nhân COVID-19 không có tiền sử bệnh lý nền, tỷ lệ bệnh diễn biến nặng ở nhóm đã tiêm đủ 2 mũi vaccin thấp hơn nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin, có sự gia tăng nguy cơ diễn biến nặng ở nhóm bệnh nhân trên 50 tuổi, bệnh nhân có bất thường về chỉ số glucose máu, CRP khi nhập viện.

Từ khóa: COVID-19, hóa sinh cơ bản, CRP, glucose máu.

SUMMARY

Objectives: we conducted this study to investigate the characteristics of some basic biochemical indicators of COVID-19 patients at the time of hospitalization and their relationship with the risk of severe disease of the patients. **Subjects & Methods:** A retrospective study of 884 patients diagnosed with COVID-19 according to MOH diagnostic criteria and without underlying diseases. **Results:** 632 participants (71%) had received at least 2 doses of COVID-19 vaccine and 214 participants (accounting for 24%) had received less than 2 doses of COVID-19 vaccine. The rates of severe disease in the 2 groups were 4.9% and 13.7%, respectively, the difference was statistically significant with $p < 0.05$. The risk of severe disease in the group of patients over 50 years old was 4.03 times higher than in the group under 50

¹Bệnh viện Việt Nam - Thuy Điển Uông Bí

²Bộ môn Hóa sinh, trường Đại học Y Hà Nội

³Viện Khoa học Công nghệ Y dược và Sức khỏe cộng đồng

⁴Khoa Xét nghiệm Bệnh viện Đại Học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Tạ Thành Văn

SĐT: 0912272922

Email: tathanhvan@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

years old (95% CI 2.03-7.07, $p < 0.001$), especially in the group who had received less than 2 doses of COVID-19 vaccine, the risk of this increased to 11.23 times (95% CI 3.55-35.53, $p < 0.001$). Furthermore, the risk of severe disease in the group of patients had abnormal blood glucose, CRP on admission also had been increase 1.8 times (95%CI 1.10-2.94, $p < 0.01$) and 2.07 times (95%CI 1.24-3.47, $p < 0.01$) than normal groups. **Conclusion:** In the group of COVID-19 patients with no history of underlying medical conditions, the rate of severe disease progression in the group who received 2 doses of the vaccine was lower than that in the group who did not receive 2 doses of the vaccine. Risk of severe development in the group of patients over 50 years old, patients with abnormal blood glucose index, CRP on admission.

Keywords: COVID-19, basic biochemistry, CRP, blood glucose.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong những năm gần đây, nhân loại liên tục phải đối mặt với nhiều bệnh dịch nguy hiểm, như dịch SARS năm 2003, cúm lợn H1N1 năm 2009, hội chứng hô hấp Trung Đông MERS năm 2012, và gần đây nhất là đại dịch COVID-19. Đại dịch COVID-19 gây ra bởi virus SARS-CoV-2 được phát hiện vào tháng 12/2019 tại tỉnh Vũ Hán – Trung Quốc sau đó nhanh chóng lan ra toàn thế giới. Tính đến tháng 02 năm 2023 thế giới đã có hơn 755 triệu ca nhiễm và hơn 6,8 triệu trường hợp tử vong.¹ Việt Nam đã trải qua 4 làn sóng dịch với hơn 11 triệu ca mắc và hơn 43.000 ca tử vong, tính riêng trên địa bàn tỉnh Quảng Ninh cũng đã có tới 364.982 ca mắc và hàng trăm ca tử vong được ghi nhận. Hiện nay, với thành công của chiến dịch tiêm chủng vaccin phòng COVID-19 đã hạn chế nguy cơ lây lan, bùng phát dịch, tuy

nhiên với sự xuất hiện của các biến chủng virus mới, có thể làm suy yếu hiệu quả của vaccin khiến cho công tác phòng, chống dịch COVID-19 vẫn là một vấn đề cần hết sức lưu tâm.

Mặc dù có khả năng lây nhiễm cao, tuy nhiên phần lớn người nhiễm virus SARS-CoV-2 chỉ có triệu chứng nhẹ hoặc không có triệu chứng. Lý giải cho đáp ứng rất khác nhau của mỗi cá thể là do nhiều yếu tố ảnh hưởng đến mức độ biểu hiện bệnh của bệnh nhân COVID-19 như chủng virus, các yếu tố liên quan tới vật chủ cũng như những yếu tố môi trường, xã hội khác. Do đó, để đối phó với đại dịch COVID-19, bên cạnh các biện pháp như phát hiện và cách ly người nhiễm virus, triển khai rộng rãi vaccin... thì việc xác định các đối tượng nguy cơ cao có thể diễn biến nặng cũng luôn nhận được sự quan tâm của các chuyên gia. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra các yếu tố như tuổi cao, giới tính nam, mắc các bệnh nền như đái tháo đường, tăng huyết áp... có thể làm tăng nguy cơ diễn biến nặng cũng như tử vong của bệnh nhân COVID-19.² Bên cạnh đó, gần đây, một loạt nghiên cứu cho thấy ý nghĩa của các chỉ dấu sinh học như glucose máu, CRP, D-Dimer, LDH, AST, Creatinine... cũng có giá trị quan trọng trong hỗ trợ tiên lượng bệnh nhân COVID-19.^{3,4}

Tại Việt Nam, việc thu thập thông tin lâm sàng, tiền sử cũng như các chỉ số cận lâm sàng cơ bản của bệnh nhân COVID-19 tại thời điểm nhập viện đã được chú ý trong thực hành lâm sàng. Hiện nay đã có một số hướng dẫn đề cập tới các yếu tố nguy cơ ở bệnh nhân COVID-19 như tuổi cao, bệnh nền, tiền sử tiêm vaccin... Cùng với đó một số nghiên cứu trong nước cũng đã đưa ra những khuyến cáo về việc sử dụng các chỉ dấu sinh học trong tiên lượng bệnh nhân

COVID-19, tuy nhiên những nghiên cứu này chưa nhiều và kết quả còn chưa thống nhất. Để có thể làm rõ hơn giá trị của những chỉ số cận lâm sàng trong đánh giá bệnh nhân, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu khảo sát đặc điểm một số chỉ số hóa sinh cơ bản của bệnh nhân COVID-19 tại thời điểm nhập viện và mối liên quan giữa chúng với tiên lượng của bệnh nhân.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Tiêu chuẩn chọn vào nghiên cứu:

- Đối tượng nghiên cứu được chẩn đoán mắc COVID-19 theo tiêu chuẩn chẩn đoán của BYT.⁵ và không mắc bệnh lý nền (đái tháo đường, tăng huyết áp, các bệnh lý mạn tính khác...)

- Đối tượng nghiên cứu có đầy đủ thông tin hồ sơ bệnh án

2.2. Tiêu chuẩn loại trừ:

- Đối tượng nghiên cứu có tiền sử mắc bất kỳ bệnh lý nền khác được ghi nhận trong hồ sơ bệnh án

- Đối tượng nghiên cứu không có đầy đủ hồ sơ bệnh án.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Thời gian và địa điểm nghiên cứu:

Nghiên cứu được tiến hành từ tháng 01/2021 đến tháng 06/2023 tại Bệnh viện Việt Nam – Thụy Điển .

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

2.4. Cơ mẫu và phương pháp chọn mẫu:

Chọn mẫu thuận tiện bao gồm toàn bộ bệnh nhân đủ tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu.

2.5. Biến số nghiên cứu

- Thông tin chung về đối tượng nghiên cứu: Tuổi, giới tính, tiền sử tiêm vaccin: số mũi tiêm (chia thành nhóm đã tiêm ≥ 2 mũi vaccin và nhóm tiêm < 2 mũi vaccin). Các loại vaccin được sử dụng gồm có: vaccin Moderna, vaccin Pfizer, vaccin Astrazeneca, vaccin Verocell, vaccin Sputnik V.

- Thông tin cận lâm sàng: Các chỉ số cận lâm sàng được thu thập trong vòng 24h nhập viện gồm có glucose máu bất kỳ, điện giải đồ, AST, ALT, Creatinine; Ure, CRP.

- Thông tin phân loại mức độ bệnh theo hướng dẫn của BYT gồm: không triệu chứng, triệu chứng nhẹ, trung bình, nặng và nguy kịch.⁶ Nhóm bệnh nhân không triệu chứng, triệu chứng nhẹ được xếp vào nhóm bệnh nhân mức độ nhẹ, nhóm bệnh nhân triệu chứng trung bình, nặng và nguy kịch được xếp vào nhóm bệnh nhân mức độ nặng.

2.6. Phân tích số liệu: số liệu được nhập bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0.

2.7. Đạo đức nghiên cứu: Toàn bộ thông tin nghiên cứu được truy cập hồi cứu từ hồ sơ bệnh án, các thông tin được bảo mật và không can thiệp vào quá trình điều trị bệnh nhân.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

		Chung N (%)	Nhóm 1: Đã tiêm ≥ 2 mũi vaccin N (%)	Nhóm 2: Tiêm < 2 mũi vaccin N (%)
Tuổi	Tuổi trung bình	32,1 \pm 16,4	36,64 \pm 12,62	19,50 \pm 18,79
	Dưới 50 tuổi	785 (88,8)	552 (87,3)	200 (93,5)
	≥ 50 tuổi	99 (11,2)	80 (12,7)	14 (6,5)

Giới	Nam	420 (47,5)	313 (49,5)	91 (42,5)
	Nữ	464 (52,5)	319 (50,5)	123 (57,5)
Vaccin	Chưa tiêm	206 (23,3)	0 (0)	206 (96,3)
	Tiêm 1 mũi	8 (0,9)	0 (0)	8 (3,7)
	Tiêm 2 mũi	587 (66,4)	587 (92,9)	0 (0)
	Tiêm 3 mũi	44 (5,0)	44 (7,0)	0 (0)
	Tiêm 4 mũi	1 (0,1)	1 (0,2)	0 (0)
	Không có thông tin	38 (4,3)	0 (0)	0 (0)
Phân loại mức độ nặng	Không triệu chứng	100 (11,3)	45 (7,1)	54 (25,5)
	Triệu chứng nhẹ	712 (80,7)	556 (88,0)	129 (60,8)
	Triệu chứng trung bình	58 (6,6)	23 (3,6)	25 (11,8)
	Nặng, nguy kịch	12 (1,4)	8 (1,3)	4 (1,9)
Cận lâm sàng khi vào viện	AST(U/L)	29,7 ± 19,2	27,9 ± 15,8	33,6 ± 13,3
	ALT (U/L)	25,6 ± 22,5	26,5 ± 20,8	21,2 ± 19,6
	URE (mmol/L)	4,4 ± 1,2	4,4 ± 1,2	4,2 ± 0,99
	CRE (µmol/L)	72,8 ± 17,0	77,5 ± 15,0	60,1 ± 14,8
	Glucose máu bất kỳ (mmol/L)	5,8 ± 2,2	5,8 ± 2,3	5,8 ± 1,4
	Natri (mmol/l)	136,8 ± 7,0	137,0 ± 5,93	135,9 ± 10,5
	Kali (mmol/l)	3,98 ± 4,90	3,86 ± 3,94	4,47 ± 7,79
	Clo (mmol/l)	102,6 ± 5,5	102,4 ± 6,2	103,4 ± 2,9
	CRP (mg/l)	11,0 ± 20,7	11,2 ± 18,2	9,6 ± 26,9

Trong tổng số 884 ĐTNC có 632 ĐTNC (chiếm 71,5%) đã tiêm tối thiểu 2 mũi vaccin trở lên, và 214 ĐTNC (chiếm 24,2%) chưa tiêm hoặc mới tiêm 1 mũi vaccin COVID-19. Độ tuổi trung bình của tất cả ĐTNC là 32,1±16,4 tuổi và trong đó nhóm dưới 50 tuổi chiếm 88,8%. Trong tổng số 884 ĐTNC,

tỷ lệ ĐTNC thuộc nhóm mức độ nhẹ và nhóm mức độ nặng lần lượt là 92,0% và 8,0%. Tỷ lệ này trong nhóm đã tiêm tối thiểu 2 mũi vaccin lần lượt là 95,1% và 4,9% và tỷ lệ trong nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin lần lượt là 86,3% và 13,7%.

Bảng 2. Một số đặc điểm giữa BN COVID-19 mức độ nặng và mức độ nhẹ

	Chung N=884			Nhóm 1 Đã tiêm tối thiểu 2 mũi vaccin N=632			Nhóm 2 Chưa tiêm hoặc tiêm 1 mũi vaccin N=214		
	Mức độ nhẹ n (%)	Mức độ nặng n (%)	P value	Mức độ nhẹ n (%)	Mức độ nặng n (%)	P value	Mức độ nhẹ n (%)	Mức độ nặng n (%)	P value
Tuổi trung bình	31,7 ± 15,1	37,0 ± 26,7	0,0095*	17,8 ± 15,1	30,1 ± 32,2	0,0009*	36,1 ± 11,9	47,4 ± 19,5	<0,001*
AST (U/L)	28,9 ± 19,1	37,7 ± 18,3	0,0002*	32,1 ± 10,5	40,7 ± 21,6	0,0011*	27,5 ± 15,9	34,1 ± 12,1	0,0228*

ALT (U/L)	24,9 ± 21,4	33,1 ± 31,6	0,0031*	26,3 ± 21,0	30,3 ± 15,4	0,2965	18,8 ± 9,57	32,9 ± 42,5	0,0004*
URE (mmol/L)	4,3 ± 1,2	4,5 ± 1,5	0,3067	4,4 ± 1,2	4,8 ± 1,8	0,0812	4,1 ± 1,0	4,4 ± 1,2	0,1565
CRE (μmol/L)	73,0 ± 16,9	70,6 ± 20,4	0,2595	77,2 ± 14,7	83,2 ± 19,5	0,0296*	57,8 ± 15,2	59,9 ± 14,3	0,4874
Glucose máu bất kỳ (mmol/L)	5,7 ± 2,1	6,6 ± 2,3	0,0008*	5,7 ± 2,3	7,0 ± 2,7	0,0044*	5,6 ± 1,3	6,4 ± 1,9	0,008*
Na+ (mmol/L)	136,8 ± 7,3	136,8 ± 2,9	0,9431	137,0 ± 6,0	136,4 ± 3,4	0,5338	135,6 ± 11,5	137,4 ± 2,4	0,411
K+ (mmol/L)	4,0 ± 5,1	3,7 ± 0,4	0,7078	3,86 ± 4,04	3,71 ± 0,32	0,8323	4,6 ± 8,6	3,8 ± 0,4	0,6266
Cl- (mmol/L)	102,6 ± 5,7	102,3 ± 2,9	0,6840	102,5 ± 6,3	101,6 ± 3,5	0,4566	103,5 ± 2,9	103,1 ± 2,3	0,4725
CRP (mg/L)	9,0 ± 15,1	30,5 ± 43,4	0,0001*	9,6 ± 12,9	40,0 ± 51,2	<0,001*	6,0 ± 21,7	21,8 ± 6,1	0,0016*

Trong tất cả ĐTNC, tuổi trung bình của nhóm mức độ nhẹ là 31,7 ± 15,1 tuổi trung bình của nhóm mức độ nặng là 37,0 ± 26,7. Chỉ số AST, ALT, đường máu bất kỳ, CRP của nhóm mức độ nhẹ lần lượt là 28,9 ± 19,1(mmol/L); 24,9 ± 21,4(mmol/L); 5,7 ± 2,1(mmol/L); 9,0 ± 15,1(mg/L), trong nhóm

mức độ nặng lần lượt là 37,7 ± 18,3(mmol/L); 33,1 ± 31,6(mmol/L); 6,6 ± 2,3(mmol/L); 30,5 ± 43,4(mg/L). Sự khác biệt về tuổi trung bình, chỉ số AST, ALT, glucose máu bất kỳ, CRP là có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm.

Bảng 3. Mối liên quan giữa các yếu tố và phân loại mức độ lâm sàng của ĐTNC

		Chung N=884			Nhóm 1 Đã tiêm tối thiểu 2 mũi vaccin N=632			Nhóm 2 Chưa tiêm hoặc tiêm 1 mũi vaccin N=214		
		Mức độ nhẹ n (%)	Mức độ nặng n (%)	OR (95% CI)	Mức độ nhẹ n (%)	Mức độ nặng n (%)	OR (95% CI)	Mức độ nhẹ n (%)	Mức độ nặng n (%)	OR (95% CI)
Tuổi	Dưới 50 tuổi	734 (93,7)	49 (6,3)	4,03*** (2,30-7,07)	533 (96,6)	19 (3,4)	4,95*** (2,30-10,64)	177 (89,4)	21 (10,6)	11,23*** (3,55-35,5)
	Trên 50 tuổi	78 (78,8)	21 (21,2)		68 (85)	12 (15)		6 (42,9)	8 (57,1)	
Giới	Nam	379 (90,7)	39 (9,3)	0,69 (0,43-1,14)	294 (93,9)	19 (6,1)	0,60 (0,29-1,27)	76 (85,4)	13 (14,6)	0,87 (0,40-1,92)
	Nữ	433	31 (6,7)		307	12		107	16	

HỘI NGHỊ KHOA HỌC TOÀN QUỐC LẦN THỨ XXV – CHÀO MỪNG 60 NĂM THÀNH LẬP HỘI HÓA SINH Y HỌC VIỆT NAM

		(93,3)			(96,2)	(3,8)		(87,0)	(13,0)	
AST (U/L)	Bình thường	742 (92,2)	63 (7,8)	2,11 (0,91- 4,92)	572 (95,2)	29 (4,8)	1,36 (0,31- 5,98)	145 (85,3)	25 (14,7)	2,9 (0,81- 10,3)
	Bất thường	39 (84,8)	7 (15,2)		29 (93,6)	2 (6,4)		8 (66,7)	4 (33,3)	
ALT (U/L)	Bình thường	722 (92,1)	62 (7,9)	1,63 (0,75- 3,58)	547 (95,1)	28 (4,9)	1,11 (0,33- 3,76)	149 (85,6)	25 (14,4)	7,95** (1,68 - 37,6)
	Bất thường	57 (87,7)	8 (12,3)		53 (94,6)	3 (5,4)		3 (42,9)	4 (57,1)	
Ure (mmol/L)	Bình thường	706 (92,2)	60 (7,8)	1,68 (0,80- 3,55)	542 (95,6)	25 (4,4)	2,17 (0,80- 5,91)	141 (84,4)	26 (15,6)	1,63 (0,42- 6,32)
	Bất thường	63 (87,5)	9 (12,5)		50 (90,9)	5 (9,1)		10 (76,9)	3 (23,1)	
Cre (μ mol/L)	Bình thường	346 (93,3)	25 (6,7)	1,43 (0,86- 2,38)	316 (94,3)	19 (5,7)	0,70 (0,33- 1,47)	22 (88)	3 (12)	1,46 (0,41- 5,22)
	Bất thường	435 (90,6)	45 (9,4)		285 (96,0)	12 (4,0)		131 (83,4)	26 (16,6)	
Glucose máu bất kỳ(mmol/L)	Bình thường	476 (93,3)	34 (6,7)	1,8* (1,10- 2,94)	377 (96,4)	14 (3,6)	2,07* (1,00- 4,28)	81 (86,2)	13 (13,8)	1,99 (0,88- 4,49)
	Bất thường	34 (6,7)	36 (11,4)		221 (92,9)	17 (7,1)		50 (75,8)	16 (24,2)	
K ⁺ (mmol/L)	Bình thường	599 (91,0)	59 (9,0)	0,62 (0,31- 1,24)	454 (95,2)	23 (4,8)	1,10 (0,48- 2,52)	121 (82,3)	26 (17,7)	0,52 (0,11- 2,37)
	Bất thường	164 (94,3)	10 (5,7)		143 (94,7)	8 (5,3)		18 (90)	2 (10)	
Na ⁺ (mmol/L)	Bình thường	657 (92,2)	56 (7,8)	1,44 (0,76- 2,72)	525 (95,8)	23 (4,2)	2,54* (1,09- 5,88)	110 (82,1)	24 (17,9)	0,63 (0,20- 1,97)
	Bất thường	106 (89,1)	13 (10,9)		72 (90)	8 (10)		29 (87,9)	4 (12,1)	
Cl ⁻ (mmol/L)	Bình thường	721 (91,7)	65 (8,3)	1,39 (0,47- 4,04)	568 (95,3)	28 (4,7)	2,54 (0,72- 8,93)	127 (82,5)	27 (17,5)	0,67 (0,08- 5,69)
	Bất thường	32 (88,9)	4 (11,1)		24 (88,9)	3 (11,1)		7 (87,5)	1 (12,5)	
CRP (mg/L)	Bình thường	385 (94,1)	24 (5,9)	2,07** (1,24- 3,47)	267 (97,5)	7 (2,5)	2,92* (1,24- 6,90)	101 (87,1)	15 (12,9)	2,69* (1,18- 6,14)
	Bất thường	356 (88,6)	46 (11,4)		313 (92,9)	24 (7,1)		35 (71,4)	14 (28,6)	

Với * là $p < 0,1$; ** là $p < 0,01$; *** là $p < 0,001$

Trong các ĐTNC, nguy cơ diễn biến nặng ở nhóm trên 50 tuổi cao gấp 4,03 lần nhóm dưới 50 tuổi (95%CI 2.03-7.07), trong nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin, nguy cơ này là 11,23 lần (95%CI 3,55-35,53; $p < 0,001$). Nguy cơ diễn biến nặng ở bệnh nhân có đường máu bất kỳ bất thường cao gấp 1.8 lần (95%CI 1.10- 2.94), và ở nhóm có CRP bất thường là 2.07 lần (95%CI 1,24-3.47) so với nhóm có các chỉ số bình thường khi vào viện. Các khác biệt trên đều có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

IV. BÀN LUẬN

Trong thời gian qua, chiến dịch tiêm chủng vaccin COVID-19 đã được triển khai rộng rãi trong cả nước nói chung và địa bàn tỉnh Quảng Ninh nói riêng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 632 (chiếm 71%) ĐTNC đã được tiêm tối thiểu 2 mũi vaccin và có 214 (chiếm 24%) chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin. Giá trị của vaccin trong tăng cường khả năng bảo vệ của cơ thể và hạn chế diễn biến nặng ở bệnh nhân COVID-19 đã được rất nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng như tại Việt Nam công bố.⁷ Trong nghiên cứu này, kết quả của chúng tôi cho thấy tỷ lệ ĐTNC diễn biến nặng ở nhóm đã tiêm đủ 2 mũi vaccin là 4,9% và trong nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin tỷ lệ này là 13,7%, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Điều này một lần nữa nhấn mạnh giá trị của chiến lược bao phủ vaccin trong việc phòng chống đại dịch COVID-19 ở nước ta.

Bên cạnh yếu tố vaccin, nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng chỉ ra rằng tuổi cũng là một yếu tố ảnh hưởng lớn tới nguy cơ diễn biến nặng ở bệnh nhân COVID-19. Trong nghiên cứu này, độ tuổi trung bình của ĐTNC là $32,1 \pm 16,4$ tuổi và trong đó nhóm dưới 50 tuổi chiếm 88,8%. Tuổi trung bình

trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn đáng kể so với nhiều nghiên cứu khác liên quan tới COVID-19, như nghiên cứu của Mohitosh và cộng sự với độ tuổi trung bình là 54 ± 13^2 hay nghiên cứu của Aloisio với độ tuổi trung bình là 61 ± 13^8 . Lý giải cho điều này là do những bệnh nhân cao tuổi thường có bệnh lý nền kèm theo, không đáp ứng được tiêu chuẩn lựa chọn ĐTNC của chúng tôi. Mặc dù số lượng bệnh nhân cao tuổi đáp ứng tiêu chuẩn lựa chọn không nhiều (99/884 ĐTNC chiếm 11%), chúng tôi vẫn nhận thấy sự gia tăng nguy cơ diễn biến nặng của nhóm bệnh nhân trên 50 tuổi cao gấp 4,03 lần so với nhóm dưới 50 tuổi (95%CI 2,03-7,07, $p < 0,001$), đặc biệt trong nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin, nguy cơ này tăng lên tới 11,23 lần (95%CI 3,55-35,53, $p < 0,001$). Những kết quả trên tương đồng với nghiên cứu của tác giả Mohitosh và cộng sự tỷ lệ bệnh nhân ở độ tuổi trên 50 có nguy cơ diễn biến nặng, tử vong cao gấp 15,4 lần so với bệnh nhân ở độ tuổi dưới 50 (RR 15,44, 95%CI 95% 13,02–18,31; $p < 0,00001$)²

Trong thời gian qua, một loạt nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy ý nghĩa của các chỉ dấu sinh học trong hỗ trợ tiên lượng bệnh nhân COVID-19^{3,4,8}. Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng nhận thấy có mối liên quan giữa chỉ số glucose máu, chỉ số CRP lúc nhập viện tới tiên lượng mức độ nặng của bệnh nhân. Giá trị trung bình của nồng độ glucose máu và CRP ở nhóm bệnh nhân không triệu chứng, triệu chứng nhẹ lần lượt là $5,7 \pm 2,1$ (mmol/L); $9,0 \pm 15,1$ (mg/L), trong khi giá trị ở nhóm diễn biến nặng lần lượt là $6,6 \pm 2,3$ (mmol/L); $30,5 \pm 43,4$ (mg/L), sự khác biệt giữa 2 nhóm là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,0001$. Hơn thế nữa, kết quả cũng cho thấy nhóm ĐTNC có chỉ số glucose máu nhập viện bất thường có nguy

cơ diễn biến nặng cao gấp 1.8 lần nhóm có chỉ số glucose máu nhập viện bình thường (95%CI 1,10- 2,94, $p<0,001$). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Carrasco-Sánchez và Coppelli với nguy cơ tử vong độc lập gấp 1,50 (95%CI: 1,31–1,73)^{9,10}. Hơn thế nữa, kết quả cũng cho thấy nhóm ĐTNC có chỉ số CRP nhập viện bất thường có nguy cơ diễn biến nặng cao gấp 2,07 lần nhóm có chỉ số CRP nhập viện bình thường (95%CI 1,24-3.47; $p<0,01$) Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của tác giả Ahnach là 1,13 lần(95% CI (1,04-1,23)³. Bên cạnh đó, một số nghiên cứu như của Aloisio hay nghiên cứu của Aref đã cho thấy các chỉ số như AST, Creatinine,...có liên quan tới tiên lượng diễn biến của bệnh nhân COVID-19, tuy nhiên, trong nghiên cứu này chúng tôi có ghi nhận tỷ lệ bệnh nhân diễn biến nặng cao hơn ở nhóm bệnh nhân có bất thường về chỉ số men gan (AST, ALT), chỉ số đánh giá chức năng thận (Ure, Creatinin), chỉ số điện giải đồ (Na⁺, Cl⁻), tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê. Những kết quả khác biệt này có thể được lý giải do sự khác biệt về quần thể nghiên cứu, tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu, cỡ mẫu giữa các nghiên cứu, do đó chúng tôi kiến nghị cần tiến hành những nghiên cứu lớn hơn để làm sáng tỏ hơn nữa ý nghĩa của những chỉ số này trong tiên lượng diễn biến của bệnh nhân COVID-19.

V. KẾT LUẬN

Trong nhóm bệnh nhân COVID-19 không có tiền sử bệnh lý nền kèm theo, tỷ lệ bệnh diễn biến nặng ở nhóm đã tiêm đủ 2 mũi vaccin thấp hơn nhóm chưa tiêm đủ 2 mũi vaccin, có sự gia tăng nguy cơ diễn biến nặng ở nhóm bệnh nhân trên 50 tuổi, bệnh nhân có bất thường về chỉ số glucose máu, CRP khi nhập viện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới và khuyến nghị của Tổ chức Y tế thế giới (WHO).** Tình hình dịch COVID-19 trên thế giới và khuyến nghị của Tổ chức Y tế thế giới (WHO). Accessed June 13, 2023.
2. **Biswas M, Rahaman S, Biswas TK, Haque Z, Ibrahim B.** Association of Sex, Age, and Comorbidities with Mortality in COVID-19 Patients: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Intervirology*. 2021;64(1):36-47. doi:10.1159/000512592
3. **Ahnach M, Zbiri S, Nejjari S, Ousti F, Elkettani C.** C-reactive protein as an early predictor of COVID-19 severity. *J Med Biochem*. 2020;39(4):500-507. doi:10.5937/jomb0-27554
4. **Ponti G, Maccaferri M, Ruini C, Tomasi A, Ozben T.** Biomarkers associated with COVID-19 disease progression. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. 2020;57(6):389-399. doi:10.1080/10408363.2020.1770685
5. **Quyết định 250/QĐ-BYT 2022 Hướng dẫn chẩn đoán điều trị COVID19.** Accessed April 9, 2023. <https://thuvienphapluat.vn/van-ban/The-thao-Y-te/Quyết-dinh-250-QĐ-BYT-2022-Huong-dan-chan-doan-dieu-tri-COVID19-502064.aspx>
6. **Quyết định 3646/QĐ-BYT 2021.** Tiêu chí phân loại nguy cơ người nhiễm SARS CoV 2. Accessed April 9, 2023.
7. **Zheng C, Shao W, Chen X, Zhang B, Wang G, Zhang W.** Real-world effectiveness of COVID-19 vaccines: a literature review and meta-analysis. *International Journal of Infectious Diseases*. 2022;114:252-260. doi:10.1016/j.ijid.2021.11.009
8. **Aloisio E, Chibireva M, Serafini L, et al.** A Comprehensive Appraisal of Laboratory Biochemistry Tests as Major Predictors of COVID-19 Severity. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144(12):1457-1464. doi:10.5858/arpa.2020-0389-SA

KHẢO SÁT TỈ LỆ KHÁNG NGUYÊN HLA-B27 Ở BỆNH NHÂN VIÊM CỘT SỐNG DÍNH KHỚP

Đỗ Khánh Vy¹, Hoàng Ngọc Bảo Mi¹,
Dương Thị Thanh Hương¹, Mai Thị Bích Chi¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Viêm cột sống dính khớp là bệnh điển hình của nhóm bệnh lý viêm khớp – cột sống, đặc trưng bởi viêm cột sống, viêm các khớp lớn ngoại vi, chẩn đoán bằng biểu hiện viêm khớp cùng chậu trên chẩn đoán hình ảnh. Nguyên nhân gây bệnh chưa thực sự rõ ràng, sự hiện diện của alen kháng nguyên bạch cầu người B27 (HLA-B27) có ở 90% số bệnh nhân, nhưng cũng có ở 10% số dân số nói chung.

Mục tiêu: Khảo sát tỉ lệ dương tính với yếu tố kháng nguyên hoà hợp mô HLA-B27 ở bệnh nhân viêm cột sống dính khớp và mối liên quan với các chỉ số lâm sàng, cận lâm sàng

Đối tượng-Phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, 125 bệnh nhân được chẩn đoán viêm cột sống dính khớp đến khám và điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Dược TPHCM trong thời gian từ 01/2022 đến 06/2023

Kết quả: Phân tích 125 bệnh nhân VCSDK, tuổi trung bình là $30,0 \pm 8,6$; tỉ lệ nam nữ 2/1. Tỉ lệ dương tính với kháng nguyên HLA-B27 là 79,2% (99/125). Giữa 2 nhóm HLA-B27 dương tính và âm tính ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê trên triệu chứng viêm khớp háng, viêm

điễm bám gân; nồng độ CRP, tốc độ lắng máu ESR 1h với $p < 0,05$

Kết luận: Kháng nguyên hòa hợp mô HLA-B27 là yếu tố di truyền chủ yếu ở bệnh nhân viêm cột sống dính khớp, có mối liên quan giữa sự hiện diện của HLA-B27 với các chỉ số lâm sàng, cận lâm sàng

Từ khóa: viêm cột sống dính khớp, HLA-B27

SUMMARY

SURVEY OF THE HUMAN LEUKOCYTE ANTIGEN HLA-B27 RATE IN ANKYLOSING SPONDYLITIS

Background: Ankylosing spondylitis (AS) is a typical disease of the group of arthritis-spondyloarthropathies, characterized by spondylitis, inflammation of the large peripheral joints, diagnosed by sacroiliitis on imaging. The cause of the disease is not really clear, the presence of the human leukocyte antigen B27 allele (HLA-B27) is present in 90% of patients, but also in 10% of the general population

Objectives: Survey on the positive rate of human leucocyte antigen HLA-B27 in ankylosing spondylitis patients and its correlations with clinical and subclinical indicators

Methods: A cross-sectional descriptive study, 125 ankylosing spondylitis patients diagnosed and treated at University Medical Centre in Ho Chi Minh City from 01/2022 to 06/2023.

¹Bệnh viện Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Mai Thị Bích Chi

SĐT: 0913822303

Email: chi.mtb@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 8.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

Results: Analyzed 125 AS patients, mean age was $30,0 \pm 8,6$; male/female ratio was 2/1. The positive rate for HLA-B27 antigen was 79,2% (99/125). Between the positive and negative HLA-B27 groups, there was a statistically significant difference in the symptoms of hip arthritis, tendonitis; CRP concentration, ESR 1h with $p < 0,05$

Conclusion: Human leukocyte antigen HLA-B27 was the major genetic factor in ankylosing spondylitis patients. There was correlations between the presence of HLA-B27 and clinical and subclinical indicators

Keywords: ankylosing spondylitis, HLA-B27

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm cột sống dính khớp (VCSDK) là một bệnh thấp viêm đặc trưng bởi tổn thương khớp cùng chậu, cột sống và các khớp ở chi dưới, thường kèm theo viêm các điểm bám gân. Nguyên nhân gây bệnh đến nay vẫn chưa thực sự rõ ràng, trong đó, có mối liên quan chặt chẽ với yếu tố kháng nguyên hoà hợp mô HLA-B27, gặp trong 90% trường hợp, ngoài ra còn có thể có một số yếu tố gen khác và tác nhân nhiễm khuẩn, yếu tố gia đình chiếm tỷ lệ 10% [1]. Với tỷ lệ mắc bệnh là 0,1 đến 1,4% trên toàn thế giới và nam giới có xu hướng mắc cao gấp 2 đến 4 lần so với nữ [1,3]. Tại Việt Nam, VCSDK không phải là bệnh quá hiếm gặp, thường khởi phát ở người từ 20 đến 40 tuổi. Nếu không được can thiệp điều trị kịp thời sẽ tiến triển nặng dần, cột sống bị dính khớp dần cứng lại và mất khả năng di động, có thể ảnh hưởng tới chức năng hô hấp hay các vấn đề tim mạch. Nhiều nghiên cứu trên thế giới đã xác nhận mối liên hệ giữa HLA-B27 với VCSDK, tuy nhiên tỷ lệ phổ biến của gene là khác nhau giữa các chủng tộc [3,6]. Xét nghiệm xác định gene HLA-B27 ở bệnh nhân có triệu

chứng lâm sàng là một trong những tiêu chuẩn chẩn đoán quan trọng và kịp thời, giúp người bệnh được điều trị sớm, tránh khỏi các biến chứng nguy hiểm. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm khảo sát tỉ lệ dương tính và vai trò của kháng nguyên HLA-B27 trên bệnh nhân VCSDK

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân được chẩn đoán bệnh lý viêm cột sống dính khớp (theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp của Bộ Y Tế năm 2014), tại khoa Nội Cơ Xương Khớp và phòng khám Nội Cơ Xương Khớp Bệnh viện Đại học Y Dược TPHCM từ tháng 01/2022 đến tháng 06/2023

Tiêu chuẩn lựa chọn:

Kết hợp triệu chứng lâm sàng, hình ảnh tổn thương xương khớp trên X-Quang, kết quả xét nghiệm HLA-B27

Tiêu chuẩn lâm sàng (ít nhất có một yếu tố):

- Đau thắt lưng 3 tháng trở lên, cải thiện khi luyện tập, không giảm khi nghỉ.

- Hạn chế vận động cột sống thắt lưng cả tư thế cúi và nghiêng.

- Giảm độ giãn lồng ngực (dưới hoặc bằng 2,5 cm).

Tiêu chuẩn X-Quang:

Viêm khớp cùng chậu giai đoạn ≥ 2 , nêu biểu hiện viêm cả hai bên.

Chẩn đoán xác định khi có tiêu chuẩn X-Quang và ít nhất một yếu tố thuộc tiêu chuẩn lâm sàng.

Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân đang có bệnh nhiễm trùng như nhiễm khuẩn cơ xương khớp, viêm phổi, nhiễm khuẩn tiết niệu,...

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang

Các số liệu thu thập: Hồi cứu dữ liệu bệnh nhân thông qua hệ thống dữ liệu xét nghiệm và hồ sơ bệnh án

Đặc điểm chung: tuổi, giới tính

Đặc điểm lâm sàng triệu chứng viêm điển hình: viêm khớp cùng chậu, viêm khớp háng, viêm khớp gối, viêm điểm bám gân, viêm kết mạc mắt

Cận lâm sàng: tổn thương xương khớp trên X-Quang (khớp cùng chậu, phù tủy xương, hẹp khe khớp, dính khớp, xơ xương),

kết quả HLA-B27, nồng độ CRP, tốc độ máu lắng 1h

Xử lý số liệu: phần mềm SPSS 20.0

Phương pháp xét nghiệm: Bộ xét nghiệm Real-Time PCR Detection Kit phát hiện allele HLA-B27 của nhà cung cấp Genmark Saglik, dựa trên nguyên tắc phản ứng khuếch đại chuỗi gene sử dụng đoạn mỗi đặc hiệu, chất nhuộm huỳnh quang phân tích đột biến là Biotium. Bộ kit chuẩn hóa trên dòng máy Cobas

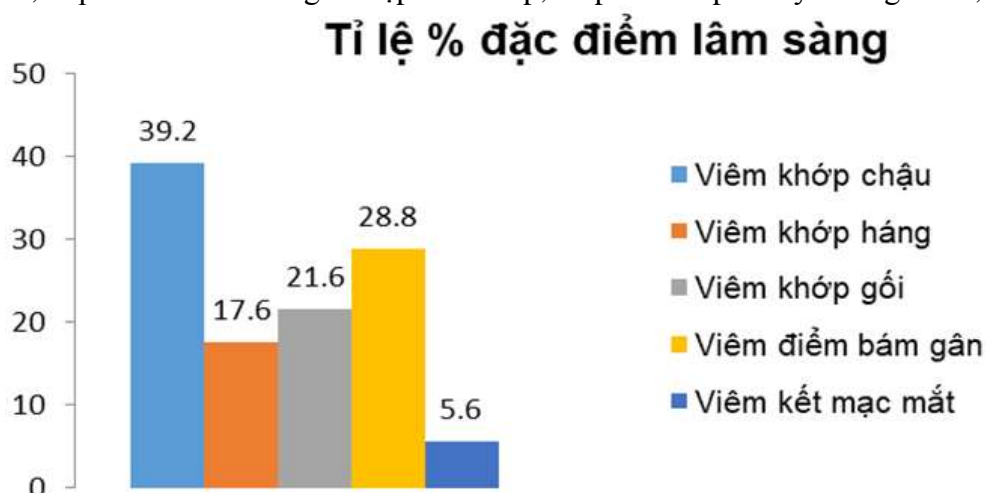
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1: Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm (n=125)	n	Tỉ lệ %
Giới nam	81	64,8
Giới nữ	44	35,2
HLA-B27 dương tính	99	79,2
Có tổn thương khớp cùng chậu	49	39,2
Phù tủy xương	7	5,6
Hẹp khe khớp	37	29,6
Dính khớp	36	28,8
Xơ xương	39	31,2

Nhận xét: Có 81 nam và 44 nữ, tỷ lệ nam/nữ là 2/1, độ tuổi trung bình $30,0 \pm 8,6$, cao nhất là 55 tuổi, thấp nhất là 13 tuổi. Đặc điểm tổn thương khớp cùng chậu chiếm tỉ lệ cao nhất với 39,2%, tiếp theo là xơ xương và hẹp khe khớp, thấp nhất là phù tủy xương với 5,6%



Biểu đồ 3.1: Các đặc điểm cận lâm sàng

Nhận xét: Triệu chứng viêm khớp chậu kết mạc mắt với 5,6% có tỉ lệ cao nhất trong các bệnh nhân VCSDK với 39,2%; tiếp theo là viêm điểm bám gân và viêm khớp gối; thấp nhất là viêm

3.2. Mối liên quan giữa kháng nguyên HLA với đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng trên bệnh nhân VCSDK

Bảng 3.2: Mối liên quan với đặc điểm lâm sàng

	HLA-B27+ n(%)	HLA-B27- n(%)	Tổng chung n(%)	p
Viêm khớp chậu	44 (44,4)	5 (19,2)	49 (39,2)	0,32
Viêm khớp háng	14 (14,1)	8 (30,8)	22 (17,6)	0,02*
Viêm khớp gối	22 (22,1)	5 (19,2)	27 (21,6)	0,42
Viêm điểm bám gân	33 (33,1)	3 (11,5)	36 (28,8)	0,01*
Viêm kết mạc mắt	5 (5,0)	2 (7,7)	7 (5,6)	0,07
Tổng chung n (%)	99 (100)	26 (100)	125 (100)	

*: kiểm định Fisher

Nhận xét: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm HLA dương tính và âm tính ở đặc điểm viêm khớp háng và viêm điểm bám gân với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa ở các đặc điểm viêm khớp chậu, viêm khớp gối, viêm kết mạc mắt

Bảng 3.3: Mối liên quan với đặc điểm cận lâm sàng

Đặc điểm	HLA-B27+ (n=99)		HLA-B27- (n=26)		p
	n	Trung vị - KTPV hoặc %	n	Trung vị - KTPV hoặc %	
Tổn thương khớp cùng chậu	44	44,4	5	19,2	0,10
Phù tủy xương	5	5,0	2	7,7	0,07
Hẹp khe khớp	29	29,3	8	30,8	0,4
Dính khớp	33	33,3	3	11,5	0,01*
Xơ xương	32	32,3	7	26,9	0,46
ESR (mm/1h)	99	48,5(16,5-89,3)	26	15,0(7,8-37,8)	0,001**
CRP (mg/L)	99	22,5(6,9-42,2)	26	6,9(4,8-11,5)	< 0,001**

p*: kiểm định Fisher; p**: kiểm định t-test

Nhận xét: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm HLA dương tính và âm tính ở nhóm bệnh nhân VCSDK có hình ảnh dính khớp trên X-Quang, tốc độ lắng máu 1h, nồng độ CRP với $p < 0,05$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa ở các đặc điểm tổn thương khớp khác với tần suất HLA-B27+

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm chung và tỉ lệ dương tính với HLA-B27

Độ tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi là $30,0 \pm 8,6$, VCSDK chủ yếu

khởi phát ở độ tuổi 20-40, tỉ lệ nam gấp 2-4 lần so với nữ giới [1]. Các thể viêm khớp điển hình thường ở các khớp gối chi đối xứng hai bên (khớp háng, khớp gối chiếm khoảng 20%) [1]. Kết quả của chúng tôi phù hợp với y văn và tương đồng với các nghiên cứu trong và ngoài nước [2,3,8]. Đặc điểm trên X-Quang chiếm tỉ lệ cao nhất trong khảo sát của chúng tôi là tổn thương khớp cùng chậu với 39,2%; kết quả này tương đồng với Nguyễn Đình Khoa (2017) [2]. Tuy nhiên, có sự khác biệt về tỉ lệ phù tủy xương (62,5% so với 5,6%). Tác giả này nhận định dấu hiệu thường gặp nhất và chủ yếu nhất trên MRI là hình ảnh phù tủy xương, biểu hiện được coi là đặc hiệu của viêm khớp cùng chậu đang tiến triển. Như vậy, so với X quang qui ước, MRI có ưu thế vượt trội giúp xác định sớm viêm khớp cùng chậu [2]

Về tỉ lệ dương tính với kháng nguyên HLA-B27, kết quả của chúng tôi là 79,2% trên tổng số bệnh nhân VCSDK. Tác giả Nguyễn Đình Khoa (2017) cũng đưa ra kết quả tần suất dương tính là 86,4% [2]. Các tác giả khác trên thế giới cũng đưa ra kết quả tương đồng với tỉ lệ dương tính từ 80-90% số bệnh nhân VCSDK [3,7]. Kể từ khi được phát hiện vào năm 1973, HLA-B27 được cho là yếu tố di truyền chính trong VCSDK. Cơ chế gây bệnh được luận giải bằng 3 cơ chế: trình bày peptide đối với các tế bào CD8T, các dạng bất thường của chuỗi nặng HLA-B27 và sự nhận biết của chúng bởi các thụ thể giống như globulin miễn dịch của bạch cầu trên các tế bào tác động miễn dịch, cũng như việc sắp xếp sai chuỗi nặng HLA B27 và

các tác động sinh học nội tại trên các tế bào bị ảnh hưởng [5,7].

4.2. Mối liên quan với các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

Chúng tôi tiến hành phân tích mối liên quan giữa tần suất HLA-B27⁺ với những triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng. Giữa 2 nhóm HLA-B27 dương tính và âm tính, chúng tôi ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở bệnh nhân VCSDK có triệu chứng viêm khớp háng và viêm điểm bám gân với $p < 0,05$. Nhiều nghiên cứu cũng đã phân tích mối liên quan giữa sự hiện diện của HLA-B27 với các đặc điểm lâm sàng trên bệnh nhân VCSDK. Tác giả Yang (2017) kết luận tần suất HLA-B27 có mối liên quan đến viêm khớp vảy nến, viêm khớp phản ứng hay các triệu chứng thị giác [8]. Tác giả Lin (2017) đã phân tích tổng hợp dựa trên 11 báo cáo (4384 bệnh nhân VCSDK) cũng đưa ra bằng chứng về mối liên hệ giữa HLA-B27 với tỉ lệ viêm màng bồ đào, tổn thương khớp ngoại biên, tổn thương khớp hông với RR (95% CI) lần lượt là 1,07 (1,03-1,11), $p < 0,0001$; 1,04 (1,01-1,07), $p = 0,013$; 1,06 (1,02-1,10); $p = 0,003$ [6]. Về chỉ số tốc độ lắng máu, kết quả phân tích của chúng tôi là 48,5(16,5-89,3) mm/1h và 15,0(7,8-37,8) mm/1h tương ứng giữa 2 nhóm HLA-B27⁺ và HLA-B27⁻; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, kết quả này tương tự với các nghiên cứu khác [2,4]

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ dương tính với kháng nguyên hòa hợp mô

HLA-B27 là 79,2%, có mối liên quan giữa sự hiện diện của HLA-B27 với biểu hiện lâm sàng và các chỉ số cận lâm sàng ở bệnh nhân VCSDK

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị các bệnh cơ xương khớp** (Ban hành kèm theo Quyết định số 361/QĐ-BYT ngày 25 tháng 01 năm 2014 của Bộ trưởng Bộ Y tế)
2. **Nguyễn Đình Khoa, Trần Ngọc Hữu Đức** (2017). Vai trò của xét nghiệm HLA-B27 và chụp cộng hưởng từ khớp cùng chậu trong chẩn đoán sớm bệnh viêm cột sống dính khớp. Tạp chí Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh, 21(2), 250-256
3. **Akkoç, N., Yarkan, H., Kenar, G., & Khan, M. A.** (2017). Ankylosing spondylitis: HLA-B* 27-positive versus HLA-B* 27-negative disease. Current rheumatology reports, 19, 1-11.
4. **Arévalo, M., Gratacós Masmitjà, J., Moreno, M., Calvet, J., Orellana, C., Ruiz, D.,... & Font, P.** (2018). Influence of HLA-B27 on the ankylosing spondylitis phenotype: results from the REGISPONSER database. Arthritis research & therapy, 20(1), 1-6.
5. **Colbert, R. A., Tran, T. M., & Layh-Schmitt, G.** (2014). HLA-B27 misfolding and ankylosing spondylitis. Molecular immunology, 57(1), 44-51.
6. **Lin, H., & Gong, Y. Z.** (2017). Association of HLA-B27 with ankylosing spondylitis and clinical features of the HLA-B27-associated ankylosing spondylitis: a meta-analysis. Rheumatology International, 37, 1267-1280.
7. **Ranganathan, V., Gracey, E., Brown, M. A., Inman, R. D., & Haroon, N.** (2017). Pathogenesis of ankylosing spondylitis—recent advances and future directions. Nature Reviews Rheumatology, 13(6), 359-367.
8. **Yang, P., Wan, W., Du, L., Zhou, Q., Qi, J., Liang, L.,... & Kijlstra, A.** (2018). Clinical features of HLA-B27-positive acute anterior uveitis with or without ankylosing spondylitis in a Chinese cohort. British Journal of Ophthalmology, 102(2), 215-219.

KHẢO SÁT TỈ LỆ KHÁNG THỂ KHÁNG NUCLEOSOME, C1Q, DS-DNA Ở BỆNH NHÂN LUPUS BAN ĐỎ HỆ THỐNG

Ngô Thị Bình Minh¹, Nguyễn Phương Thảo¹, Nguyễn Tấn Hiệp¹, Khuất Tuấn Anh¹, Mai Thị Bích Chi¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Lupus ban đỏ hệ thống (Systemic lupus erythematosus, SLE) là một bệnh tự miễn có thể gây tử vong do nhiều biến chứng. Sự hiện diện của các kháng thể kháng nhân (ANAs) là xét nghiệm chẩn đoán quan trọng. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh vai trò của các tự kháng thể anti-nucleosome (AnuAb), anti C1q (AC1qAb), anti-dsDNA trong chẩn đoán và theo dõi điều trị

Mục tiêu: Khảo sát tỉ lệ và nồng độ các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA ở 3 giai đoạn: thời điểm khởi phát bệnh (T0), sau 3 tháng điều trị (T1) và sau 6 tháng điều trị (T2) và mối tương quan giữa nồng độ các tự kháng thể với các chỉ số cận lâm sàng khác

Đối tượng-Phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang. 61 bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống, được chẩn đoán và điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh từ 08/2020 – 08/2022

Kết quả: Phân tích 61 bệnh nhân SLE, tuổi trung bình là 35,1; tỉ lệ nữ/nam là 11/1. Tại thời điểm T0, tỉ lệ các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA lần lượt là 8,0%; 21,3%; 42,6%.

Nồng độ AnuAb giảm có ý nghĩa thống kê ở thời điểm T1 và T2 ($p < 0,05$). Ghi nhận mối tương quan nghịch giữa nồng độ các kháng thể với nồng độ C3, C4, độ lọc cầu thận eGFR tại các thời điểm khảo sát

Kết luận: Trong nghiên cứu này, tự kháng thể anti-dsDNA chiếm tỉ lệ cao nhất với 42,6% tại thời điểm khởi phát bệnh, nồng độ AnuAb giảm có ý nghĩa thống kê qua các giai đoạn điều trị, nồng độ tự kháng thể có mối liên quan với các chỉ số hoạt động ở bệnh nhân SLE. Khuyến nghị chỉ định xét nghiệm theo thứ tự ưu tiên là AnuAb, anti-dsDNA, AC1qAb

Từ khóa: lupus ban đỏ hệ thống, tự kháng thể

SUMMARY

SURVEY OF THE CONCENTRATIONS OF ANTI-NUCLEOSOME, ANTI-C1Q, ANTI-DS DNA IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Background: Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease that can be fatal with many complications. The presence of antinuclear antibodies (ANAs) is an important diagnostic test. Many studies have demonstrated the role of autoantibodies anti-nucleosome (AnuAb), anti C1q (AC1qAb), anti-dsDNA in the diagnosis and treatment monitoring.

Objectives: Investigated the ratios and concentrations of autoantibodies AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA at 3 stages: time of disease onset (T0), after 3 months of treatment (T1) and after 6 months of treatment (T2) and the

¹Bệnh viện Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Mai Thị Bích Chi

SĐT: 0913822303

Email: chi.mtb@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 8.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 9.7.2023

correlations between the concentrations of auto-antibodies and subclinical indexes in SLE patients

Methods: Cross-sectional descriptive study. 61 systemic lupus erythematosus patients, diagnosed and treated at the University Medical Center at Ho Chi Minh City from 08/2020 to 08/2022

Results: Analyzed 61 SLE patients, mean age was 35,1; The female/male ratio was 11/1. At time T0, the proportions of AnuAb, AC1qAb, and anti-dsDNA autoantibodies were 8,0%; 21,3%; 42,6%. AnuAb concentrations decreased statistically at the time of T1 and T2 ($p < 0,05$). Recorded the negative correlations between the concentrations of auto-antibodies and the concentrations of C3, C4, glomerular filtration rate eGFR at the time of survey

Conclusion: In this study, anti-dsDNA auto-antibodies accounted for the highest proportion with 42,6% at the time of disease onset, AnuAb concentration decreased statistically significantly during the treatment stages, auto-antibody concentrations had correlations with subclinical indexes in SLE patients. It was recommended to order tests in order of preference AnuAb, anti-dsDNA, AC1qAb

Keywords: systemic lupus erythematosus, auto-antibodies

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lupus ban đỏ hệ thống (Systemic lupus erythematosus, SLE) là một bệnh tự miễn

của mô liên kết, chủ yếu gặp ở nữ giới mọi lứa tuổi, với tỉ lệ nữ/nam là 10/1 [1,2,3]. Bất thường miễn dịch, đặc biệt là sự hiện diện một số kháng thể kháng nhân (ANAs), là đặc điểm nổi bật cũng như là một trong những tiêu chuẩn chẩn đoán và theo dõi điều trị [3,5].

Nhiều nghiên cứu đã chứng minh vai trò của các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA trong chẩn đoán và theo dõi bệnh nhưng cho kết quả khác nhau về sự phân bố tỉ lệ cũng như mối liên quan giữa nồng độ các tự kháng thể này trong theo dõi mức độ hoạt động và các biến chứng khác của SLE [2,6,8]. Tuy nhiên, các số liệu thống kê về nồng độ các tự kháng thể qua nhiều giai đoạn tiến triển của bệnh chưa có nhiều công bố. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu này nhằm khảo sát nồng độ các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA qua 3 giai đoạn của SLE, nhằm đưa ra số liệu thống kê chung, hỗ trợ cho bác sĩ lâm sàng theo dõi và điều trị hiệu quả hơn

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân đến khám và điều trị tại Bệnh viện Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh từ 08/2020 – 08/2022

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân chẩn đoán SLE theo tiêu chuẩn EULAR 2019 của Hiệp hội thấp khớp Châu Âu [3]

	Triệu chứng	Điểm
Thể trạng	Sốt	2
Huyết học	Giảm bạch cầu	3
	Giảm tiểu cầu	4
	Tự miễn	4
Thần kinh	Mê sảng	2

	Rối loạn tâm thần	3
	Co giật	5
Da, niêm mạc	Mảng bong tróc da tóc, rụng tóc	2
	Loét miệng	2
	Viêm da bán cấp tính hoặc lupus đĩa đệm	4
	Lupus da cấp tính	6
Huyết thanh	Tràn dịch màng phổi hoặc màng ngoài tim	5
	Viêm màng ngoài tim cấp tính	6
Cơ, xương, khớp	Có bất thường	6
Thận	Protein niệu >0,5g/ 24 giờ	4
	Sinh thiết thận có mức viêm loại II hoặc V	8
	Sinh thiết thận có mức viêm loại III hoặc IV	10
Antiphospholipid antibodies	Anti-cardiolipin hoặc Anti-β2GP1	2
Xét nghiệm bổ thể	Mức C3 hoặc C4 thấp	3
	Mức C3 và C4 thấp	4

Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân phối hợp các bệnh tự miễn khác (viêm khớp dạng thấp, viêm đa cơ, xơ cứng bì, viêm gan do thuốc)

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang

Cách thu thập số liệu: Hồi cứu dữ liệu bệnh nhân thông qua hệ thống dữ liệu xét nghiệm và hồ sơ bệnh án. Tiến hành thu thập thông tin tuổi, giới và các kết quả xét nghiệm nồng độ: AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA, bổ

thể C3, C4, urea, creatinine huyết thanh, độ lọc cầu thận eGFR tại 3 thời điểm: khởi phát bệnh (T0), sau 3 tháng điều trị (T1), sau 6 tháng điều trị (T2)

Xử lý số liệu: Excel 2010 và SPSS 20.0

Phương pháp xét nghiệm: Bộ kit ELISA bán định lượng (AnuAb); định lượng (AC1qAb, anti-dsDNA) các kháng thể lớp IgG trong huyết thanh, cung cấp bởi DRG Instrument GmbH (Mỹ); kỹ thuật tự động trên máy Immunomat (Đức)

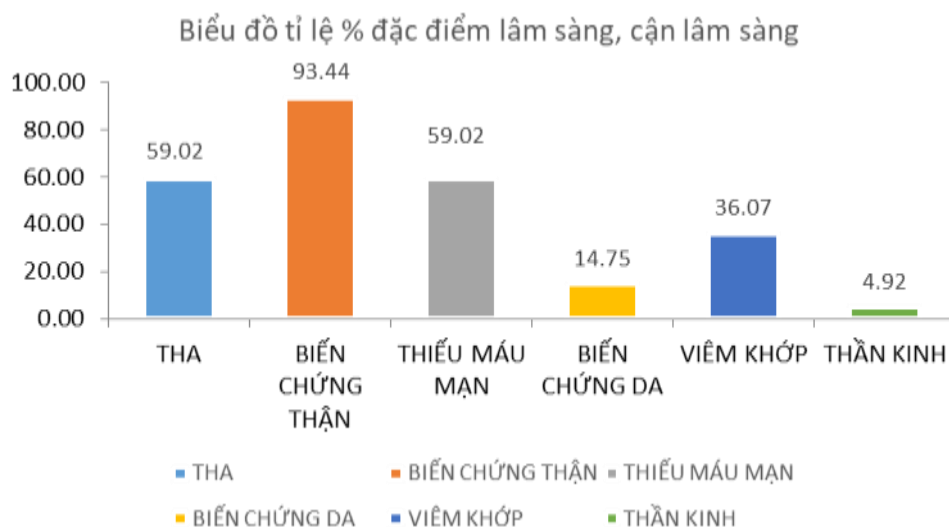
III. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1: Đặc điểm về nhóm tuổi

Nhóm tuổi	n	Tỉ lệ nam (%)	Tỉ lệ nữ (%)	Tổng số (n= 61)
18 – 29	15	13,3	86,7	24,7
30 – 49	42	2,4	97,6	68,8
≥ 50	4	50,0	50,0	6,5

Trong 61 BN, có 56 nữ và 5 nam với tỷ lệ tương ứng là 92,0% và 8,0%; tỷ lệ nữ/nam là 11/1, độ tuổi trung bình $35,1 \pm 9,2$. Nhóm tuổi 30-49 chiếm tỉ lệ cao nhất là 68,8% và thấp nhất là nhóm ≥ 50 tuổi với tỉ lệ 6,5%. SLE thường gặp ở nữ, độ tuổi 18-44. Kết quả này tương đồng với các công bố trong và ngoài nước [1,2,6]



Biểu đồ 3.1: Các biểu hiện lâm sàng, cận lâm sàng

3.2. Đặc điểm phân bố các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA tại thời điểm T0

Bảng 3.2: Tỉ lệ các tự kháng thể tại thời điểm T0

Tự kháng thể	Phân nhóm	N	%
AnuAb (Âm tính: < 1,2 S/CO)	Dương tính	5	8,0
	Âm tính	56	92,0
AC1qAb (Âm tính: < 10 IU/mL)	Dương tính	13	21,3
	Âm tính	48	78,7
Anti-dsDNA (Âm tính: < 25 IU/mL)	Dương tính	26	42,6
	Âm tính	35	57,4

Tại thời điểm T0, tỉ lệ dương tính với anti-dsDNA chiếm tỉ lệ cao nhất với 42,6% và thấp nhất là AnuAb với tỉ lệ 8%. Tỉ lệ dương tính của mỗi loại kháng thể dao động rất nhiều giữa các nghiên cứu trên thế giới [6,7]. Tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu cũng đưa ra kết quả khác nhau [1,2]. Sự khác biệt kết quả giữa các nghiên cứu là do nhiều nguyên nhân. (1) Dân số BN khác nhau; (về chủng tộc, sắc giới, tỉ lệ BN mới khởi phát bệnh hay mắc bệnh đã lâu có thể bị ảnh hưởng bởi thuốc điều trị) sẽ cho tỉ lệ kháng thể dương tính khác nhau. (2) Sự khác nhau về các kỹ thuật xét nghiệm, độ nhạy, độ đặc hiệu cũng như tính chuẩn hóa giữa các phòng

xét nghiệm cũng ảnh hưởng rất lớn đến tỉ lệ dương tính. Đa số các nghiên cứu trên thế giới đều sử dụng kỹ thuật ELISA để khảo sát nồng độ các tự kháng thể, trong phạm vi nghiên cứu này, chúng tôi cũng sử dụng kỹ thuật ELISA trên hệ thống máy bán tự động Immunomat. Kỹ thuật ELISA nói chung, tuy có nhiều ưu điểm như rẻ tiền, dễ thực hiện, nhưng cũng có khuyết điểm là tính không đồng nhất về nguồn kháng nguyên, ảnh hưởng đến độ nhạy của sự gắn kết phản ứng miễn dịch.

3.3. So sánh nồng độ các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA tại các thời điểm

Bảng 3.3: Nồng độ tại thời điểm T0 và T1

Tự kháng thể dương tính	T0			T1			p*
	N	%	Trung vị	N	%	Trung vị	
AnuAb (S/CO)	5	8,0	3,3 (2,9-100,0)	7	11,5	3,1(1,8-4,3)	< 0,001
AC1qAb (IU/ mL)	13	21,3	28,8(19,7-33,2)	10	16,4	18,7(12,8-37,4)	0,01
Anti-dsDNA (IU/ mL)	26	42,6	52,4(36,5-145,3)	21	34,4	40,6(27,8-74,1)	0,04

*: phép kiểm t-test

Bảng 3.4: Nồng độ tại thời điểm T0 và T2

Tự kháng thể dương tính	T0			T2			p*
	N	%	Trung vị	N	%	Trung vị	
AnuAb (S/CO)	5	8	3,3 (2,9-100,0)	2	3,3	3,2(3,0-3,3)	0,005
AC1qAb (IU/ mL)	13	21,3	28,8(19,7-33,2)	3	4,1	40,8(27,1-45,1)	0,18
Anti-dsDNA (IU/ mL)	26	42,6	52,4(36,5-145,3)	14	22,9	34,6(25,8-65,9)	0,16

*: phép kiểm t-test

So với thời điểm T1, nồng độ kháng thể đều giảm có ý nghĩa thống kê so với thời điểm T0. Tại thời điểm T2, chỉ có nồng độ AnuAb giảm có ý nghĩa thống kê so với thời điểm T0 với $p = 0,005$. Điều này cho thấy AnuAb tỏ ra là kháng thể nổi trội nhất trong theo dõi bệnh nhân lupus qua các giai đoạn; AC1qAb, anti-dsDNA chưa thấy rõ ý nghĩa sau quá trình điều trị. Một số tác giả khác cũng cho rằng AnuAb có giá trị nổi trội

hơn hẳn anti-dsDNA và có thể được hy vọng có ý nghĩa chẩn đoán và đưa ra quyết định điều trị khi không có anti-dsDNA [4,6]. Hiện nay, AnuAb đã được công nhận là dấu ấn quan trọng trong chẩn đoán, tuy nhiên cần nghiên cứu sâu rộng hơn về độ nhạy và độ đặc hiệu của AnuAb trong SLE

3.4. Mối tương quan giữa các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA với các chỉ số cận lâm sàng

Bảng 3.5: Mối tương quan giữa các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA với các chỉ số cận lâm sàng tại thời điểm T0

Mối tương quan		C3 (g/L)	C4 (g/L)	Ure (mg/gL)	Cre (mg/gL)	eGFR (ml/ph/1,73m ²)
AnuAb (S/CO)	p	0,226	0,139	0,721	0,313	0,562
	r	0,004	-0,094	-0,09	-0,05	0,09
AC1qAb (IU/mL)	p	0,001	0,001	0,28	0,282	0,001
	r	-0,456	-0,300	0,09	-0,01	-0,14
Anti-dsDNA (IU/mL)	p	0,001	0,001	0,95	0,223	0,16
	r	-0,542	-0,402	-0,052	0,097	0,036

Nhận xét: Tại thời điểm T0, nồng độ AC1qAb có mối tương quan nghịch mức độ vừa với nồng độ bổ thể C3, C4, độ lọc cầu thận eGFR ($p < 0,05$) với hệ số tương quan r lần lượt là -0,456; -0,300; -0,14. Nồng độ anti-dsDNA có mối tương quan nghịch mức độ vừa với nồng độ bổ thể C3, C4 với hệ số tương quan $r = -0,542$ và $r = -0,402$

Bảng 3.6: Mối tương quan giữa các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA với các chỉ số cận lâm sàng tại thời điểm T1

Mối tương quan		C3 (g/L)	C4 (g/L)	Ure (mg/gL)	Cre (mg/gL)	eGFR (ml/ph/1,73m ²)
AnuAb (S/CO)	p	0,08	0,01	0,274	0,19	0,907
	r	-0,159	-0,214	-0,05	-0,08	0,027
AC1qAb (IU/mL)	p	0,001	0,001	0,137	0,186	0,001
	r	-0,394	-0,23	0,133	0,07	-0,155
Anti-dsDNA (IU/mL)	p	0,001	0,001	0,95	0,223	0,01
	r	-0,535	-0,182	-0,04	0,09	-0,29

Nhận xét: Tại thời điểm T1, nồng độ AC1qAb có mối tương quan nghịch mức độ vừa với nồng độ bổ thể C3, C4, độ lọc cầu thận eGFR ($p < 0,05$) với hệ số tương quan r lần lượt là -0,394; -0,23; -0,155. Nồng độ anti-dsDNA có mối tương quan nghịch mức độ vừa với nồng độ bổ thể C3, C4, độ lọc cầu thận eGFR ($p < 0,05$) với hệ số tương quan $r = -0,53; -0,182; -0,29$

Bảng 3.7: Mối tương quan giữa các tự kháng thể AnuAb, AC1qAb, anti-dsDNA với các chỉ số cận lâm sàng tại thời điểm T2

Mối tương quan		C3 (g/L)	C4 (g/L)	Ure (mg/gL)	Cre (mg/gL)	eGFR (ml/ph/1,73m ²)
AnuAb (S/CO)	p	0,001	0,04	0,111	0,201	0,727
	r	-0,428	-0,248	-0,006	-0,07	0,09
AC1qAb (IU/mL)	p	0,312	0,003	0,001	0,007	0,001
	r	-0,06	-0,161	0,239	0,513	-0,148
Anti-dsDNA (IU/mL)	p	0,001	0,001	0,618	0,001	0,001
	r	-0,361	-0,188	-0,013	0,100	-0,219

Tại thời điểm T2, nồng độ AC1qAb và anti-dsDNA có mối tương quan thuận mức độ vừa $r = 0,513$ và $0,100$ so với nồng độ creatinin huyết thanh; tương quan nghịch mức độ yếu $r = -0,148$ và $-0,219$ với độ lọc cầu thận eGFR. Kết quả này cho thấy sau 6 tháng điều trị, anti-dsDNA và AC1qAb tỏ ra là kháng thể nổi trội trong theo dõi hoạt động SLE và biến chứng thận; tuy nhiên AnuAb chưa thấy rõ mối liên quan này. Nhiều công bố trong và ngoài nước cũng đưa ra kết luận về mối liên hệ giữa nồng độ các tự kháng thể với nồng độ bổ thể C3, C4 và các chỉ dấu biến chứng thận. Tác giả Phan Thị Vân Anh

phân tích thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ AC1qAb và nồng độ C3, nồng độ protein niệu cắt ngang và nồng độ hồng cầu niệu cắt ngang ($p < 0,05$), từ đó cho thấy, AC1qAb có sự liên quan với tổn thương thận và mức độ hoạt động của bệnh SLE [2]. Tác giả Dhason tại Ấn Độ cũng đưa ra kết quả mối tương quan nghịch mức độ vừa giữa nồng độ anti-dsDNA với nồng độ C3, C4 ($r = -0,432; r = -0,608$) [5].

IV. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, anti-dsDNA chiếm tỉ lệ cao nhất với 42,6% tại

thời điểm khởi phát bệnh, nồng độ AnuAb giảm có ý nghĩa thống kê qua các giai đoạn của bệnh, nồng độ các tự kháng thể có mối tương quan với các chỉ số cận lâm sàng theo dõi bệnh. Do đó chúng tôi khuyến nghị xét nghiệm định lượng các tự kháng thể này theo thứ tự ưu tiên là AnuAb, anti-dsDNA, AC1qAb. Đồng thời mở rộng thêm dữ liệu nghiên cứu nhằm kiểm tra độ nhạy, độ đặc hiệu các chỉ dấu sinh học này trên bệnh nhân SLE

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Đặng Thu Hương, Nguyễn Tất Thắng** (2013), Tỷ lệ kháng thể kháng nucleosome trong bệnh lupus ban đỏ hệ thống – mối tương quan giữa kháng thể kháng nucleosome với ANA, Anti-dsDNA và độ hoạt động của bệnh. Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh, 17(1), pp. 294-300
2. **Phạm Thị Vân Anh, Nguyễn Văn Đoàn, Cao Thị Trinh** (2023). Kháng thể kháng C1q ở bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống có tổn thương thận. Tạp chí Y học Việt Nam, 523(2)
3. **Aringer M, Costenbader K, Daikh D, et al** (2019). *Arthritis Rheumatol* 71(9):1400–1412
4. **Bizzaro, N., Villalta, D., Giavarina, D., & Tozzoli, R.** (2012). Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis. *Autoimmunity reviews*, 12(2), 97-106
5. **Dhason, T. M.** (2017). Correlation between anti-dsDNA, complement components C3, C4 and Systemic Lupus Erythematosus disease activity index. *Journal of Immunology and Clinical Microbiology*, 2(3), 54-61.
6. **Elessawi, D. F., Mahmoud, G. A., El-Sawy, W. S., Shieba, H. F., & Goda, S. M.** (2019). Antinucleosome antibodies in systemic lupus erythematosus patients: Relation to disease activity and lupus nephritis. *The Egyptian Rheumatologist*, 41(1), 31-34
7. **Fabrizio, C., Fulvia, C., Carlo, P., Laura, M., Elisa, M., Francesca, M.,... & Guido, V.** (2015). Systemic lupus erythematosus with and without anti-dsDNA antibodies: analysis from a large monocentric cohort. *Mediators of inflammation*, 2015
8. **Linnik, M. D., Hu, J. Z., Heilbrunn, K. R., Strand, V., Hurley, F. L., Joh, T., & LJP 394 Investigator Consortium.** (2005). Relationship between anti-double-stranded DNA antibodies and exacerbation of renal disease in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 52(4), 1129-1137.

SỰ LIÊN QUAN GIỮA KHÁNG THỂ KHÁNG NHÂN (ANA) VỚI CÁC TRIỆU CHỨNG LÂM SÀNG VÀ ĐẶC ĐIỂM CẬN LÂM SÀNG Ở BỆNH NHÂN VIÊM GAN TỰ MIỄN TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP. HỒ CHÍ MINH

Vi Kim Phong², Nguyễn Hữu Huy², Cao Minh Nga^{1,2},
Mai Thị Bích Chi², Lưu Nguyễn Trung Thông²,
Nguyễn Thị Kim Loan², Nguyễn Hoàng Bắc^{1,2},
Lê Minh Khôi^{1,2}, Nguyễn Thị Bằng Sương^{1,2}

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Viêm gan tự miễn (AIH) là một bệnh viêm gan cấp tính hoặc mãn tính do phản ứng miễn dịch không rõ nguồn gốc gây ra. AIH là một bệnh hiếm gặp nhưng có tỷ lệ mắc ngày càng tăng ở khu vực Châu Á – Thái Bình Dương. Kháng thể kháng nhân (ANA) là tự kháng thể đầu tiên liên quan đến AIH.

Mục tiêu: Khảo sát tỷ lệ và mối liên hệ giữa marker ANA với các triệu chứng lâm sàng, đặc điểm cận lâm sàng ở nhóm Viêm gan tự miễn tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP. HCM

Đối tượng-Phương pháp: Nghiên cứu mô tả cắt ngang. 72 bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định viêm gan tự miễn tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM theo bảng tính điểm rút gọn của Hennes EM 2008 kết hợp với tiêu chuẩn của hệ thống tính điểm chẩn đoán viêm gan tự miễn sửa đổi năm 1999 trong khoảng thời gian 01/2018 – 04/2023.

Kết quả: Ở 72 bệnh nhân viêm gan tự miễn, tuổi trung bình \pm độ lệch chuẩn là $56,3 \pm 16,8$

tuổi; tỷ lệ nữ là 72,2% và nam là 27,8%. Khoảng một nửa số bệnh nhân có triệu chứng viêm gan cấp tính. Xơ gan được tìm thấy ở 35% với điểm số APRI và FIB-4 tăng cao. ANA là tự kháng thể thường gặp nhất ở bệnh nhân AIH (63%).

Kết luận: Bệnh nhân có dấu ấn ANA dương tính có nguy cơ viêm gan cấp cao hơn và men gan GGT cao hơn so với bệnh nhân nhóm dấu ấn ANA âm tính.

Từ khóa: viêm gan tự miễn, tự kháng thể

SUMMARY

CORRELATIONS BETWEEN ANTINUCLEAR ANTIBODY (ANA) AND CLINICAL AND PARACLINICAL CHARACTERISTICS IN PATIENTS WITH THE AUTOIMMUNE HEPATITIS IN UNIVERSITY MEDICAL CENTER HCMC

Background: Autoimmune hepatitis (AIH) is an acute or chronic inflammatory disease of the liver caused by an immune response of unknown origin. AIH is a rare disease but with increasing incidence in the Asia-Pacific area. Antinuclear antibodies were the first autoantibodies to be associated with AIH.

Objectives: This study aimed to survey the prevalence and the correlations between ANA and the clinical, paraclinical characteristics in patients with autoimmune hepatitis at University Medical Center HCMC.

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Huy

SĐT: 0857461789

Email: huy.nh2@umc.edu.vn

Ngày nhận bài: 5.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Nghiêm Luật

Ngày duyệt bài: 7.7.2023

Methods: Cross-sectional descriptive study. 72 patients diagnosed with autoimmune hepatitis according to the shortened scoring table Hennes EM 2008 in combination with the standard diagnosis scoring system of autoimmune hepatitis amended in 1999 and treated at the University Medical Centre in Ho Chi Minh City from January 2018 to April 2022.

Results: In 72 patients with autoimmune hepatitis, mean age \pm standard deviation is 56.3 ± 16.8 years; the proportion of female was 72% and male was 28%. Approximately half of patients presented with symptoms of acute hepatitis. ANA is the most frequent autoantibodies generated in patients with AIH (63%).

Conclusion: Patients with positive ANA had a higher risk of acute hepatitis and a higher level of GGT compared with patients with patients with negative ANA.

Keywords: autoimmune hepatitis, autoantibodies, ANA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm gan tự miễn (Auto Immune Hepatitis – AIH) là một bệnh lý mạn tính hiếm gặp phản ánh tình trạng viêm và tổn thương tế bào gan liên quan đến tự kháng thể của người bệnh. Cơ chế được đề xuất cho sự phát triển của bệnh viêm gan tự miễn là do sự tác động lẫn nhau của yếu tố di truyền, yếu tố môi trường và đáp ứng của hệ thống miễn dịch tự nhiên dẫn đến tình trạng viêm mãn tính của tế bào gan và sau đó là xơ hóa gan [3].

Tỷ lệ hiện mắc AIH ước tính là 19,44, 22,80 và 12,99/100.000 tại châu Âu, Hoa Kỳ và châu Á và có xu hướng tăng lên [1]. Kháng thể kháng nhân là tự kháng thể đầu tiên có liên quan đến AIH và khoảng 50–75% bệnh nhân AIH dương tính với ANA [3]. Hiện nay không có tiêu chuẩn “vàng”

trong chẩn đoán VGTM, việc chẩn đoán phân loại, tiên lượng cũng như chỉ định điều trị VGTM chủ yếu dựa vào triệu chứng, xét nghiệm trong phòng thí nghiệm và sinh thiết vì không có xét nghiệm chẩn đoán đơn lẻ nào là tiên lượng bệnh cho bệnh AIH. Tuy nhiên tại Việt Nam, nhiều nghiên cứu còn hạn chế trong việc đề cập một cách toàn diện về các đặc điểm cận lâm sàng của bệnh mà chủ yếu chỉ ra sự thay đổi trong chỉ số sinh hóa. Đó là lí do mà chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: Sự liên quan giữa marker ANA với các triệu chứng lâm sàng và chỉ số cận lâm sàng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả

Đối tượng nghiên cứu: 72 bệnh nhân được chẩn đoán Viêm gan tự miễn điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM từ 01/2018 – 04/2023

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân đã được chẩn đoán xác định viêm gan tự miễn tại Bệnh viện Đại học Y Dược TP.HCM theo bảng tính điểm rút gọn của Hennes EM 2008 kết hợp với tiêu chuẩn của hệ thống tính điểm chẩn đoán viêm gan tự miễn sửa đổi năm 1999

Tiêu chuẩn loại trừ: Những bệnh nhân có tổn thương gan đã xác định nguyên nhân khác như viêm gan virus, tổn thương gan do thuốc, do rượu, ung thư gan.

Phương pháp nghiên cứu

Thu thập các đặc điểm:

- Nhân khẩu học: Tuổi, giới
- Chẩn đoán lâm sàng: Viêm gan cấp, ứ mật, xơ gan, não gan, suy gan
- Chỉ số cận lâm sàng
- Chỉ số xét nghiệm sinh hóa: Albumin, AST, ALT, GGT, Bilirubin TP, Bilirubin TT, Alkaline Phosphatase, Gammaglobulin

Chỉ số xét nghiệm huyết học – đông máu:
công thức máu, tiểu cầu, prothrombin time

Chỉ số xét nghiệm miễn dịch: ANA, ASMA, LKM, AMA, F-Actin, LC-1

Xử lý thống kê

Các số liệu được thống kê và xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Trong số 72 bệnh nhân được chẩn đoán AIH có 52 bệnh nhân nữ (72%) và 20 bệnh nhân nam (28%); tỷ lệ nữ/nam: 2,6/1. Tuổi hay gặp nhất là tuổi trung niên, tuổi trung bình là $56,3 \pm 16,7$. Nhóm tuổi 41-60 chiếm tỷ lệ cao nhất là 47,2% và thấp nhất là nhóm 20-40 chiếm tỷ lệ 15,3%.

3.2. Các đặc điểm lâm sàng

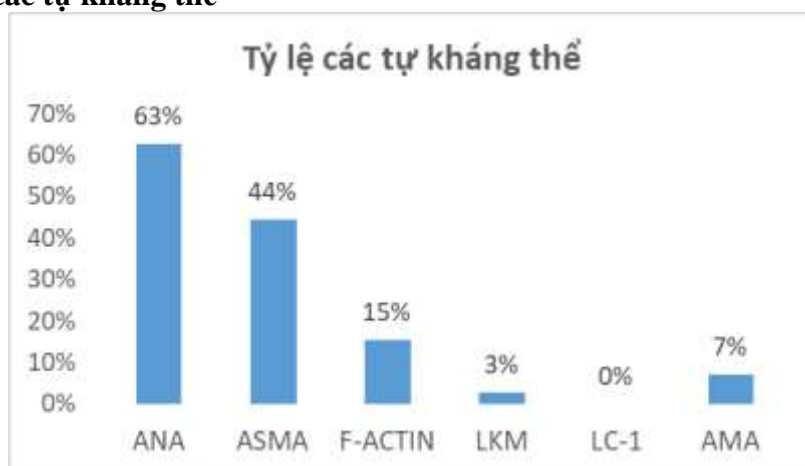
Tỷ lệ các bệnh gan được chẩn đoán lâm sàng trong nghiên cứu được thể hiện ở Biểu đồ 1.



Hình 1. Tỷ lệ các bệnh gan được chẩn đoán lâm sàng

Hình 1 cho thấy viêm gan cấp và xơ gan hay gặp nhất ở bệnh nhân được chẩn đoán AIH với tỷ lệ lần lượt là 50%, 35%.

3.3. Tỷ lệ các tự kháng thể



Hình 2. Tỷ lệ các tự kháng thể được phát hiện ở các bệnh nhân bị bệnh gan

Tự kháng thể ANA là loại tự kháng thể thường gặp nhất ở bệnh nhân được chẩn đoán AIH chiếm 63%.

3.4. Liên quan giữa marker ANA với tình trạng xơ gan, viêm gan cấp

Bảng 1. Liên quan giữa marker ANA với tình trạng xơ gan, viêm gan cấp

Marker		Xơ gan		Tổng
		Bình thường	Xơ gan	
ANA	Âm tính	14	13	27
	Dương tính	33	12	45
Tổng		47	25	72
Marker		Viêm gan cấp		Tổng
		Bình thường	Viêm gan cấp	
ANA	Âm tính	15	12	27
	Dương tính	21	24	45
Tổng		36	36	72

Bảng 1 cho thấy nhóm dương tính với dấu ấn ANA có ít nguy cơ xơ gan với OR: 0.39 (95% CI: 0.14 - 1.06) (Xơ gan); nhưng tăng nguy cơ viêm gan cấp với OR: 1.43 (95% CI: 0.55 - 3.72) so với nhóm dấu ấn ANA âm tính.

3.5. Liên quan giữa marker ANA với chỉ số cận lâm sàng

Bảng 2. Liên hệ quan giữa marker ANA với chỉ số cận lâm sàng

Chỉ số xét nghiệm	ANA dương tính (n=45)	ANA âm tính (n=28)	Khoảng tham chiếu	P kiểm định mann-whitney
	Giá trị trung vị	Giá trị trung vị		
Albumin	29,7 (24,1 – 28,0)	33,7 (27,6 – 37,0)	32-52 G/L	>0,05
Bilirubin-T	28,2 (12,3 – 106,9)	23,9 (15,9 – 204,8)	<17 umol/L	>0,05
Bilirubin-D	12,6 (5,2 – 108,6)	37,8 (5,1 – 156,9)	<5 umol/L	>0,05
AST	110 (60 – 356)	85 (46 – 432)	<40 U/L	>0,05
ALT	118 (46 – 493,5)	104 (50 – 580)	<41 U/L	>0,05
GGT	168 (84 – 486)	108,5 (45,3 – 237,3)	<40 U/L	<0,05*
ALP	126,4 (72,7 – 189,9)	121,7 (92,5 -280,5)	64-300 U/l	>0,05
Gamma Globulin	16 (12-22)	13,5 (12,5 – 20)	7-16g/L	>0,05
WBC	6,6 (4,5 – 9,9)	7 (4,6 – 9,6)	4-10 G/L	>0,05
RBC	4,2 (3,4 – 4,6)	4,4 (3,8 – 4,7)	3.8-5.5 T/L	>0,05
PLT	215 (122,5 – 295,5)	200 (93 – 281)	150-450 G/L	>0,05
PT	15,2 (12,9 – 22,9)	16,4 (14,1 – 18,6)	11.1-15.2s	>0,05
APRI	1,9 (0,9 – 5,5)	1,8 (0,4 -5,0)	≤ 0,5	>0,05
FIB-4	4,1 (2,1 – 8,9)	4,5 (0,9 – 9,7)	< 1,45	>0,05

Nhóm dương tính với marker ANA có nồng độ GGT cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ANA âm tính, còn các chỉ số xét

nghiệm khác không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

IV. BÀN LUẬN

Viêm gan tự miễn là bệnh lý gan mạn tính đặc trưng bởi tình trạng viêm tế bào gan mà căn nguyên còn chưa rõ. Chẩn đoán và điều trị viêm gan tự miễn hiện còn khó khăn do không có tác nhân gây bệnh rõ ràng, cần loại trừ các nguyên nhân gây bệnh khác. Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tuổi trung bình của bệnh nhân là $56,3 \pm 16,7$; bệnh nhân nữ chiếm đa số (72%). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu Takahashi A (2020) ghi nhận độ tuổi bệnh nhân 63 (52–70), bệnh nhân nữ chiếm đa số (84%) [4]. Về triệu chứng lâm sàng thì thường gặp nhất là viêm gan cấp (50%), sau đó là xơ gan (35%). Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu Tamimi TA (2023) và Nguyễn Công Long (2022) đều ghi nhận viêm gan cấp là nguyên nhân nhập viện hàng đầu của bệnh nhân AIH [5,6]. Về xét nghiệm tự kháng thể thì tự kháng thể ANA là loại tự kháng thể thường gặp nhất chiếm 63%. Kết quả này cũng tương đồng với Takahashi A (2020) và Tamimi TA (2023) đều ghi nhận tự kháng thể ANA là loại tự kháng thể phổ biến nhất chiếm tỷ lệ 86,7 – 46,7% [4, 5].

Trong nghiên cứu của chúng tôi thì các chỉ số cận lâm sàng của bệnh nhân AIH như Bilirubin-T, Bilirubin-D, AST, ALT, GGT, APRI, FIB-4 đều cao hơn ngưỡng tham chiếu nhiều lần, điều này chứng tỏ các bệnh nhân đang trong giai đoạn tiến triển của viêm gan tự miễn tương đồng với Takahashi A (2020) và Tamimi TA (2023) đều ghi nhận sự gia tăng của enzyme gan và bilirubin [4, 5]. Về mối liên hệ giữa marker ANA và các triệu chứng lâm sàng thì chúng tôi đã ghi nhận nhóm dương tính với marker ANA có tỷ lệ xơ gan thấp hơn nhưng tỷ lệ viêm gan cấp cao hơn so với nhóm marker ANA âm tính. Về các chỉ số cận lâm sàng thì chỉ ghi nhận thông số GGT cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm marker ANA dương tính. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu Đỗ

Hồng Sơn (2014) đã ghi nhận tỷ lệ xơ gan gặp ở nhóm ANA âm tính là 88,9 %, còn ở nhóm ANA dương tính là 38,8%. Đồng thời tác giả Đỗ Hồng Sơn cũng ghi nhận tình rối loạn đông máu, thiếu máu, tăng globulin miễn dịch, tăng ALP giữa 2 nhóm có ANA âm tính và dương tính là không có sự khác biệt [7].

V. KẾT LUẬN

Tỷ lệ dấu ấn ANA dương tính chiếm 63% bệnh nhân được chẩn đoán AIH. Bệnh nhân có marker ANA dương tính có nguy cơ viêm gan cấp cao hơn và men gan GGT cao hơn so với bệnh nhân nhóm dấu ấn ANA âm tính.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Katsumi T and Ueno Y.** Epidemiology and surveillance of autoimmune hepatitis in Asia. *Liver Int* 2022 Aug; 42(9): 2015-2022.
2. **Liberal R, Mieli-Vergani G, and Vergani D.** Clinical significance of autoantibodies in autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2013 Oct; 46: 17-24.
3. **Mieli-Vergani G, Vergani D, Czaja A J, et al.** Autoimmune hepatitis. *Nat Rev Dis Primers* 2018 Apr 12; 4: 18017.
4. **Takahashi A, Ohira H, Abe K, et al.** Increasing incidence of acute autoimmune hepatitis: a nationwide survey in Japan. *Sci Rep* 2020 Aug 28; 10(1): 14250.
5. **Tamimi TA, Sallam M, Rayyan D, et al.** Clinical Characteristics of Autoimmune Hepatitis in a Middle Eastern Population: A Tertiary Care Center Experience. *J Clin Med* 2023 Jan 12; 12(2): 629.
6. **Nguyễn Công Long, Lê Văn Anh** (2022), Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị bệnh nhân viêm gan tự miễn. *Tạp chí Y dược học Quân sự* 2022; số 3: 134-143
7. **Đỗ Hồng Sơn** (2014), Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng viêm gan tự miễn, Luận văn thạc sĩ, Đại học Y Hà Nội.

NGHIÊN CỨU GIÁ TRỊ CHẨN ĐOÁN UNG THƯ BIỂU MÔ TẾ BÀO GAN CỦA NỒNG ĐỘ PIVKA-II HUYẾT THANH

Bùi Thị Lan Anh¹, Nguyễn Thị Ngọc Lan^{2,3}, Nguyễn Đức Tuấn^{2,3},
Đào Thị Luận^{4,5}, Nguyễn Quốc Cường², Tạ Thành Văn^{2,3}

TÓM TẮT

Ung thư gan là một bệnh lý rất phổ biến, tuy nhiên phần lớn bệnh nhân ung thư gan không được phát hiện ở giai đoạn sớm dẫn tới tiên lượng không tốt. Chính vì vậy, việc áp dụng các công nghệ mới như các chỉ dấu sinh học trong sàng lọc và chẩn đoán sớm ung thư gan luôn là một vấn đề nhận được nhiều sự quan tâm. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá giá trị chẩn đoán ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG) của xét nghiệm PIVKA-II trên 150 đối tượng gồm 50 bệnh nhân UTBMTBG được chẩn đoán mới, chưa điều trị; 50 bệnh nhân bệnh gan mạn tính và 50 người khoẻ mạnh đến khám và điều trị tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 7/2022 đến tháng 6/2023. Kết quả cho thấy, nồng độ trung bình PIVKA-II ở nhóm khoẻ mạnh, nhóm có bệnh gan mạn tính và nhóm UTBMTBG lần lượt là $15,32 \pm 2,62$ ng/mL, $56,86 \pm 166,75$ ng/mL và $2668,23 \pm 5636,67$ ng/mL, và sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê. PIVKA-II có giá trị tốt trong chẩn đoán UTBMTBG với

giá trị diện tích dưới đường cong ROC lên tới 0,905 và độ nhạy, độ đặc hiệu đạt 84%, 72%. Đặc biệt, độ nhạy này ở nhóm UTBMTBG giai đoạn sớm (Barcelona giai đoạn 0-A) cũng đạt 76,5%. Bên cạnh đó, chúng tôi cũng ghi nhận mối liên quan giữa nồng độ PIVKA-II với kích thước khối u và giai đoạn bệnh.

Từ khóa: ung thư biểu mô tế bào gan, PIVKA-II, Elecsys PIVKA-II

SUMMARY

STUDY ON DIAGNOSTIC VALUE OF SERUM PIVKA-II LEVELS FOR HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Liver cancer is a common disease, but most of the patients with liver cancer are not detected at an early stage leading to a poor prognosis. Therefore, the application of new technologies such as biomarkers in screening and early diagnosis of liver cancer is really a matter of concern. In this study, we evaluated the diagnostic value of hepatocellular carcinoma of the PIVKA-II assay. We used a descriptive cross-sectional study method on 150 subjects including: 50 patients with newly diagnosed hepatocellular carcinoma, not yet treated; 50 patients with chronic liver disease and 50 healthy people came for examination and treatment at Hanoi Medical University Hospital from 6/2022 to 7/2023. The results showed that the median values of serum PIVKA-II amount in the healthy group, the group with chronic liver disease and the HCC group were 15.32 ± 2.62 ng/mL, 56.86 ± 166.75 ng/mL, and 2668.23 ± 5636.67 ng/mL,

¹Trường Đại học Y Dược Thái Bình

²Bộ môn Hóa sinh, Trường Đại học Y Hà Nội

³Khoa xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

⁴Bộ môn Giải phẫu bệnh, Trường Đại học Y Hà Nội

⁵Khoa giải phẫu bệnh, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Tạ Thành Văn

SĐT: 0912272922

Email: tathanhvan@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Nghiêm Luật

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

respectively, and the difference between groups was statistically significant. The PIVKA-II assay has good value in the diagnosis of HCC with the area under the ROC curve value is 0.905 and the sensitivity and specificity reaching 84%, 72%. In particular, the sensitivity in the group of early hepatocellular carcinoma also reached 76.5%. Besides, we also noted the relationship between serum PIVKA-II concentration with tumor size and disease stage.

Keywords: HCC, PIVKA-II, Elecsys PIVKA-II

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ung thư gan là một bệnh lý rất thường gặp hiện nay, theo nghiên cứu của GLOBOCAN năm 2020, đây là loại ung thư phổ biến thứ bảy và có tỷ lệ tử vong đứng hàng thứ ba trên thế giới. Hàng năm ở Việt Nam có khoảng 150.000 trường hợp mắc mới bệnh ung thư, trong đó ung thư gan ở nam giới đứng thứ hai, chỉ sau ung thư phổi và đứng hàng thứ 6 ở nữ.¹ Đến nay, phần lớn bệnh nhân ung thư gan ở Việt Nam không được phát hiện ở giai đoạn sớm dẫn tới hiệu quả điều trị không cao, tiên lượng kém trong khi chi phí điều trị rất lớn. Chính vì vậy, việc sàng lọc và chẩn đoán sớm ung thư gan luôn là một vấn đề nhận được nhiều sự quan tâm.

Hiện nay, đã có nhiều chiến lược sàng lọc và chẩn đoán sớm ung thư gan được đưa trong đó nổi bật là các chỉ dấu sinh học như AFP, AFP-L3 và PIVKA-II. AFP là chỉ dấu sinh học thường được sử dụng, tuy nhiên AFP cũng tăng trong nhiều bệnh lý khác như viêm gan mạn, xơ gan và chúng chỉ tăng khoảng 60% các trường hợp ung thư biểu mô tế bào gan (UTBMTBG). Do đó, độ nhạy, độ đặc hiệu không cao của AFP đơn độc không cao trong sàng lọc và chẩn đoán sớm UTBMTBG. Bên cạnh AFP, chỉ dấu sinh học

PIVKA-II (Prothrombin Induced by Vitamin K Absence-II) hay còn gọi là DCP (Des-gamma-Carboxy Prothrombin) được hình thành từ một dạng bất thường của prothrombin được tạo ra do thiếu vitamin K, đồng thời chúng cũng tăng trong huyết thanh bệnh nhân UTBMTBG. Những năm gần đây, nhiều nghiên cứu trên thế giới như nghiên cứu của Jun Ji hay nghiên cứu của Fei Xu đã chứng minh giá trị của PIVKA-II trong chẩn đoán sớm UTBMTBG.^{2,3}

Tại Việt Nam, Bộ Y tế đã đưa ra hướng dẫn sử dụng bộ 3 xét nghiệm AFP, AFP-L3 và PIVKA-II trên hệ thống máy điện di mao quản để sàng lọc, chẩn đoán sớm UTBMTBG trên một số nhóm đối tượng nguy cơ. Tuy nhiên, việc phải thực hiện đồng thời cả 3 chỉ số xét nghiệm cũng gây ra những khó khăn trong thực tế lâm sàng, hạn chế các đối tượng được sàng lọc bệnh, đồng thời chi phí cao. Vì vậy, việc có thể triển khai các xét nghiệm có thể định lượng PIVKA-II đơn độc, trên các hệ thống máy xét nghiệm tự động thông thường sẽ cung cấp thêm những lựa chọn phù hợp để nâng cao hiệu quả của chiến lược sàng lọc, chẩn đoán UTBMTBG. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm đánh giá giá trị chẩn đoán UTBMTBG của nồng độ PIVKA-II trong huyết tương của bệnh nhân.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Nhóm UTBMTBG: Đối tượng nghiên cứu (ĐTNC) đáp ứng đủ tiêu chuẩn chẩn đoán mắc UTBMTBG theo hướng dẫn chẩn đoán và điều trị UTBMTBG, quyết định số 3129/QĐ-BYT. ĐTNC phát hiện bệnh lần đầu, chưa có can thiệp, điều trị.

- Nhóm bệnh gan mạn tính: ĐTNC đáp ứng đủ tiêu chuẩn chẩn đoán mắc bệnh gan mạn tính theo hướng dẫn của bộ y tế.

- Nhóm khỏe mạnh: ĐTNC chưa phát hiện bệnh lý thực thể trong quá trình thăm khám sức khỏe định kỳ.

- ĐTNC có đầy đủ thông tin hồ sơ, bệnh án.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- ĐTNC có mắc kèm các bệnh ung thư khác.

- ĐTNC đang có thai hoặc đang trong thời kỳ hậu sản.

- ĐTNC có tiền sử thiếu hụt vitamin K, hoặc đang dùng các thuốc kháng vitamin K.

- ĐTNC không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

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

- Thời gian thực hiện: Tháng 7/2022 – 6/2023.

- Địa điểm nghiên cứu: Khoa xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

- Phương pháp chọn mẫu và cỡ mẫu nghiên cứu: Chọn mẫu thuận tiện tối thiểu 50 ĐTNC cho mỗi nhóm.

- Biến số và chỉ số nghiên cứu:

Thông tin lâm sàng: Giới, tuổi, chẩn đoán bệnh, chẩn đoán giai đoạn bệnh, số lượng u, kích thước u, tình trạng huyết khối tĩnh mạch cửa.

Thông tin cận lâm sàng: nồng độ PIVKA-II

- Quy trình nghiên cứu: ĐTNC đáp ứng tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu được thu thập thông tin, lấy mẫu máu. Mẫu máu được vận chuyển tới khoa Xét nghiệm, sau đó tiến hành ly tâm tách huyết thanh. Xét nghiệm Elecsys PIVKA-II sử dụng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang (ECLIA) trên hệ thống Cobas e801.

- Phân tích số liệu: số liệu được nhập bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0.

- Đạo đức nghiên cứu: Toàn bộ thông tin được truy cập hồi cứu từ hồ sơ bệnh án, các thông tin được bảo mật và không can thiệp vào quá trình điều trị bệnh nhân.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

		Nhóm 1: Khỏe mạnh		Nhóm 2: Bệnh gan mạn tính		Nhóm 3: UTBMTBG		P value nhóm 2 và 3
		N=50	%	N=50	%	N=50	%	
Tuổi	X ± SD	40,06 ± 12		56,92 ± 11,5		59,06 ± 12,08		0,367
	Dưới 60	44	88%	28	56%	23	46%	
	Trên 60	6	12%	22	44%	27	54%	
Giới	Nam	24	48%	34	68%	43	86%	0,056
	Nữ	26	52%	16	32%	7	14%	
Xét nghiệm	PIVKA-II (ng/mL)	15,32 ± 2,62		56,86±166,75		2668,23±5636,67		0,002*

Tuổi trung bình của nhóm khoẻ mạnh, bệnh gan mạn tính và UTBMTBG lần lượt là $40,06 \pm 12$ tuổi, $56,92 \pm 11,5$ tuổi và $59,06 \pm 12,08$ tuổi. Tỷ lệ nam giới ở 3 nhóm lần lượt là 48%, 68%, 86%. Không có sự khác biệt về tuổi, giới giữa nhóm bệnh gan mạn tính và nhóm UTBMTBG. Nồng độ trung bình PIVKA-II của nhóm khoẻ mạnh, bệnh gan

mạn tính và UTBMTBG lần lượt là $15,32 \pm 2,62$ ng/mL, $56,86 \pm 166,75$ ng/mL, $2668,23 \pm 5636,67$ ng/mL. Sự khác biệt về nồng độ PIVKA-II giữa nhóm bệnh gan mạn tính và nhóm UTBMTBG là có ý nghĩa thống kê.

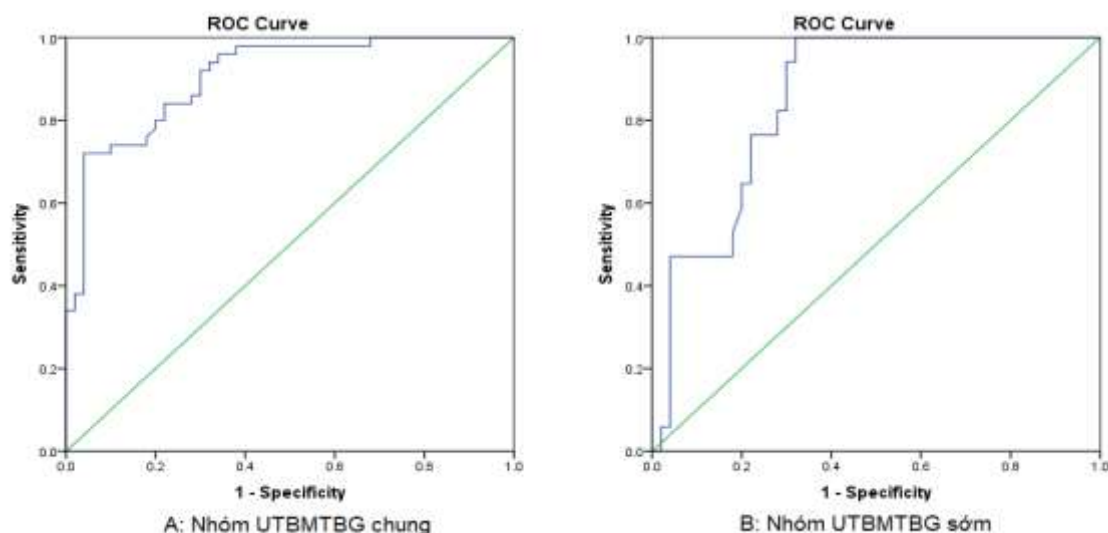
3.2. Giá trị của xét nghiệm PIVKA-II trong chẩn đoán UTBMTBG

Bảng 2. Giá trị của xét nghiệm PIVKA-II trong chẩn đoán UTBMTBG

	AUC	Chỉ số Youden			Ngưỡng tham chiếu khuyến cáo		
		Cut off (ng/mL)	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Cut off (ng/mL)	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
Nhóm UTBMTBG	0,905	90,65	72%	96%	28,4	84%	72%
Nhóm UTBMTBG giai đoạn sớm (Barcelona 0, A)	0,852	24,65	100%	68%	28,4	76,5%	72%

Trong chẩn đoán phân biệt giữa nhóm UTBMTBG và nhóm bệnh gan mạn tính, xét nghiệm PIVKA-II có diện tích dưới đường cong là 90,5%. Tại ngưỡng tham chiếu khuyến cáo của nhà sản xuất là 28,4 ng/mL, độ nhạy và độ đặc hiệu của xét nghiệm

PIVKA-II lần lượt là 84% và 72%. Đối với nhóm UTBMTBG giai đoạn sớm diện tích dưới đường cong đạt 85,2 % và độ nhạy tại ngưỡng tham chiếu khuyến cáo của nhà sản xuất là 76,5%.



Hình 1. Giá trị của xét nghiệm PIVKA-II trong chẩn đoán UTBMTBG

(A) Đường cong ROC của xét nghiệm PIVKA-II trong chẩn đoán UTBMTBG

(B) Đường cong ROC của xét nghiệm PIVKA-II trong chẩn đoán sớm UTBMTBG

3.3. Mối liên quan giữa nồng độ PIVKA-II với một số yếu tố khác ở bệnh nhân UTBMTBG

Bảng 3. Mối liên quan giữa nồng độ PIVKA-II với một số yếu tố khác ở bệnh nhân UTBMTBG

		Nồng độ PIVKA-II huyết thanh (ng/mL)	P value
Số lượng u	1 u	287642 ± 6846,53	0,581
	2-3 u	1034,15 ± 1578,09	
	Trên 3 u	3347,78 ± 5406,11	
Kích thước u	Dưới 5 cm	1107,55 ± 4264,81	0,05*
	Trên 5cm	4228,91 ± 6450,18	
HKTM cửa	Có	5146,7 ± 8796,58	0,177
	Không	2196,14 ± 4830,46	
Mức độ xơ gan	Child Pugh A	3709,36 ± 6303,07	0,624
	Child Pugh B	989,57 ± 761,36	
	Child Pugh C	1597,38 ± 2061,85	
Giai đoạn UTBMTBG theo Barcelona	Giai đoạn sớm (0-A)	184,75 ± 271,05	<0,001*
	Giai đoạn muộn (B, C, D)	3947,6 ± 6606,79	

Ở nhóm UTBMTBG, nồng độ PIVKA-II huyết thanh ở nhóm bệnh nhân có kích thước u nhỏ dưới 5 cm và trên 5 cm lần lượt là 1107,55 ± 4264,81 ng/mL và 4228,91 ± 6450,18 ng/mL, nồng độ PIVKA-II ở nhóm bệnh nhân được chẩn đoán ở giai đoạn sớm và giai đoạn muộn lần lượt là 184,75 ± 271,05 ng/mL và 3947,6 ± 6606,79 ng/mL. Sự khác biệt về nồng độ PIVKA-II huyết thanh giữa các nhóm trên là có ý nghĩa thống kê. Không có sự khác biệt về nồng độ PIVKA-II ở những bệnh nhân có 1 u, 2-3 u hay nhiều u, bệnh nhân có huyết khối tĩnh mạch cửa hay không, bệnh nhân có các mức độ xơ gan khác nhau (Child Pugh A, B, C).

IV. BÀN LUẬN

Nhiều nghiên cứu trước đây trên thế giới cũng như tại Việt Nam cho thấy, nhóm đối tượng thường gặp của các bệnh gan mạn tính

và UTBMTBG là nam giới, tuổi cao. Lý giải cho điều này có thể do nam giới thường có thói quen sinh hoạt không lành mạnh, sử dụng rượu, bia, thuốc lá, các chất kích thích nhiều hơn nữ giới, cũng như sự tích lũy các đột biến trong cơ thể do quá trình sống. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi trung bình của nhóm khỏe mạnh, bệnh gan mạn tính và UTBMTBG lần lượt là 40,06 ± 12 tuổi, 56,92 ± 11,5 tuổi, 59,06 ± 12,08 tuổi; tỷ lệ giới nam trong các nhóm khỏe mạnh, bệnh gan mạn tính và UTBMTBG lần lượt là 48%, 68% và 86%. Có sự khác biệt về tuổi trung bình cũng như tỷ lệ giới giữa nhóm khỏe mạnh và 2 nhóm còn lại, tuy nhiên không có sự khác biệt về 2 chỉ số này giữa nhóm bệnh gan mạn tính và nhóm UTBMTBG. Kết quả trên tương tự với nghiên cứu của Tôn Thất Ngọc năm 2021 trên 70 bệnh nhân UTBMTBG với tuổi trung bình là 58,2 ±

10,7 tuổi; và tỷ lệ nam giới là 82,9%.⁴ Những kết quả này một lần nữa nhấn mạnh nhóm đối tượng nam giới, tuổi cao là nhóm cần được tập trung sàng lọc và chẩn đoán sớm các bệnh gan mạn tính cũng như UTBMTBG.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ PIVKA-II huyết thanh ở nhóm khỏe mạnh là: $15,32 \pm 2,62$ ng/mL thấp hơn so với nhóm có bệnh gan mạn tính là: $56,86 \pm 166,75$ ng/mL; và cả 2 nhóm này đều thấp hơn nhóm UTBMTBG là: $2668,23 \pm 5636,67$ ng/mL; sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Tôn Thất Ngọc (2021) với nồng độ PIVKA-II huyết thanh ở nhóm khỏe mạnh, nhóm bệnh gan mạn tính và nhóm UTBMTBG cũng ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm nghiên cứu.⁴ Hơn thế nữa, kết quả của chúng tôi cho thấy xét nghiệm PIVKA-II đơn độc có giá trị trong chẩn đoán phân biệt UTBMTBG với các bệnh gan mạn tính khác với giá trị diện tích dưới đường cong ROC lên tới 0,905 và độ nhạy, độ đặc hiệu tối ưu tại ngưỡng cut-off: 90,65 ng/mL lần lượt là 72% và 96%. Tại ngưỡng cut-off theo khuyến cáo của nhà sản xuất là 28,4 ng/mL, độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm PIVKA-II đơn độc là 84% và 72%. Đặc biệt, độ nhạy này ở nhóm UTBMTBG giai đoạn sớm (Barcelona giai đoạn 0-A) cũng đạt 76,5%. Kết quả này tương tự với kết quả nghiên cứu của Chan HLY và cộng sự trên 168 bệnh nhân UTBMTBG và 208 bệnh nhân bệnh gan mạn tính với độ nhạy và độ đặc hiệu là 86,9%, 83,7%, đối với nhóm UTBMTBG giai đoạn sớm, độ nhạy cũng đạt 77,9%.⁵

Khi xem xét mối liên quan giữa kết quả xét nghiệm PIVKA-II với một số yếu tố khác ở bệnh nhân UTBMTBG, chúng tôi nhận thấy nồng độ PIVKA-II huyết thanh ở nhóm có khối u trên 5 cm lớn hơn nhóm có u dưới 5 cm ($4228,91 \pm 6450,18$ ng/mL so với $1107,55 \pm 4264,81$ ng/mL), sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê. Kết quả này của chúng tôi tương tự như kết quả nghiên cứu của Zakhary NI (2013) trên 83 đối tượng trong đó có 48 bệnh nhân UTBMTBG. Bên cạnh đó, nồng độ PIVKA-II huyết thanh ở nhóm UTBMTBG giai đoạn muộn cũng cao hơn so với nhóm được phát hiện ở giai đoạn sớm ($3947,6 \pm 6606,79$ ng/mL so với $184,75 \pm 271,05$ ng/mL), sự khác biệt này là có ý nghĩa thống kê. Kết quả này tương tự như nghiên cứu của Yu R cho thấy nồng độ PIVKA-II huyết thanh cao hơn đáng kể ở giai đoạn muộn (B, C, D) so với giai đoạn sớm (0, A).⁶ Mặt khác, nhiều nghiên cứu cũng chỉ ra mối liên quan giữa nồng độ PIVKA-II huyết thanh và một số yếu tố khác của bệnh nhân UTBMTBG. Ví dụ như nghiên cứu của Yamatoko K và cộng sự trên 96 bệnh nhân UTBMTBG cho thấy nồng độ PIVKA-II có liên quan tới số lượng khối u.⁷ Tuy nhiên trong nghiên cứu này của chúng tôi, mặc dù có sự gia tăng nồng độ PIVKA-II ở nhóm bệnh nhân có trên 3 khối u hay nhóm có huyết khối tĩnh mạch cửa so với các nhóm còn lại, nhưng sự khác biệt này là chưa có ý nghĩa thống kê. Lý giải cho kết quả này có thể quần thể nghiên cứu, cỡ mẫu cũng như tiêu chuẩn lựa chọn ĐTNC khác nhau giữa các nghiên cứu, do đó chúng tôi kiến nghị cần có những nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn nữa để đánh giá toàn diện mối liên quan giữa

nồng độ PIVKA-II huyết thanh đơn độc và các yếu tố khác nhau ở bệnh nhân UTBMTBG.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ PIVKA-II huyết thanh ở nhóm UTBMTBG cao hơn nhóm khỏe mạnh, nhóm bệnh gan mạn tính, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. PIVKA-II có giá trị tốt trong chẩn đoán UTBMTBG với độ nhạy, độ đặc hiệu tại ngưỡng cut-off khuyến cáo là 84% và 72%. Nồng độ PIVKA-II huyết thanh có sự liên quan với kích thước khối u và giai đoạn bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 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 Cancer J Clin* 2021; 71(3): 209-249.
- Ji J, Liu L, Jiang F, et al.** The clinical application of PIVKA-II in hepatocellular carcinoma and chronic liver diseases: A multi-center study in China. *J Clin Lab Anal* 2021; 35(11): e24013.
- Xu F, Zhang L, He W, Song D, Ji X, Shao J.** The Diagnostic Value of Serum PIVKA-II Alone or in Combination with AFP in Chinese Hepatocellular Carcinoma Patients. *Dis Markers* 2021; 2021: 8868370.
- Tôn Thất Ngọc.** Nghiên cứu giá trị của alpha-fetoprotein, alpha-fetoprotein-len 3 và des-gamma-carboxy prothrombin trong chẩn đoán và điều trị ung thư biểu mô tế bào gan. Published online 2021: 181.
- Chan HLY, et al.** Performance evaluation of the Elecsys PIVKA-II and Elecsys AFP assays for hepatocellular carcinoma diagnosis. *JGH Open Access J Gastroenterol Hepatol* 2022; 6(5): 292-300.
- Yu R, Xiang X, Tan Z, Zhou Y, Wang H, Deng G.** Efficacy of PIVKA-II in prediction and early detection of hepatocellular carcinoma: a nested case-control study in Chinese patients. *Sci Rep* 2016; 6: 35050.
- Yamamoto K, Imamura H, Matsuyama Y, et al.** AFP, AFP-L3, DCP, and GP73 as markers for monitoring treatment response and recurrence and as surrogate markers of clinicopathological variables of UTBMTBG. *J Gastroenterol* 2010; 45(12): 1272-1282.

ĐẶC ĐIỂM NỒNG ĐỘ VITAMIN D HUYẾT THANH CỦA BỆNH NHÂN ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 2 TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Nguyễn Thị Ngọc Lan^{1,2}, Nguyễn Anh Thu^{1,2}, Nguyễn Đức Tuấn^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Tiến hành khảo sát nồng độ vitamin D huyết thanh và một số yếu tố liên quan ở bệnh nhân ĐTD type 2 tại bệnh viện Đại học Y Hà Nội. **Đối tượng và phương pháp:** Tiến hành trên 191 đối tượng bao gồm 60 đối tượng đã được chẩn đoán mắc ĐTD type 2 và 131 đối tượng thuộc nhóm chứng, tất cả được làm xét nghiệm định lượng nồng độ 25-hydroxyvitamin D huyết thanh để đánh giá tình trạng vitamin D. **Kết quả:** Có sự suy giảm nồng độ vitamin D huyết thanh ở nhóm bệnh nhân ĐTD so với nhóm chứng ($18,12 \pm 5,36$ ng/mL và $25,10 \pm 4,62$ ng/mL). Có 93,3% bệnh nhân ĐTD type 2 có tình trạng thiếu vitamin D trong đó có 43,3% thiếu vitamin D mức độ nặng. Trong nhóm bệnh nhân ĐTD type 2, nồng độ vitamin D ở nhóm không đạt mục tiêu kiểm soát HbA1C thấp hơn nhóm bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát HbA1C, nồng độ vitamin D ở nhóm có rối loạn lipid máu thấp hơn nhóm không có rối loạn lipid máu. Bên cạnh đó, chúng tôi tìm thấy mối tương quan nghịch giữa nồng độ vitamin D với chỉ số HbA1C với hệ số tương quan $R^2=0,256$. **Kết luận:** Ở bệnh nhân ĐTD, tỷ lệ thiếu vitamin D là 93,3% và tỷ lệ thiếu vitamin D mức độ nặng là

43,3%. Có mối liên quan giữa tình trạng thiếu vitamin D và chỉ số HbA1C cũng như tình trạng rối loạn lipid máu ở bệnh nhân ĐTD.

Từ khóa: Đái tháo đường type 2, 25-hydroxy vitamin D, vitamin D.

SUMMARY

CHARACTERISTICS OF VITAMIN D SERUM OF DIABETES TYPE 2 PATIENTS AT HANOI MEDICAL UNIVERSITY HOSPITAL

Aim of research: To survey serum vitamin D levels and some related factors in patients with type 2 diabetes at Hanoi Medical University hospital. **Subjects and methods:** Conducted on 191 subjects including 60 subjects diagnosed with type 2 diabetes and 131 subjects in the control group, all were quantitatively tested for serum 25-hydroxyvitamin D levels to assessment of vitamin D status. **Results:** There was a decrease in serum vitamin D levels in the group of diabetic patients compared with the control group (18.12 ± 5.36 ng/mL and 25.10 ± 4.62 ng/mL). There are 93.3% of patients with type 2 diabetes have vitamin D deficiency, of which 43.3% have severe vitamin D deficiency. In the group of patients with type 2 diabetes, vitamin D levels in the group that did not achieve the HbA1C control goal were lower than those in the group who achieved the HbA1C control goal, and the vitamin D levels in the group with dyslipidemia were lower than the group without the disorder. dyslipidemia. Besides, we found an inverse correlation between vitamin D concentration and HbA1C index with correlation

¹Bộ môn Hóa Sinh, trường Đại học Y Hà Nội

²Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Ngọc Lan
SĐT: 0964311285

Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 01/7/2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Văn Trân

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

coefficient $R^2=0.256$. **Conclusion:** In patients with diabetes, the rate of vitamin D deficiency was 93.3% and the rate of severe vitamin D deficiency was 43.3%. There is a relationship between vitamin D deficiency and HbA1C index as well as dyslipidemia in diabetic patients.

Keywords: Type 2 diabete, 25-hydroxy vitamin D, vitamin D.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vitamin D là một vitamin tan trong dầu có ý nghĩa quan trọng đối với sức khỏe con người, chức năng chính của chúng là điều hòa nồng độ canxi và phospho. Trong cơ thể, dưới tác dụng của enzym 25-hydroxylase, vitamin D được chuyển thành 25-hydroxylvitamin D (25(OH)D), đây được coi là chất phản ánh tốt nhất tình trạng vitamin D trong máu.¹ Hiện nay, tình trạng thiếu vitamin D đã và đang là một vấn đề sức khỏe toàn cầu ảnh hưởng tới hàng tỷ người, đặc biệt trong bối cảnh các bệnh lý mãn tính như đái tháo đường, tim mạch, ung thư ngày càng trở nên phổ biến góp phần có thể làm trầm trọng thêm tình trạng này. Đái tháo đường (ĐTĐ) type 2 là một trong những bệnh mãn tính phổ biến nhất hiện nay với trên 500 triệu ca mắc và có tới trên 2 triệu ca tử vong hàng năm trên toàn cầu. Tại Việt Nam những năm qua, số lượng bệnh nhân ĐTĐ type 2 không ngừng gia tăng, đặc biệt nước ta nằm trong top 10 quốc gia có tỉ lệ gia tăng bệnh ĐTĐ type 2 cao nhất thế giới với tỷ lệ lên tới 5,5% mỗi năm.

Bên cạnh các yếu tố như di truyền, chế độ luyện tập, chăm sóc thì dinh dưỡng luôn là một yếu tố được đặc biệt quan tâm ở bệnh nhân ĐTĐ type 2 với nguyên tắc cơ bản là hạn chế tối đa glucid, hạn chế các axit béo bão hòa, đảm bảo lượng protein. Gần đây, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy

ảnh hưởng của các vi chất dinh dưỡng trong bệnh lý ĐTĐ type 2 mà tiêu biểu là vitamin D. Trong bệnh lý ĐTĐ type 2, vitamin D ảnh hưởng tới quá trình điều hòa insulin nhờ khả năng cân bằng nồng độ canxi trong máu, đồng thời phân tử 1,25(OH)₂D kết hợp với thụ thể vitamin D trong tế bào β đảo tụy và tế bào đích làm kích thích biểu hiện của thụ thể insulin từ đó tăng cường quá trình tiết insulin và tăng sự nhạy cảm insulin.¹ Một số nghiên cứu trên thế giới đã cho thấy thiếu vitamin D có liên quan tới sự gia tăng một số rối loạn như tăng nồng độ glucose, thừa cân béo phì, rối loạn lipid máu cũng như một số biến chứng ở bệnh nhân mắc ĐTĐ type 2. Đặc biệt, việc bổ sung đủ vitamin D giúp làm giảm nguy cơ tiến triển từ tiền ĐTĐ thành bệnh ĐTĐ cũng như hạn chế biến chứng ở bệnh nhân ĐTĐ type 2.

Đến thời điểm hiện tại, các nghiên cứu trên thế giới về tình trạng vitamin D ở bệnh nhân ĐTĐ type 2 đang ngày càng nhận được nhiều sự quan tâm, tuy nhiên ở Việt Nam hiện nay chưa có nhiều nghiên cứu về vấn đề này. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu khảo sát nồng độ vitamin D và mối liên quan giữa nồng độ vitamin D với các yếu tố khác ở bệnh nhân mắc ĐTĐ type 2.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

- Nhóm bệnh: đối tượng nghiên cứu (ĐTNC) đã được chẩn đoán mắc ĐTĐ type 2 theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị đái tháo đường type 2 ban hành cùng quyết định số 3319/QĐ-BYT của Bộ trưởng Bộ Y tế.

- Nhóm chứng: ĐTNC chưa phát hiện bệnh lý thực thể trong quá trình thăm khám sức khỏe định kỳ.

Loại trừ phụ nữ có thai hoặc người dưới 18 tuổi, các đối tượng mắc các bệnh kết hợp hoặc đang sử dụng chế phẩm chứa vitamin D.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang từ tháng 1/2021 đến tháng 6/2023 tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội. Khám lâm sàng, xét nghiệm cận lâm sàng lựa chọn đối tượng nghiên cứu. Lấy máu xét nghiệm 25(OH)D, HbA1C, triglycerid, cholesterol, LDL-C, HDL-C, AST, ALT, Creatinin.

- Tình trạng vitamin D: tình trạng vitamin D bình thường khi nồng độ 25(OH)D huyết tương trên 30 ng/ml, thiếu vitamin D mức độ nhẹ khi nồng độ 25(OH)D huyết tương từ 20 đến 30 ng/ml, thiếu vitamin D mức độ nặng khi nồng độ 25(OH)D huyết tương dưới 20 ng/ml.²

- Tình trạng kiểm soát đường huyết: Tình trạng kiểm soát đường huyết được xác định theo Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị đái tháo đường type 2 ban hành cùng quyết định số 3319/QĐ-BYT với mục tiêu kiểm soát HbA1C của nhóm bệnh nhân người trưởng thành là 7%, người cao tuổi là 7,5 % và người cao tuổi có kèm nhiều bệnh lý nền là 8%.

- Tình trạng rối loạn lipid máu: Tình trạng rối loạn lipid máu được xác định khi ĐTNĐ đáp ứng ít nhất 1 trong các tiêu chuẩn

sau: Triglycerid > 1,7 mmol/L, LDL-cholesterol > 2,58mmol/L, HDL-cholesterol < 1,0 mmol/L đối với nữ giới và <1,3 mmol/L đối với nam giới.

Xét nghiệm định lượng nồng độ 25(OH)D được thực hiện trên hệ thống máy xét nghiệm tự động Cobas C8000 e801 dựa trên phản ứng cạnh tranh miễn dịch điện hóa phát quang. Các xét nghiệm định lượng triglycerid, cholesterol, LDL-C, HDL-C được thực hiện trên hệ thống máy xét nghiệm sinh hóa tự động Cobas c601. Xét nghiệm HbA1C được thực hiện trên máy xét nghiệm Cobas c513. Các xét nghiệm trên các hệ thống kể trên đều tuân thủ đúng khuyến cáo của nhà sản xuất và có kết quả thực hiện nội kiểm, ngoại kiểm đạt theo đúng quy định.

- Xử lý số liệu bằng phần mềm Microsoft Excel 2016 và phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0.

- Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức nghiên cứu y học, thông tin thu thập được đảm bảo an toàn và tính riêng tư.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm đối tượng nghiên cứu

Trong số 191 đối tượng nghiên cứu, có 60 đối tượng đã được chẩn đoán mắc ĐTNĐ type 2 và 131 đối tượng thuộc nhóm chứng.

Bảng 3.1: Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

		Nhóm chung N=191	Nhóm chứng N=131	Nhóm bệnh ĐTNĐ type 2 N=60	p value
Tuổi	Tuổi TB	55,61 ± 12,71	54,58 ± 12,21	57,85 ± 13,58	0,099
	≤ 50	69 (36,10%)	52 (39,70%)	17 (28,30%)	0,146
	> 50	122 (63,90%)	79 (60,30%)	43 (71,70%)	
Giới tính	Nam	72 (37,70%)	45 (34,40%)	27 (45,00%)	0,198
	Nữ	119 (62,30%)	86 (65,60%)	33 (55,00%)	

Địa dư	Thành phố	108 (56,50%)	77 (58,80%)	31 (51,70%)	0,432
	Nông thôn	83 (43,50%)	54 (41,20%)	29 (48,30%)	
Cận lâm sàng	HbA1C (%)	6,77 ± 1,9	5,84 ± 0,75	8,79 ± 2,06	<0,01*
	Triglycerid (mmol/L)	2,28 ± 2,07	1,9 ± 1,28	3,11 ± 3,03	0,004*
	Cholesterol (mmol/L)	5,31 ± 1,37	5,22 ± 1	5,5 ± 1,94	0,287
	LDL-C (mmol/L)	3,25 ± 1,16	3,28 ± 0,86	3,18 ± 1,64	0,665
	HDL-C (mmol/L)	1,43 ± 1,55	1,49 ± 1,84	1,27 ± 0,4	0,385
	Creatinin (μmol/L)	68,07 ± 16,91	66,49 ± 14,27	71,53 ± 21,32	0,099
	AST (U/L)	24,87 ± 18	25,76 ± 20,06	22,95 ± 12,27	0,319
	ALT (U/L)	28,97 ± 32,32	28,51 ± 36,41	29,97 ± 20,99	0,774

* $p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê

Độ tuổi trung bình của nhóm ĐTĐ type 2 là $57,85 \pm 13,58$, độ tuổi trung bình của nhóm chứng là $54,58 \pm 12,21$. Trong nhóm ĐTĐ type 2, tỷ lệ ĐTNC trên 50 tuổi chiếm 71,70%, tỷ lệ này ở nhóm chứng là 60,3%. Giá trị HbA1C và nồng độ triglycerid của nhóm ĐTĐ type 2 lần lượt là $8,79 \pm 2,06$ (%) và $3,11 \pm 3,03$ (mmol/L), trong khi của nhóm chứng là $5,84 \pm 0,75$ (%) và $1,9 \pm 1,28$

(mmol/L), sự khác biệt giữa 2 nhóm là có ý nghĩa thống kê. Không có sự khác biệt giữa 2 nhóm về tuổi trung bình, tỷ lệ giới tính và khu vực sinh sống cũng như các chỉ số cholesterol, LDL-C, HDL-D, AST, ALT, Creatinin.

3.2 Nồng độ vitamin D và tình trạng thiếu vitamin D của ĐTNC

Bảng 3.2: Nồng độ vitamin D và tình trạng thiếu vitamin D của ĐTNC

		Nhóm chứng N=131	Nhóm bệnh ĐTĐ type 2 N=60	p value
Nồng độ 25(OH)D3 trung bình (ng/mL)		25,1 ± 4,62	18,12 ± 5,36	<0,001*
Tình trạng vitamin D	Thiếu nặng (<20ng/ml)	13 (9,90%)	26 (43,30%)	<0,001*
	Thiếu nhẹ (20-30ng/ml)	102 (77,90%)	30 (50,00%)	
	Bình thường (>30ng/ml)	16 (12,20%)	4 (6,70%)	

* $p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê

Nồng độ vitamin D trung bình ở nhóm ĐTĐ type 2 và nhóm chứng lần lượt là $18,12 \pm 5,36$ ng/mL và $25,10 \pm 4,62$ ng/mL. Sự khác biệt về nồng độ vitamin D có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm ĐTNC ($p < 0,05$). Có 16 trong tổng số 131 (chiếm 12,20%) ĐTNC thuộc nhóm chứng không thiếu vitamin D, tỷ lệ này trong nhóm ĐTĐ type 2 là 4/60

(chiếm 6,70%). Tỷ lệ thiếu vitamin D nặng ở nhóm ĐTĐ type 2 và nhóm chứng lần lượt là 43,30% và 9,90%. Sự khác biệt về tình trạng thiếu vitamin D ở nhóm ĐTĐ type 2 và nhóm chứng là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

3.3. Một số yếu tố liên quan tới nồng độ vitamin D ở nhóm ĐTĐ type 2

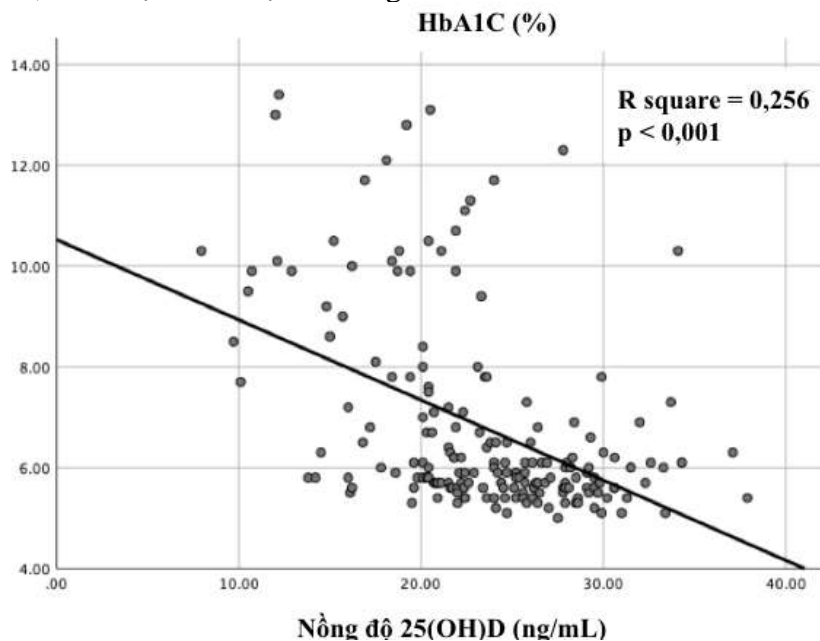
Bảng 3.3: Nồng độ vitamin D ở nhóm ĐTĐ type 2 và các yếu tố liên quan

Đặc điểm		Nồng độ vitamin D trung bình (ng/mL)	p value	Tình trạng vitamin D		P value
				Thiếu nặng N (%)	Bình thường hoặc thiếu nhẹ N (%)	
Tuổi	≤ 50	18,18 ± 6,44	0,951	6 (35,3%)	11 (64,7%)	0,566
	> 50	18,09 ± 4,95		20 (46,5%)	23 (53,5%)	
Giới tính	Nam	17,36 ± 6,68	0,353	12 (44,4%)	15 (55,6%)	1,000
	Nữ	18,73 ± 3,98		14 (42,4%)	19 (57,6%)	
Địa dư	Thành phố	18,39 ± 5,15	0,682	16 (51,6%)	15 (48,4%)	0,203
	Nông thôn	17,82 ± 5,65		10 (34,5%)	19 (65,5%)	
Mục tiêu kiểm soát HbA1C	Đạt	19,51 ± 5,40	0,042*	5 (18,5%)	22 (81,5%)	<0,001*
	Không đạt	16,98 ± 5,13		21 (63,6%)	12 (36,4%)	
Rối loạn lipid máu	Không	22,89 ± 6,45	0,013*	4 (40,0%)	6 (60,0%)	1,000
	Có	17,16 ± 4,62		22 (44,0%)	28 (56,0%)	

* $p < 0,05$: có ý nghĩa thống kê

Trong nhóm ĐTĐ type 2, không có sự khác biệt về nồng độ vitamin D theo độ tuổi, giới tính và nơi sinh sống của đối tượng ($p > 0,05$). Nồng độ vitamin D trung bình ở nhóm có đạt mục tiêu kiểm soát HbA1C là $19,51 \pm 5,40$ (ng/mL) và ở nhóm không đạt mục tiêu là $16,98 \pm 5,13$ (ng/mL). Tỷ lệ bệnh nhân thiếu vitamin D nặng ở 2 nhóm lần lượt là 18,50% và 63,60%. Sự khác biệt về nồng

độ, tình trạng thiếu vitamin D giữa 2 nhóm là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 không đi kèm rối loạn lipid máu có nồng độ vitamin D trung bình là $22,89 \pm 6,45$ (ng/mL) và ở nhóm có rối loạn lipid máu là $17,16 \pm 4,62$ (ng/mL). Sự khác biệt về nồng độ vitamin D trung bình giữa 2 nhóm là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).



Hình 3.1: Mối tương quan giữa nồng độ 25(OH)D và chỉ số HbA1C

Trong nhóm ĐTĐ type 2, có mối tương quan nghịch giữa nồng độ vitamin D với chỉ số HbA1C với $R^2=0,256$ và mức ý nghĩa thống kê $p<0,01$.

IV. BÀN LUẬN

Tình trạng thiếu vitamin D đã và đang là một vấn đề rất thường gặp hiện nay, ảnh hưởng tới hàng tỷ người trên toàn cầu. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có tới 152 trong tổng số 191 ĐTNC có tình trạng thiếu vitamin D, ngay cả trong nhóm chúng tỷ lệ này cũng lên tới 90,07% (118/131 ĐTNC), mặc dù phần lớn chỉ thiếu vitamin D ở mức độ nhẹ (77,90%) và chỉ có 12,20% thiếu vitamin D mức độ nặng. Kết quả này thấp hơn so với một số nghiên cứu trước đây như nghiên cứu của Nguyễn Tấn Hiệp (2022) với 25,51% thiếu vitamin D mức độ nặng, lý giải cho điều này có thể là do sự khác biệt về đặc điểm quần thể, cỡ mẫu cũng như tiêu chuẩn lựa chọn ĐTNC.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy có sự suy giảm nồng độ vitamin D huyết thanh ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 so với nhóm chúng (18,12 ± 5,36 ng/mL và 25,10 ± 4,62 ng/mL), tỷ lệ thiếu vitamin D ở nhóm bệnh nhân ĐTĐ type 2 cũng cao hơn (93,3% so với 87,8%), đặc biệt có tới 43,30% số bệnh nhân ĐTĐ type 2 có tình trạng thiếu vitamin D nặng trong khi tỷ lệ này ở nhóm chúng chỉ là 12,2%. Kết quả của chúng tôi tương đồng với nhiều nghiên cứu tại Việt Nam cũng như trên thế giới như nghiên cứu của Nguyễn Lê Diệu Hiền (2023) với tỉ lệ thiếu vitamin D trên 117 đối tượng mắc ĐTĐ type 2 là 80,3%³, nghiên cứu của Georgios Papadakis (2017) chỉ ra tỉ lệ thiếu vitamin D ở bệnh nhân ĐTĐ là 85,9% hay nghiên cứu của Alhewishel (2020) với 89,68% bệnh nhân mắc ĐTĐ type 2 có thiếu vitamin D.^{4,5}

Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng nhận thấy nồng độ vitamin D ở nhóm bệnh nhân không đạt mục tiêu kiểm soát đường huyết thấp hơn so với nhóm bệnh nhân đạt mục tiêu kiểm soát (16,98 ± 5,13 ng/mL so với 19,51 ± 5,40 ng/mL). Bên cạnh đó, tỷ lệ thiếu vitamin D nặng ở nhóm không đạt mục tiêu kiểm soát HbA1C cũng cao hơn đáng kể với tỷ lệ lần lượt là 63,6% so với 18,5%. Quan điểm này đã được chứng minh ở nhiều nghiên cứu trước đây như nghiên cứu của Dương Thị Hồng Lý (2021) chỉ ra tình trạng thiếu vitamin D có mối liên quan đến việc kiểm soát đường máu ở bệnh nhân ĐTĐ type 2 và nồng độ vitamin D ở nhóm bệnh nhân kiểm soát tình trạng đường huyết kém thấp hơn đáng kể so với nhóm bệnh nhân kiểm soát tốt đường huyết.⁶ Hơn thế nữa, chúng tôi nhận thấy có mối tương quan nghịch giữa nồng độ vitamin D và chỉ số HbA1C với hệ số tương quan $R^2= 0,256$, (hệ số hồi quy = -0,164 và $p <0,001$). Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Zhao Hang (2020) với nồng độ vitamin D có mối tương quan nghịch với giá trị HbA1C (hệ số hồi quy = -0,254 và $p <0,001$).⁷

Rối loạn lipid máu là một tình trạng rất phổ biến ở bệnh nhân ĐTĐ type 2. Tình trạng này có thể xuất hiện trước khi bệnh nhân được chẩn đoán ĐTĐ type 2, đặc biệt ở nhóm đối tượng có lối sống kém lành mạnh, ít hoạt động thể lực, hay sử dụng thức ăn nhanh, tuy nhiên nó cũng có thể là hậu quả của bệnh lý ĐTĐ type 2. Do đó, tình trạng rối loạn lipid máu luôn được quan tâm ở bệnh nhân ĐTĐ type 2. Trong nghiên cứu này, khi đánh giá về tình trạng vitamin D ở bệnh nhân ĐTĐ type 2, chúng tôi cũng nhận thấy nồng độ vitamin D ở nhóm bệnh nhân không có tình trạng rối loạn lipid máu kèm theo cao hơn so với nhóm có rối loạn lipid

máu ($22,89 \pm 6,45$ ng/mL so với $17,16 \pm 4,62$ ng/mL). Kết quả này tương đồng với nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng như tại Việt Nam, ví dụ như nghiên cứu của Trần Hữu Thanh Tùng (2021) trên 214 đối tượng mắc ĐTĐ type 2 chỉ ra tỷ lệ bệnh nhân có triglyceride, cholesterol, LDL-C máu cao và HDL-C máu thấp ở nhóm bệnh nhân thiếu vitamin D cao hơn so với nhóm bệnh nhân không thiếu vitamin D.⁸ Hay nghiên cứu của Yosuf Abdullah Salih (2021) cũng cho rằng ở bệnh nhân mắc ĐTĐ type 2, tình trạng thiếu vitamin D càng nặng thì tỉ lệ rối loạn lipid máu càng cao.

V. KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu, ở bệnh nhân ĐTĐ, tỷ lệ thiếu vitamin D là 93,3% và tỷ lệ thiếu vitamin D mức độ nặng là 43,3%. Có mối liên quan giữa tình trạng thiếu vitamin D và chỉ số HbA1C cũng như tình trạng rối loạn lipid máu ở bệnh nhân ĐTĐ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Christakos S, Dhawan P, Verstuyf A, Verlinden L, Carmeliet G. Vitamin D: Metabolism, Molecular Mechanism of Action, and Pleiotropic Effects.** *Physiol Rev.* 2016;96(1):365-408. doi:10.1152/physrev.00014.2015
2. **Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, et al.** Evaluation, Treatment, and Prevention of Vitamin D Deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(7):1911-1930. doi:10.1210/jc.2011-0385
3. **Nguyễn LDH, Ngô TT, Phan KH, Lê TT.** Nghiên cứu mối liên quan giữa nồng độ 25-hydroxyvitamin D huyết tương và bệnh thận đái tháo đường ở người bệnh đái tháo đường típ 2 10. *Tạp Chí Học Việt Nam.* 2023;524(2). doi:10.51298/vmj.v524i2.4895
4. **AlHewishel MA, Bahgat M, Al Huwaiyshil A, Alsubie MA, Alhassan A.** 25(OH)D Serum Level in Non-Diabetic and Type II Diabetic Patients: A Cross-Sectional Study. *Cureus.* 2020;12(6):e8910. doi:10.7759/cureus.8910
5. **Papadakis G, Villiotou V.** Association between 25-Hydroxyvitamin D Levels and Glycemic Status. *Curr Res Diabetes Obes J.* 2017;1:1-4. doi:10.19080/CRDOJ.2017.1.555567
6. **Thị Hồng Lý D, Thị Thúy Hiền L, Thị Kim Thanh H.** Khảo sát nồng độ vitamin D ở bệnh nhân đái tháo đường type 2 cao tuổi có loãng xương. *Tạp Chí Học Việt Nam.* 2021;507(2). doi:10.51298/vmj.v507i2.1467
7. **Zhao H, Zhen Y, Wang Z, et al.** The Relationship Between Vitamin D Deficiency and Glycated Hemoglobin Levels in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther.* 2020;13:3899-3907. doi:10.2147/DMSO.S275673
8. **Tung THT.** Nghiên cứu nồng độ 25 hydroxy vitamin D huyết thanh và một số yếu tố liên quan trên bệnh nhân đái tháo đường típ 2. Công thông tin đại học huế, The portal of Hue university. Published 2022.

BIẾN THỂ ĐA HÌNH PNPLA3 I148M VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI MỘT SỐ ĐẶC ĐIỂM NHÂN TRẮC, SINH HOÁ Ở NGƯỜI CÓ GAN NHIỄM MỠ

Lê Dương Hoàng Huy¹, Nguyễn Minh Hà¹, Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn¹

TÓM TẮT

Giới thiệu: Biến thể đa hình đơn nucleotide I148M (rs738409) trên gen PNPLA3 là một yếu tố được chứng minh có vai trò quan trọng trong phân tầng nguy cơ ở bệnh gan nhiễm mỡ. Thông tin về tỉ lệ kiểu gen và mối liên quan với các chỉ số cận lâm sàng góp phần tạo tiền đề cho các nghiên cứu đoàn hệ và can thiệp nhằm nâng cao hiệu quả quản lý bệnh nhân gan nhiễm mỡ.

Mục tiêu: Xác định tỉ lệ của biến thể đa hình I148M (rs738409) và một số yếu tố nhân trắc và cận lâm sàng ở người gan nhiễm mỡ.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả loạt ca, khảo sát các đặc điểm cận lâm sàng và đặc điểm biến thể I148M trên cán bộ viên chức- người lao động (CBVC-NLĐ) Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch và nhân viên y tế (NVYT) công tác tại Bệnh viện Nguyễn Tri Phương khám tại sức khoẻ định kỳ từ 10/2022 đến 07/2023 có kết quả gan nhiễm mỡ qua siêu âm. Biến thể được xác định bằng kỹ thuật khuếch đại chuỗi thời gian thực realtime-PCR. Các chỉ số nhân trắc và cận lâm sàng sử dụng kết quả khám sức khoẻ.

Kết quả: Có 156 CBVC-NLĐ-NVYT tham gia nghiên cứu. Tuổi trung bình là 38 tuổi (26,90 – 47,04 tuổi), nữ chiếm 49,4%. Tỉ lệ alen C chiếm 65,4%, alen G chiếm 34,6%. Tỉ lệ kiểu

gen CC: 45%, CG: 41%, GG: 14%. CBVC-NLĐ có tiền sử tăng huyết áp chiếm 11,5%, đái tháo đường 5,1%. Trung bình của triglycerid là 1,53 (1,1 -2,3 mmol/L), cholesterol là 4,8 (4,1 -5,4 mmol/L), LDL-c là 1,3 (0,9 -3,1 mmol/L), HDL-c là 1,2 (1,2 – 2,9 mmol/L). Ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm có alen G và nhóm không có alen G ở chỉ số triglycerid và cholesterol.

Kết luận: Tỉ lệ alen C chiếm 65,4%, alen G chiếm 34,6%. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm có alen G và nhóm không có alen G ở chỉ số triglycerid và cholesterol.

Từ khóa: bệnh gan nhiễm mỡ, gen PNPLA3, biến thể đa hình đơn nucleotide.

SUMMARY

PNPLA3 I148M POLYMORPHIC VARIANT AND RELATIONSHIP WITH SOME PARACLINICAL FACTORS IN PEOPLE WITH STEATOSIS

Introduction: Single nucleotide polymorphism is a proven factor in risk stratification in fatty liver disease. Information on genotypic ratio and association with laboratory parameters contributes to the premise of cohort studies and interventions to improve the management of patients with fatty liver disease.

Objectives: To determine the genetic characteristics of the polymorphic variant I148M (rs738409) and some anthropometric and subclinical factors in people with fatty liver.

Subjects and research methods: Descriptive study of a series of cases, surveying

¹Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hữu Ngọc Tuấn
Email: nhntuan@pnt.edu.vn

Ngày nhận bài: .7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Thị Hoa

Ngày duyệt bài: 12.7.2023

the paraclinical and variant characteristics of I148M on employees working at Pham Ngoc Medical University Thach and medical staff working at Nguyen Tri Phuong Hospital have periodic health checks from 10/2022 to 07/2023 with fatty liver results through ultrasound. Variant was determined by real-time PCR. Anthropometric and paraclinical indicators using the results of physical examination.

Results: There were 156 staffs participating in the study. The average age was 38 years old (26.90 - 47.04 years old), female accounted for 49.4%. The percentage of allele C accounted for 65.4%, allele G accounted for 34.6%. Genotypic ratio CC: 45%, CG: 41%, GG: 14%. Employees with a history of hypertension account for 11.5%, diabetes is 5.1%. The median triglyceride was 1.53 (1.1 -2.3 mmol/L), cholesterol was 4.8 (4.1 - 5.4 mmol/L), LDL-c was 1.3 (0.9) -3.1 mmol/L, HDL-c is 1.2 (1.2 - 2.9 mmol/L). There was a statistically significant difference between the group with the G allele and the group without the G allele in the index of triglycerides and cholesterol.

Conclusion: The rate of allele C accounted for 65.4%, allele G accounted for 34.6% in the group of people with fatty liver. There was a statistically significant difference between the group with the G allele and the group without the G allele in the triglyceride and cholesterol level.

Keywords: fatty liver disease, PNPLA3 gene, single nucleotide polymorphism.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh gan nhiễm mỡ hiện là vấn đề sức khỏe về gan phổ biến nhất trên toàn thế giới [2] với tỷ lệ chung được ước tính là 32,4%. Tỷ lệ hiện mắc tăng đáng kể theo thời gian, từ 25,5% năm 2005 lên 37,8% vào năm 2016 [5]. Tiến triển từ gan nhiễm mỡ đơn thuần sẽ dẫn đến viêm gan nhiễm mỡ và các hậu quả

nặng nề lên gan như xơ gan và ung thư gan. Cho đến nay, chưa có phương pháp điều trị nào được phê duyệt cho gan nhiễm mỡ, mà chủ yếu tập trung vào thay đổi lối sống và giảm các bệnh đồng mắc. Một số yếu tố đã được chứng minh làm tăng nguy cơ xơ hoá gan tiến triển thành xơ gan bao gồm: sự hiện diện của bệnh đái tháo đường típ 2 đồng mắc; lớn tuổi; tăng huyết áp; chỉ số khối cơ thể (BMI) cao; và một số yếu tố di truyền. Trong đó, biến thể đa hình đơn nucleotide (SNP) rs738409 C>G (I148M) trên gen PNPLA3 không những có tần suất cao mà còn được xem được xem là “alen nguy cơ” liên quan đến hàm lượng mỡ trong gan và có liên quan đến mọi giai đoạn tiến triển của bệnh [6].

Hiện nay nhiều nghiên cứu đã cho thấy liệu pháp antisense oligonucleotides (ASO) tác động lên biến thể I148M trên gen PNPLA3 đã cải thiện nhiều giai đoạn của viêm gan nhiễm mỡ bao gồm tích tụ lipid, viêm và xơ hóa[3]. Việc khảo sát đặc điểm biến thể I148M giúp khảo sát vai trò của gen PNPLA3 trong bệnh gan nhiễm mỡ và làm tiền đề cho nghiên cứu cá thể hóa đáp ứng điều trị trên bệnh nhân gan nhiễm mỡ. Tại Việt Nam chưa có nghiên cứu về các biến thể gen PNPLA3 nên chúng tôi thực hiện nghiên cứu: “Nghiên cứu biến thể đa hình đơn nucleotide rs738409 (I148M) trên gen PNPLA3 với các yếu tố liên quan trên bệnh gan nhiễm mỡ”.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu mô tả loạt ca, được tiến hành từ tháng 10/2022 đến tháng 07/2023. Mẫu nghiên cứu được lấy tại phòng khám Đa khoa Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc

Thạch và Bệnh viện Nguyễn Tri Phương. Xác định kiểu gen bằng kỹ thuật Real-time PCR tại Trung tâm Nghiên cứu Y sinh, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch.

Đối tượng nghiên cứu: Người trưởng thành khám sức khỏe tại Phòng khám Đa khoa Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch và Bệnh viện Nguyễn Tri Phương có kết quả siêu âm ghi nhận gan nhiễm mỡ trong đợt khám sức khỏe định kỳ từ tháng 10/2022 đến tháng 07/2023. Chọn mẫu bằng phương pháp chọn mẫu thuận tiện cho đến khi hết đợt khám sức khỏe.

Các đối tượng đồng ý tham gia nghiên cứu sẽ được hỏi để thu thập các thông tin bao gồm: tuổi, giới, tiền sử bản thân (đái tháo đường, tăng huyết áp), cân nặng, chiều cao. Sử dụng lại kết quả khám sức khỏe và mẫu máu khám sức khỏe để thu thập DNA từ bạch cầu. Mẫu DNA sau khi ly trích được thực hiện Real-time PCR trên hệ thống QuantStudio 5 của hãng Thermo Fisher (Hoa

Kỳ) và bộ sinh phẩm SYBR™ Green PCR master mix (Hoa Kỳ) để thu thập thông tin biến thể I148M.

Số liệu được xử lý bằng phần mềm thống kê và phân tích Stata 14.2. Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức trong Nghiên cứu Y sinh của Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, giấy chứng nhận 859/TĐHYKPNT-HĐĐĐ ngày 20/4/2023 và Hội đồng Đạo đức trong Nghiên cứu Y sinh của Bệnh viện Nguyễn Tri Phương, giấy chứng nhận 778/NTP- HĐĐĐ ngày 27/4/2023.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Có 156 đối tượng thỏa tiêu chuẩn được đưa vào nghiên cứu, 88 đối tượng từ Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch và 68 đối tượng từ Bệnh viện Nguyễn Tri Phương.

Đặc điểm nhân trắc và cận lâm sàng đối tượng tham gia nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm dân số học của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng (N=156), N (%)
Tuổi (năm)	38 ± 11,04 tuổi
20-30 tuổi	31 (19,9)
30-40 tuổi	57 (36,6)
40-50 tuổi	35 (22,4)
56-60 tuổi	25 (16,0)
≥ 60 tuổi	8 (5,1)
Giới	
Nam	79 (50,6)
Nữ	77 (49,4)

Nhận xét: 95% đối tượng nghiên cứu thuộc độ tuổi lao động (từ 20 – 60 tuổi) với tuổi trung bình là 38 ± 11,04 tuổi. Trong cơ cấu về giới tính, tỉ lệ nam:nữ nhiều khoảng 1:1.

Bảng 2. Đặc điểm về tiền căn và phân loại BMI của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng (N=156), N (%)
Tiền căn tăng huyết áp	
Có	18 (11,5)
Không	138 (88,5)
Tiền căn đái tháo đường	
Có	8 (5,1)
Không	148 (94,9)
Phân loại theo BMI (*)	
Gầy	1 (0,6)
Bình thường	33 (21,2)
Thừa cân	47 (30,1)
Béo phì	75 (48,1)

(*): Phân loại BMI theo Asia-Pacific guidelines

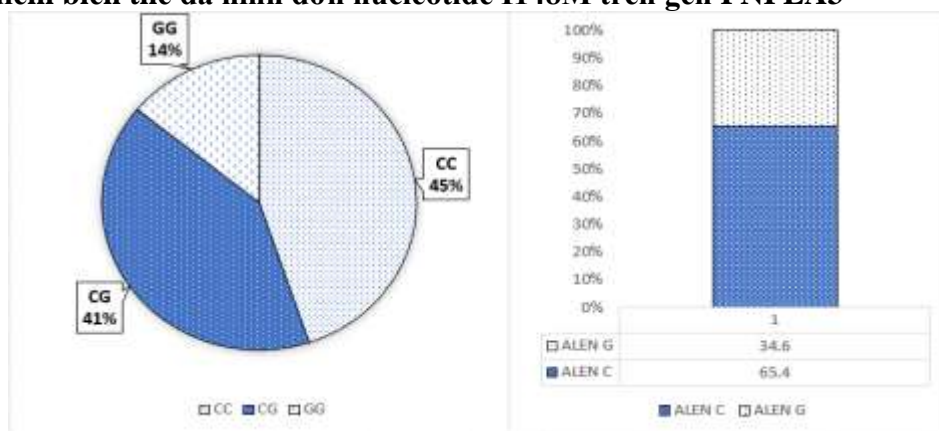
Nhận xét: Tỷ lệ đối tượng tham gia nghiên cứu có tiền căn tăng huyết áp khoảng 10% và đái tháo đường khoảng 5%. Tỷ lệ người tham gia thừa cân và béo phì chiếm gần 80%.

Bảng 3. Đặc điểm các chỉ số sinh hoá của đối tượng nghiên cứu

Chỉ số sinh hóa	Đơn vị đo	Trung vị	Khoảng tứ phân vị
Glucose (đói)	mmol/L	5,1	4,8 - 5,6
AST	U/L	22,5	18,5 - 28,4
ALT	U/L	23,9	16,8 -40,0
Triglycerid	mmol/L	1,53	1,1 - 2,3
Cholesterol toàn phần	mmol/L	4,8	4,1 - 5,4
LDL-c	mmol/L	1,3	0,9 - 3,1
HDL-c	mmol/L	2	1,2 - 2,9

Nhận xét: nhìn chung, giá trị trung vị, về nồng độ của các chỉ số sinh hoá thu thập, đều trong khoảng giá trị bình thường của chỉ số hoá sinh đó. Về khoảng tứ phân vị có chỉ số triglycerid và cholesterol toàn phần cao hơn mức giá trị bình thường.

Đặc điểm biến thể đa hình đơn nucleotide I148M trên gen PNPLA3



Biểu đồ 1. Tỷ lệ kiểu gen và alen của biến thể I148M trên người có gan nhiễm mỡ

Nhận xét: Trong biến thể I148M, tỉ lệ phân bố alen C khoảng 65%. Kiểu gen mang alen nguy cơ (CG và GG) chiếm tỉ lệ 55% đối tượng tham gia nghiên cứu.

Bảng 4. Mối liên quan kiểu gen và đặc điểm nhân trắc, BMI của nhóm nghiên cứu

STT	Phân nhóm		Kiểu gen N (%)		P
			CC	CG và GG	
1	Giới tính	Nam	39 (50,6)	40 (49,4)	0,253*
		Nữ	31 (51,1)	46 (48,9)	
2	Nhóm tuổi	20-30 tuổi	14 (45,2)	17 (54,8)	0,942*
		30-40 tuổi	25 (43,9)	32 (56,1)	
		40-50 tuổi	15 (42,9)	20 (57,4)	
		56-60 tuổi	13 (52,0)	12 (48,0)	
		≥ 60 tuổi	3 (37,5)	5 (62,5)	
3	Phân loại BMI	Gầy	0 (0,0)	1 (100)	0,671*
		Bình thường	17 (51,5)	16 (48,5)	
		Thừa cân	21 (44,7)	26 (55,3)	
		Béo phì	32 (42,7)	43 (57,3)	

(*): Sử dụng phép kiểm chi bình phương

Nhận xét: Chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa có thống kê giữa các đặc điểm về tuổi, giới và lâm sàng giữa nhóm có alen nguy cơ và không có alen nguy cơ.

Bảng 5. Mối liên quan kiểu gen và một số đặc điểm sinh hóa của nhóm nghiên cứu

STT	Chỉ số sinh hóa	Kiểu gen	Số lượng N (%)	Trung vị Khoảng tứ phân vị	P
1	Glucose (đói) (mmol/L)	CC	70 (45,0%)	5,1 (4,8 – 5,6)	0,912 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	5,1 (4,8 – 5,6)	
2	AST (U/L)	CC	70 (45,0%)	22,3 (18,4 – 27,0)	0,6091 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	22,5 (18,6 – 28,6)	
3	ALT (U/L)	CC	70 (45,0%)	24,1 (18,0 – 39,2)	0,9290 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	23,7 (16,4 – 41,1)	
4	Triglycerid (mmol/L)	CC	70 (45,0%)	1,64 (1,3 – 2,5)	0,0262 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	1,4 (0,98 – 2,2)	
5	Cholesterol toàn phần (mmol/L)	CC	70 (45,0%)	5,0 (4,2 – 5,6)	0,0452 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	4,6 (3,9 – 5,2)	
6	LDL-c (mmol/L)	CC	70 (45,0%)	1,2 (1,0 – 3,2)	0,99 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	1,3 (1,0 – 3,0)	
7	HDL-c (mmol/L)	CC	70 (45,0%)	2,3 (1,2 – 2,9)	0,1874 [#]
		CG và GG	86 (55,0%)	1,76 (1,2 – 2,7)	

(#): Phép kiểm Wilcoxon Rank-sum

Nhận xét: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về trung vị của triglycerid và cholesterol toàn phần giữa nhóm có alen và không có alen nguy cơ G. Các chỉ số sinh hóa còn lại chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

IV. BÀN LUẬN

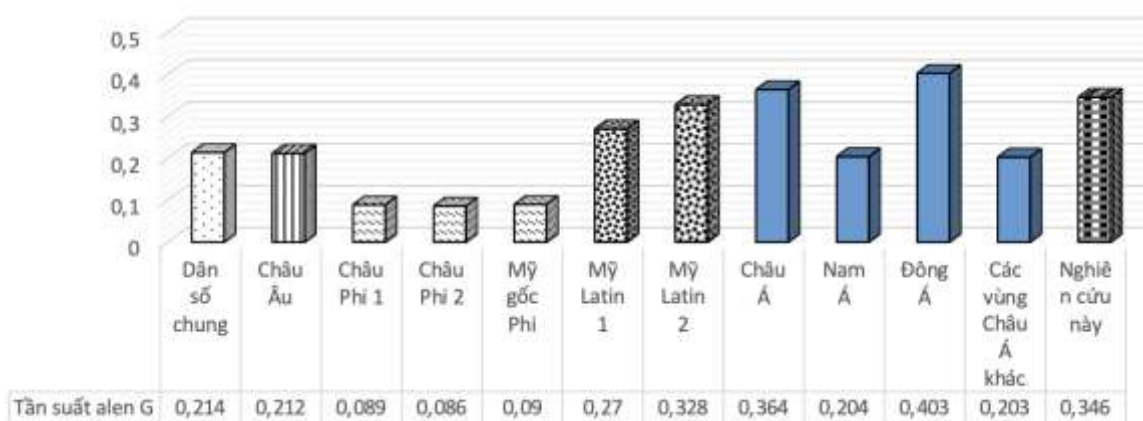
Đặc điểm về tuổi phân bố đều ở các lớp tuổi trong độ tuổi lao động, nhóm tuổi trên 60 thấp hơn so với các nhóm còn lại. Tỷ lệ giới tính 1:1 phù hợp với đặc điểm là một quần thể người lao động. Trong nhóm đối tượng tham gia, tỷ lệ người có tiền căn tăng huyết áp và đái tháo đường thấp, lần lượt là 11,5% và 5,1%, điều này có thể phù hợp do đa số người tham là người trong độ tuổi lao động, không phải là độ tuổi nguy cơ của các bệnh lý tiền căn này.

Đối với phân loại BMI, đặc điểm của quần thể nghiên cứu rất khác biệt so với đặc điểm của các quần thể chung. Theo tổ chức Y tế Thế giới, tỷ lệ người thừa cân và béo phì trên dân số chung lần lượt là 39% và 13%, đề tài này ghi nhận tỷ lệ người thừa cân và béo phì lần lượt là 30,1% và 48,1%. Điều này có thể được giải thích do nhóm người có gan nhiễm mỡ thường có kèm có rối loạn chuyển hóa đi kèm dẫn đến tỷ lệ người thừa cân béo phì trong nhóm đối tượng tham gia cao hơn so với dân số chung.

Đối với các chỉ số sinh hóa, các chỉ số như glucose (đói), AS, ALT, HDL và LDL đều nằm trong giới hạn bình thường. Có hai

chỉ số sinh hóa có trung vị và khoảng tứ phân vị cao hơn giới hạn bình thường là triglycerid và cholesterol. Nghiên cứu tương đồng của Dhumal và cộng đồng chỉ ra có sự tăng nồng độ triglycerid và cholesterol huyết thanh ở nhóm người có hình ảnh gan nhiễm mỡ thông qua siêu âm [4].

Trong toàn nghiên cứu, alen nguy cơ (alen G) chiếm 34,6% và kiểu gen chứa alen nguy cơ (CG và GG) chiếm 55,0% (Biểu đồ 1). Trước đây, các nghiên cứu về tỷ lệ các SNP gây bệnh chưa được quan tâm đúng mức tại nước ta. Do đó, tại Việt Nam, đây được xem là công bố đầu tiên về tần suất biến thể PNPLA3 rs738409 C>G ở người có gan nhiễm mỡ trên siêu âm. Khi so sánh với tần suất alen G của biến thể này trong dân số chung ở các chủng tộc khác nhau, được công bố trên cơ sở dữ liệu của NCBI [1] (Biểu đồ 1) cho thấy: tần suất alen G của nghiên cứu này thuộc nhóm cao trên thế giới, tương đương với số liệu chung của châu Á và chỉ thấp hơn của vùng Đông Á. Việc các dân tộc châu Á nói chung và có thể Việt Nam nói riêng, có sự hiện diện của alen nguy cơ cao hơn các dân tộc khác trên thế giới.



Biểu đồ 2. Tần suất alen G của biến thể PNPLA3 I148M (rs738409 C>G) ở một số khu vực trên thế giới [1]

Khi so sánh với nhóm đối tượng tương đồng là người có gan nhiễm mỡ, nghiên cứu này có tần suất alen thấp hơn so với công bố của tác giả Zhang Y và công sự khảo sát trên 969 người Trung Quốc là 0,537 [8]. Tuy nhiên nghiên cứu này lại tương đồng với tác giả Zain S.M và cộng sự, nghiên cứu trên 342 người Trung Quốc, Malaysia và Ấn Độ với tần suất alen G là 0,35 [7].

Đối với mối liên quan giữa alen nguy cơ G và các chỉ số sinh hóa, nhóm nghiên cứu ghi nhận có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm có alen nguy cơ và alen không nguy cơ ở chỉ số triglycerid và cholesterol toàn phần trong huyết thanh. Điều này có thể giải thích do vai trò của protein do gen PNPLA3 mã hóa có chức năng chuyển hóa giọt lipid và bài tiết ra khỏi tế bào gan. Vì thế, kiểu gen CC được xem như yếu tố là việc chuyển hóa và bài tiết được thuận lợi từ đó làm nồng độ của các lipid này cao lên trong huyết thanh. Tuy nhiên, với quy mô là khảo sát loạt ca có một số giới hạn, việc làm sáng tỏ các cơ chế và sự khác biệt này cần có những nghiên cứu chuyên sâu và thích hợp hơn dựa trên tần suất của alen của đề tài này vì giá trị đề tài này mang lại là tần suất biến thể PNPLA3 rs738409 C>G ở người có gan nhiễm mỡ trên siêu âm đầu tiên ở người Việt Nam.

V. KẾT LUẬN

Đã xác định tỉ lệ của biến thể I148M (rs738409 C>G) trên gen PNPLA3 ở CBVC-NLĐ và NVYT có gan nhiễm mỡ là: alen nguy cơ (alen G) chiếm 34,6% và kiểu gen chứa alen nguy cơ (CG và GG) chiếm 55,0%.

Ghi nhận có sự khác biệt có ý nghĩa giữa sự hiện diện của alen nguy cơ ở chỉ số triglycerid và cholesterol và chưa ghi nhận sự khác biệt có ý nghĩa giữa sự hiện diện của

alen nguy cơ ở một số yếu tố liên quan như tuổi, giới, BMI trên nhóm nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/rs738409>
2. **Lazo M, Hernaez R, Eberhardt M S, Bonekamp S, et al**, "Prevalence of nonalcoholic fatty liver disease in the United States: the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988–1994", *American journal of epidemiology*. (2013) 178 (1): pp. 38-45.
3. **Lindén D, Ahnmark A, Pingitore P, Ciociola E, et al**, "Pnpla3 silencing with antisense oligonucleotides ameliorates nonalcoholic steatohepatitis and fibrosis in Pnpla3 I148M knock-in mice", *Molecular metabolism*. (2019) 22 pp. 49-61.
4. **Mahaling D U, Basavaraj M M, Bika A J**, "Comparison of lipid profile in different grades of non-alcoholic fatty liver disease diagnosed on ultrasound", *Asian Pacific journal of tropical biomedicine*. (2013) (11): pp. 907-912.
5. **Riazi K, Azhari H, Charette J H, Underwood F E, et al**, "The prevalence and incidence of NAFLD worldwide: a systematic review and meta-analysis", *The Lancet Gastroenterology Hepatology*. (2022) pp.
6. **Wang Q O, X Jia**, "Association between polymorphism of PNPLA3 rs738409 and severity of fibrosis in adult nonalcoholic fatty liver disease", *Journal of Clinical Experimental Medicine*. (2020) 19 (14): pp. 1464-1467.
7. **Zain S M, Mohamed R, Mahadeva S, Cheah P L, et al**, "A multi-ethnic study of a PNPLA3 gene variant and its association with disease severity in non-alcoholic fatty liver disease", *Human genetics*. (2012) 131 pp. 1145-1152.
8. **Zhang Y, Guo T, Yang F, Mao Y, et al**, "Single-nucleotide rs738409 polymorphisms in the PNPLA3 gene are strongly associated with alcoholic liver disease in Han Chinese males", *J Hepatology International*. (2018) 12 pp. 429-437.

NỒNG ĐỘ APOLIPOPROTEIN VÀ MỘT SỐ CHỈ SỐ LIPID HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN GIAI ĐOẠN CUỐI LỌC MÁU CHU KỲ TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Nguyễn Thị Hoa¹, Lê Thị Hương Lan²,
Nguyễn Thị Hồng Anh, Vũ Thị Hoài Thu¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nồng độ apolipoprotein và một số chỉ số lipid huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang trên 155 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên. **Kết quả:** Nồng độ apoB, apoA huyết tương tương ứng là $0,90\pm 0,27$ mmol/L; $1,37\pm 0,22$ mmol/L. Nồng độ và tỷ lệ rối loạn một số chỉ số lipid huyết tương gồm cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C tương ứng là $3,79\pm 0,98$ mmol/L; 20,0%, $1,19\pm 0,99$ mmol/L; 16,6%, $1,09\pm 0,25$ mmol/L; 44,5%, $2,73\pm 1,04$ mmol/L; 26,5%. Ở nhóm bệnh nhân tăng nồng độ apoB huyết tương, nồng độ một số chỉ số lipid gồm cholesterol_{TP}, triglycerid huyết tương cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân có nồng độ apoB bình thường. **Kết luận:** Nồng độ apoB và tỷ lệ tăng apoB huyết tương là $0,90\pm 0,27$ mmol/L và 38,7%; Nồng độ apoA và tỷ lệ giảm apoA huyết tương là $1,37\pm 0,22$ mmol/L và 27,1%; Nồng độ apoB huyết tương có mối tương quan thuận mức

độ chặt với nồng độ cholesterol_{TP} và có mối tương quan nghịch mức độ yếu với nồng độ apoA với $p<0,05$.

Từ khóa: Bệnh thận giai đoạn cuối, apolipoprotein A, apolipoprotein B, apoA/apoB

SUMMARY

PLASMA APOLIPOPROTEIN AND LIPID PROFILE IN END STAGE RENAL DISEASE ON HEMODIALYSIS AT THAI NGUYEN NATIONAL HOSPITAL

Objective: Determine of plasma apolipoprotein and lipid profile in end stage renal disease (ESRD) on hemodialysis at Thai Nguyen National Hospital. **Subjects and methods:** A cross-sectional study of 155 patients with ESRD on hemodialysis at Thai Nguyen National Hospital. **Results:** The plasma concentrations of apoB and apoA were 0.90 ± 0.27 mmol/L and 1.37 ± 0.22 mmol/L, respectively. The concentrations and proportions of dyslipidemia, including total cholesterol, triglycerides, HDL-C, and LDL-C, were 3.79 ± 0.98 mmol/L, 20.0%; 1.19 ± 0.99 mmol/L, 16.6%; 1.09 ± 0.25 mmol/L, 44.5%; and 2.73 ± 1.04 mmol/L, 26.5%, respectively. In the group of patients with increased plasma apoB concentrations, the levels of lipid profile such as, total cholesterol, triglycerides were significantly higher than the group of patients with normal apoB concentrations. **Conclusion:** The plasma apoB concentration and the proportion of increased

¹Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

²Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Hoa

SĐT: 0982502072

Email: hoanguyenth74hstn@gmail.com

Ngày nhận bài: 9.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

plasma apoB were 0.90 ± 0.27 mmol/L and 38.7%, respectively. The plasma apoA concentration and the proportion of decreased plasma apoA were 1.37 ± 0.22 mmol/L and 27.1%, respectively. The serum plasma apoB concentration showed a positive correlation with the concentration of total cholesterol and a weak negative correlation with the apoA concentration ($p < 0.05$).

Keywords: End stage renal disease, apoA, apoB, apoA/apoB

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Suy thận mạn là một hội chứng lâm sàng và hóa sinh tiến triển mạn tính qua nhiều năm tháng, hậu quả của sự xơ hóa các nephron chức năng, gây giảm sút từ từ mức lọc cầu thận xuống dưới mức bình thường (< 60 ml/phút). Bệnh thận mạn tính có liên quan chặt chẽ với một số các bệnh chuyển hóa, bao gồm béo phì, kháng insulin, đái tháo đường type 2, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu và xơ vữa động mạch. Theo thống kê năm 2022, tại Hoa Kỳ có gần 800.000 người mắc bệnh thận giai đoạn cuối [5].

Rối loạn lipid máu là yếu tố nguy cơ truyền thống của xơ vữa động mạch do thúc đẩy quá trình viêm lớp tế bào nội mạc mạch máu có thể dẫn đến bệnh tim mạch, đột quỵ và bệnh thận do xơ vữa động mạch. Theo khuyến cáo của Hội Thận học Quốc tế (KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes), cần đánh giá bộ xét nghiệm lipid cơ bản gồm cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C và LDL-C để tiên lượng bệnh thận. Tuy nhiên, mối liên quan giữa một số chỉ số lipid này với hậu quả bệnh thận còn là vấn đề tranh cãi [M4].

Apolipoprotein B (ApoB) là một thành phần cấu trúc quan trọng của lipoprotein tỷ trọng trung bình (IDL), lipoprotein tỷ trọng rất thấp (VLDL) và nonHDL. Đã có những nghiên cứu ghi nhận mối liên quan giữa apoB và nguy cơ xơ vữa động mạch và bệnh tim mạch. Theo hướng dẫn của Hội Tim mạch Hoa Kỳ được công bố gần đây cho thấy nồng độ apoB huyết tương $> 1,30$ g/L tương ứng với nồng độ LDL-C ≥ 150 mg/dL, do đó apoB có thể là dấu ấn sinh học tiềm năng của nguy cơ bệnh tim mạch cũng như dự báo hậu quả của bệnh thận. Nghiên cứu của tác giả Kwon (2020) trên 9403 bệnh nhân bệnh thận mạn tính, theo dõi trong 10 năm, kết quả cho thấy, ở nhóm bệnh nhân có nồng độ apoB huyết tương ở tam phân vị thứ 3 nguy cơ tiến triển bệnh thận giai đoạn cuối gấp 2,56 lần so với nhóm bệnh nhân ở tam phân vị thứ nhất ($p < 0,001$) [3]. Nồng độ apoB huyết tương cao hơn ở nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn tính tiến triển bệnh thận giai đoạn cuối so với nhóm bệnh nhân có nồng độ apoB thấp cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Zhao (2020) [8].

Tại Việt Nam, chưa có các ghi nhận về nồng độ apoB huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận mạn tính. Vì vậy, đề tài này được thực hiện với mục tiêu: Xác định nồng độ apolipoprotein B và một số chỉ số lipid huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 155 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối (BN STM) đang lọc máu chu kỳ tại khoa Nội thận - Tiết niệu và lọc máu Bệnh

viện Trung ương Thái Nguyên từ tháng 1 năm 2023 đến tháng 6 năm 2023, bệnh nhân được chọn theo tiêu chuẩn sau:

Chọn mẫu theo chủ đích, cỡ mẫu thuận tiện. Lấy toàn bộ BN STM đang lọc máu chu kỳ đủ tiêu chuẩn vào nhóm nghiên cứu.

*** Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:**

BN bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ.

- Tuổi của BN ≥ 18 .

- Đã và đang được chẩn đoán, điều trị lọc máu thay thế trước đó bằng phương pháp thận nhân tạo đơn thuần, đủ ít nhất 3 tháng liên tục.

- BN được làm đủ các xét nghiệm và thỏa mãn theo yêu cầu của nghiên cứu.

- BN hợp tác, tham gia nghiên cứu.

*** Tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu:**

- Suy tim mạn tính nặng.

- Suy gan nặng.

- Mắc bệnh ung thư giai đoạn cuối kèm theo.

- Đang mắc các bệnh cấp tính như: nhiễm khuẩn, nhồi máu cơ tim, suy tim cấp, đột quỵ não...

* Tiêu chuẩn phân loại rối loạn lipid máu theo Hội Tim mạch Việt Nam năm 2006: Tăng cholesterol_{TP} $\geq 5,2$ mmol/L; Tăng triglycerid $\geq 1,7$ mmol/L; Giảm HDL-C $\leq 1,0$ mmol/L; Tăng LDL-C $\geq 3,1$ mmol/L;

* 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 .

* Tiêu chuẩn tăng apoB theo nghiên cứu của tác giả Zhao (2020) [8]: tăng

apoB $\geq 1,1$ g/L; Giảm apoA $< 1,3$ mmol/L.

* Phân loại tăng huyết áp theo JNC VI.

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu:

Khoa Nội thận -Tiết niệu và lọc máu Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Khoa Sinh hóa Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Khoa Xét nghiệm Bệnh viện trường Đại học Y Dược Thái Nguyên.

2.3. Thiết kế nghiên cứu:

Mô tả cắt ngang. Cỡ mẫu toàn bộ.

2.4. Thiết bị nghiên cứu

Máy xét nghiệm sinh hóa tự động OLYMPUS AU480 .

Hóa chất do hãng BECKMAN COULTER cung cấp.

2.5. Chỉ tiêu nghiên cứu

- Một số đặc điểm chung nhóm bệnh nhân nghiên cứu: Tuổi, giới, thời gian mắc bệnh, tiền sử bệnh thận

- Một số đặc điểm lâm sàng: Mạch, huyết áp, chỉ số BMI, thời gian lọc máu chu kỳ, sử dụng thuốc hạ huyết áp, thuốc kiểm soát glucose, thuốc hạ lipid máu.

- Định lượng cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C.

- Định lượng nồng độ ure, creatinin,

- Định lượng nồng độ apolipoprotein A (apoA), apolipoprotein B (apoB), tỷ số apoB/apoA.

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

2.7. 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=155)

Đặc điểm		n	%
Giới	Nam	95	61,3
	Nữ	60	38,7
Tuổi (năm)	$\bar{X} \pm SD$	59,9 \pm 14,9	27-82
	<60 tuổi	54	38,47
	\geq 60 tuổi	101	65,2
BMI (kg/m ²)	$\bar{X} \pm SD$	21,2 \pm 2,1	18,9-24,2
	<23	119	76,8
	\geq 23	36	23,2
Thời gian LMCK	$\bar{X} \pm SD$ (tháng)	47,5 \pm 17,9	20-97
	<5 năm	69	44,5
	\geq 5 năm	86	55,5
Huyết áp	HATT ($\bar{X} \pm SD$)	141,4 \pm 20,5	110-180
	HATTr ($\bar{X} \pm SD$)	88,9 \pm 7,2	60-100
	Bình thường	26	16,8
	Tăng HA	129	83,2

Nhận xét: Bệnh nhân chủ yếu ở độ tuổi \geq 60, chiếm 65,2, tỷ lệ bệnh nhân nam chiếm 61,3%. Có 36 bệnh nhân thừa cân, béo phì chiếm 23,2. Thời gian mắc bệnh trung bình là 47,5 \pm 17,9 tháng, tỷ lệ bệnh nhân có thời gian \geq 5 năm là 56,5%. Có 83,2% không kiểm soát tốt huyết áp.

Bảng 2. Một số đặc điểm cận lâm sàng nhóm bệnh nhân nghiên cứu (n=155)

Chỉ số	$\bar{X} \pm SD$ (n)	Min-Max (%)	
Glucose (mmol/L)	6,90 \pm 2,72	2,99-21,7	
Ure (mmol/L)	27,5 \pm 7,3	10,9-51,9	
Creatinin (μ mol/L)	1027 \pm 273,6	520,5- 1723,7	
Acid uric (μ mol/L)	466,9 \pm 87,5	225,1-770,4	
Protein _{TP} (g/L)	69,4 \pm 5,9	55,7-83,6	
	Bình thường	117	(75,5)
	Giảm	38	(24,5)
	Albumin (g/L)	36,2 \pm 2,9	29,6-46
Bình thường		100	(64,5)
	Giảm	55	(35,5)
	Cholesterol _{TP} (mmol/L)	3,79 \pm 0,98	2,07-6,73
Bình thường		124	(80,0)
Tăng		31	(20,0)
Triglycerid (mmol/L)	1,19 \pm 0,99	0,42-8,24	
	Bình thường	130	83,4

	Tăng	25	16,6
HDL-C (mmol/L)		1,09±0,25	0,4-1,8
	Bình thường	86	55,5
	Giảm	69	44,5
LDL (mmol/L)		2,73±1,04	1,1-6,6
	Bình thường	114	73,5
	Tăng	41	26,5
apoB (g/L)		0,90±0,27	0,53-1,59
	Bình thường	95	61,3
	Tăng	60	38,7
apoA (g/L)		1,37±0,22	0,92-2,01
	Bình thường	113	72,9
	Giảm	42	27,1
Tỷ số apoB/apoA		0,68±0,25	0,30-1,38

Nhận xét: Nồng độ apoB, apoA và nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương trong giới hạn bình thường, tỷ lệ rối loạn các chỉ số trên dao động từ 20-45%.

Bảng 3. Mối liên quan giữa nồng độ apoB huyết tương với một số chỉ số cận lâm sàng (n=155)

Chỉ số	ApoB<1,1 g/L (n=95)	ApoB≥1,1g/L (n=60)	p
Cholesterol _{TP} (mmol/L)	3,22±0,52	4,83±0,75	<0,01
Triglycerid (mmol/L)	0,90±0,37	1,72±1,47	<0,01
HDL-C (mmol/L)	1,10±0,24	0,99±0,31	<0,05
LDL-C (mmol/L)	2,59±0,99	2,79±0,87	>0,05
ApoA (g/L)	1,41±0,23	1,23±0,16	<0,01
Ure (mmol/L)	28,3±7,7	26,6±6,8	>0,05
Creatinin (μmol/L)	1090±259	909±264	>0,05
Acid uric (μmol/L)	466,7±101,5	446,9±90,4	>0,05

Nhận xét: Ở nhóm bệnh nhân tăng nồng độ apoB, nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid và apoA cao hơn có ý nghĩa, nồng độ apoA thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân nồng độ apoB bình thường. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ ure, creatinin và acid uric huyết tương ở 2 nhóm bệnh nhân trên.

Bảng 4. Mối tương quan giữa nồng độ apoB huyết tương với một số chỉ số lipid huyết tương (n=155)

Chỉ số	r	p
Cholesterol _{TP} (mmol/L)	0,83	<0,05
Triglycerid (mmol/L)	0,38	<0,05
HDL-C (mmol/L)	-0,21	<0,05
LDL-C (mmol/L)	0,32	<0,05
ApoA (g/L)	-0,27	<0,05
Ure (mmol/L)	-0,19	>0,05
Creatinin (μmol/L)	-0,33	>0,05
Acid uric (μmol/L)	-0,13	>0,05

Nhận xét: Có mối tương quan thuận, mức độ chặt, có ý nghĩa giữa nồng độ apoB với nồng độ TC huyết tương ($r=0,83$). Có mối tương quan nghịch, mức độ yếu, có ý nghĩa giữa nồng độ apoB với nồng độ apoA ($r=-0,27$) và nồng độ HDL-C ($r=-0,21$).

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi bệnh nhân nam chiếm đa số với tỷ lệ 61,3% và 55,2%; tuổi trung bình là $59,9 \pm 14,9$ năm, tỷ lệ bệnh nhân ≥ 60 tuổi chiếm 65,2%. Tuổi trung bình trong nghiên cứu của tác giả Lê Hạnh Nguyên (2023) là $57,82 \pm 15,32$ (năm), tỷ lệ bệnh nhân ≥ 60 tuổi chiếm 50,8%, tỷ lệ nam/nữ là 1,3/1 [1]. Tuổi trung bình trong nghiên cứu của tác giả Zhao là 61,7 năm, tỷ lệ nam chiếm 60,5% [8]. Tuổi trong nghiên cứu của tác giả Sato là 69 năm, tỷ lệ nam là 57,7% [6].

Nồng độ apoB, apoA và một số chỉ số lipid huyết tương ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: nồng độ apo B, apoA huyết tương tương ứng là $0,90 \pm 0,27$ mmol/L; $1,37 \pm 0,22$ mmol/L. Nồng độ và tỷ lệ rối loạn một số chỉ số lipid huyết tương gồm cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C tương ứng là $3,79 \pm 0,98$ mmol/L; 20,0%, $1,19 \pm 0,99$ mmol/L; 16,6%, $1,09 \pm 0,25$ mmol/L; 44,5%, $2,73 \pm 1,04$ mmol/L; 26,5%.

Tác giả Sato và cs (2016) nghiên cứu trên 1081 bệnh nhân lọc máu chu kỳ, ở độ tuổi

trung bình là 69, có thời gian lọc máu trung bình là 81 tháng, bệnh nhân được theo dõi ít nhất 48 tháng, nồng độ apoB; apoA tại thời điểm ban đầu tương ứng là 0,69g/L; 1,33g/L. Nồng độ một số chỉ số lipid huyết tương gồm cholesterol_{TP}, triglycerid, HDL-C, LDL-C tương ứng là. $3,94 \pm 0,85$ mmol/L; $0,95 \pm 0,47$ mmol/L; $1,02 \pm 0,37$ mmol/L; $2,49 \pm 0,73$ mmol/L [6].

Tác giả Zhan (2018) nghiên cứu trên 860 bệnh nhân suy thận mạn lọc màng bụng theo dõi dọc từ năm 2005 đến 2017, bệnh nhân được theo dõi từ khi lọc màng bụng đến tử vong, thời gian theo dõi trung bình 27 tháng (13-41 tháng), một số thông tin về lâm sàng, các chỉ số cận lâm sàng như nồng độ apoB, apoA, tỷ số apoB/apoA và một số chỉ số lipid máu được ghi nhận sau lọc màng bụng từ 1-3 tháng, kết quả nghiên cứu cho thấy: nồng độ apoB trung bình là 0,8 g/L (0,63-1,0 g/L); apoA trung bình là 1,22g/L (1,07-1,41g/L); trung vị tỷ số apoB/apoA là 0,65 (0,22-2,24) [7].

Tác giả Bae và cs (2016) đã nghiên cứu hồi cứu, theo dõi dọc 10288 đối tượng tham gia tổng kiểm tra sức khỏe ít nhất 4 lần trong thời gian 7 năm, nguy cơ mắc bệnh thận mạn tính liên quan với các chỉ số lipid được phân tích bằng tỷ lệ rủi ro được điều chỉnh (hazard ratio-HR) đối với bệnh thận mạn tính trên 1SD tăng mức lipid. Với thời gian theo dõi là $56,5 \pm 14,3$ tháng có 356 đối tượng (chiếm 3,5%) tiến triển bệnh thận mạn tính, nồng độ apoB/apoA ở nhóm bệnh thận mạn tính tương ứng là $0,94 \pm 0,22$ g/L/ $1,38 \pm 0,23$ g/L cao hơn/thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm

không mắc bệnh thận mạn tính là $0,91 \pm 0,21$ g/L/ $1,42 \pm 0,25$ g/L. Một số yếu tố liên quan đến nguy cơ tiến triển bệnh thận mạn tính là tỷ số LDL-C/apoB và HDL-C/apoA cũng như nồng độ triglycerid và HDL-C [2].

Nồng độ apoB, apoA huyết tương trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của tác giả Bae [2], cao hơn so với kết quả nghiên cứu của một số tác giả khác [6], [7]. Có sự khác biệt giữa các nghiên cứu trên có thể do sự khác nhau về đối tượng nghiên cứu, độ tuổi của nhóm nghiên cứu cũng như sự suy giảm chức năng thận trong các nghiên cứu có sự khác nhau nên có sự khác biệt này.

Rối loạn một số thành phần lipid huyết tương có liên quan đến nguy cơ bệnh thận giai đoạn cuối trong đó apoB là chỉ số có giá trị nhất đã được ghi nhận trong một số nghiên cứu trên thế giới. Tác giả Kwon (2020) nghiên cứu về nồng độ apoB trên 9403 bệnh nhân bệnh thận mạn tính, theo dõi trong 10 năm, kết quả cho thấy có 110 bệnh nhân tiến triển thành bệnh thận giai đoạn cuối (chiếm tỷ lệ 1,2%). Nồng độ apoB huyết tương trung bình là 0,77g/L (0,65-1,1g/L); Nồng độ apoB huyết tương ở tam phân vị thứ nhất; tam phân vị thứ hai và tam phân vị thứ 3 tương ứng là 0,61 (0,55-0,65)g/L; 0,77 (0,74-0,82)g/L và 1,0 (0,92-1,11)g/L. Ở nhóm bệnh nhân có nồng độ apoB huyết tương ở tam phân vị thứ 3 và tam phân vị thứ 2 nguy cơ tiến triển bệnh thận giai đoạn cuối tương ứng gấp 2,56 lần và 1,5 lần so với nhóm bệnh nhân ở tam phân vị thứ nhất ($p < 0,001$) [3].

Liên quan giữa nồng độ apoB huyết tương và một số yếu tố cận lâm sàng

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ở nhóm bệnh nhân tăng nồng độ apoB huyết tương, nồng độ một số chỉ số lipid gồm cholesterol_{TP}, triglycerid huyết tương cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân có nồng độ apoB bình thường. Nồng độ apoB huyết tương có mối tương quan thuận mức độ chặt với nồng độ cholesterol_{TP} và có mối tương quan nghịch mức độ yếu với nồng độ apoA với $p < 0,05$.

Tác giả Zhao và cs (2020) nghiên cứu nồng độ apoB, apoA trên 258 bệnh nhân bệnh thận mạn tính giai đoạn 3 -5, bệnh nhân được chia làm 2 nhóm: nhóm có nồng độ apoB thấp ($< 1,1$ g/L) và nhóm có nồng độ apoB cao ($\geq 1,1$ g/L), kết quả cho thấy tỷ lệ tăng nồng độ apoB là 41,9%; Ở nhóm bệnh nhân tăng nồng độ apoB nồng độ một số thành phần lipid huyết tương như cholesterol_{TP}, triglycerid, LDL-C cao hơn có ý nghĩa thống kê, nồng độ HDL-C thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm có nồng độ apoB bình thường. Có 93 bệnh nhân (36%) tiến triển bệnh thận mạn tính cần điều trị thay thế thận trong đó có 54 bệnh nhân (58%) ở nhóm có nồng độ apoB cao và 39 bệnh nhân (42%) ở nhóm có nồng độ apoB bình thường [8]. Nghiên cứu của tác giả Sato cho thấy có mối tương quan thuận mức độ chặt giữa nồng độ apoB với nồng độ LDL-C huyết tương ($r = 0,86$) [6].

V. KẾT LUẬN

- Nồng độ apoB và tỷ lệ tăng apoB huyết tương là $0,90 \pm 0,27$ mmol/L và 38,7%;
- Nồng độ apoA và tỷ lệ giảm apoA

huyết tương là $1,37 \pm 0,22$ mmol/L và 27,1%.

- Nồng độ apoB huyết tương có mối tương quan thuận có ý nghĩa với nồng độ cholesterol_{TP} ($r=0,83$), triglycerid ($r=0,38$), LDL-C ($r=0,32$). Nồng độ apoB huyết tương có mối tương quan nghịch mức độ yếu với nồng độ HDL-C ($r=-0,21$), apoA ($r=-0,27$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lê Hạnh Nguyên, Đỗ Gia Tuyển, Đặng Thị Việt Hà, Nghiêm Trung Dũng, Dương Đức Hạnh, Phạm Thị Lan Thanh** (2023). “Đánh giá rối loạn nồng độ acid uric máu ở bệnh nhân bệnh thận mạn chưa điều trị thay thế tại Bệnh viện đa khoa tỉnh Thanh Hóa”. Tạp chí Y học Việt Nam, tập 523 (02), số 1, 134-139.
2. **Bae, J. C., Han, J. M., Kwon, S., Jee, J. H., Yu, T. Y., Lee, M. K., & Kim, J. H.** (2016). LDL-C/apoB and HDL-C/apoA-1 ratios predict incident chronic kidney disease in a large apparently healthy cohort. *Atherosclerosis*, 251, 170–176.
3. **Kwon S., Dong Ki Kim, Kook-Hwan Oh, Kwon Wook Joo1, Chun Soo Lim, Yon Su Kim** (2020). “Apolipoprotein B is a risk factor for end-stage renal disease”. *Clinical Kidney Journal*, pp. 1-7.
4. **Ma, K. L., Gong, T. K., Hu, Z. B., Zhang, Y., Wang, G. H., Liu, L., Liu, B. C.** (2018). “Lipoprotein(a) accelerated the progression of atherosclerosis in patients with end-stage renal disease”. *BMC Nephrology*, 19 (1).
5. **Pan, X** (2021). “The Roles of FattyAcids and Apolipoproteins in the Kidneys”. *Metabolites*, 12, 462.
6. **Sato, Y., Fujimoto, S., Toida, T., Nakagawa, H., Yamashita, Y., et al** (2016). “Apoprotein B/Apoprotein A-1 Ratio and Mortality among Prevalent Dialysis Patients”. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 11(5), pp. 840-846.
7. **Zhan, X., Chen, Y., Yan, C., Liu, S., Deng, L., Yang, L** (2018). “Apolipoprotein B/apolipoprotein A1 ratio and mortality among incident peritoneal dialysis patients”. *Lipids in Health and Disease*, 17(1).
8. **Zhao, W., Zhu, L., & Rahman, T.** (2020). “Increased serum concentration of apolipoprotein B is associated with an increased risk of reaching renal replacement therapy in patients with diabetic kidney disease”. *Renal Failure*, 42(1), pp. 323-328.

NỒNG ĐỘ ACID URIC HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN BỆNH THẬN GIAI ĐOẠN CUỐI TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Trần Thu Uyên¹, Nguyễn Thị Hoa
Nguyễn Thị Hồng Anh, Hoàng Thái Sơn¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa nồng độ acid uric với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối tại bệnh viện Trung ương Thái Nguyên. **Đối tượng và phương pháp:** Mô tả cắt ngang trên 318 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối, gồm 155 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối lọc máu chu kỳ (LMCK) và 163 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối điều trị (ĐT) bảo tồn đang điều trị nội trú tại Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên. **Kết quả:** Nồng độ acid uric huyết tương trung bình ở nhóm bệnh nhân LMCK là $466,9 \pm 87,5$ $\mu\text{mol/L}$, cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn là $432,1 \pm 107,8$ $\mu\text{mol/L}$, tỷ lệ tăng nồng độ acid uric huyết tương ở hai nhóm bệnh nhân tương ứng là 75,5% và 57,1%. **Kết luận:** Tăng nồng độ acid uric huyết tương có liên quan đến tuổi, giới; Ở nhóm bệnh nhân nam, nhóm bệnh nhân ở độ tuổi ≥ 60 tuổi có nồng độ acid uric huyết tương cao hơn nhóm bệnh nhân nữ và nhóm bệnh nhân ở độ tuổi < 60 . Có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ acid uric huyết tương với nồng độ ure, creatinin huyết tương.

Từ khóa: Bệnh thận giai đoạn cuối, acid uric, điều trị bảo tồn, lọc máu chu kỳ

SUMMARY

PLASMA URIC ACID CONCENTRATION IN PATIENTS WITH END STAGE RENAL DISEASE AT THAI NGUYEN NATIONAL HOSPITAL

Objective: Analysis of the relationship between plasma uric acid and some Clinical and subclinical characteristics in patients with end stage renal disease (ESRD) at Thai Nguyen National Hospital. **Subject and method:** A cross-sectional study of 155 patients with ESRD on hemodialysis and 163 patients with ESRD on conservative treatment. **Results:** The concentration of plasma uric acid in the group of patients with ESRD on hemodialysis was $466,9 \pm 87,5$ $\mu\text{mol/L}$, in the group of patients with ESRD on conservative treatment was $432,1 \pm 107,8$ $\mu\text{mol/L}$ (the difference was statistically significant, $p < 0,05$). The proportion of patients with increased plasma uric acid in which the hemodialysis group was 75.5% and the conservative treatment group was 57.1% (the difference was statistically significant, $p < 0.01$). **Conclusion:** There was a relationship between age, gender and hyperuricemia. In the group of male patients, the group of patients aged ≥ 60 years had higher plasma uric acid levels than the female group and the under 60 years group. There was a moderate positive correlation between plasma uric acid levels and plasma urea and creatinine concentrations.

¹Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên

²Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Thị Hoa

SĐT: 0982502072

Email: hoanguyenthith74hstn@gmail.com

Ngày nhận bài: 9.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

Keywords: End stage renal disease, uric acid, conservative treatment, hemodialysis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thận giai đoạn cuối là một hội chứng lâm sàng và hóa sinh tiến triển mạn tính qua nhiều năm tháng, hậu quả của sự xơ hóa các nephron chức năng, gây giảm sút từ từ mức lọc cầu thận xuống dưới mức bình thường (<60ml/phút). Bệnh thận mạn tính có liên quan chặt chẽ với một số các bệnh chuyển hóa, bao gồm béo phì, kháng insulin, đái tháo đường type 2, tăng huyết áp, rối loạn lipid máu và xơ vữa động mạch. Theo thống kê năm 2022, tại Hoa Kỳ có gần 800.000 người mắc bệnh thận giai đoạn cuối [6].

Có nhiều yếu tố thúc đẩy tình trạng tổn thương thận tiến triển bao gồm tăng huyết áp, đái tháo đường, rối loạn lipid máu, chế độ ăn giàu protein, sỏi thận... Gần đây, nhiều nghiên cứu cho thấy tăng acid uric huyết tương là yếu tố thúc đẩy quá trình tiến triển bệnh thận mạn [8]. Thận chịu trách nhiệm chính trong quá trình đào thải acid uric (chiếm 65-75%), lượng còn lại (25-35%) đào thải qua đường tiêu hóa. Vì vậy, khoảng 90% số trường hợp tăng acid uric do suy giảm chức năng bài tiết của thận. Tỷ lệ tăng acid uric ở bệnh nhân bệnh thận mạn tính giai đoạn 1-3 khoảng 40%, ở bệnh nhân giai đoạn 4-5 khoảng 70% [4].

Tác giả Tsai (2017) đã nghiên cứu ở 739 bệnh nhân bệnh thận mạn tính, bệnh nhân được theo dõi dọc với thời gian theo dõi trung bình 4,25 năm, kết quả nghiên cứu cho thấy: ở nhóm bệnh nhân có nồng độ acid uric <6mg/dL tại thời điểm ban đầu chỉ có 13% tiến triển thành bệnh thận giai đoạn 5 trong khi bệnh nhân có nồng độ acid uric ở mức >10mg/dL có 29% tiến triển thành bệnh thận giai đoạn 5 [7]. Trong thực hành lâm

sàng, tăng acid uric ở bệnh nhân bệnh thận mạn tính còn kết hợp với những yếu tố khác và không chỉ bệnh nhân bệnh thận mạn tính mới tăng acid uric huyết tương mà những đối tượng không có bệnh thận mạn tính cũng có những yếu tố liên quan đến tăng acid uric bao gồm béo phì, rối loạn lipid huyết tương, sử dụng rượu, chế độ ăn giàu base purin, yếu tố di truyền và lười hoạt động thể lực. Để tìm hiểu những yếu tố có liên quan đến tăng acid uric huyết tương ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối. Vì vậy, đề tài này được thực hiện với mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa nồng độ acid uric với một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối tại bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 155 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối (BN STM) lọc máu chu kỳ và 163 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối điều trị (ĐT) bảo tồn tại Khoa Nội thận - Tiết niệu và lọc máu Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên từ tháng 1 năm 2023 đến tháng 6 năm 2023, bệnh nhân được chọn theo tiêu chuẩn sau:

Chọn mẫu theo chủ đích, cỡ mẫu thuận tiện. Lấy toàn bộ BN STM điều trị bảo tồn và lọc máu chu kỳ đủ tiêu chuẩn vào nhóm nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:

- Tuổi của BN \geq 18.

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định bệnh thận mạn dựa vào tiêu chuẩn của Hội thận học Hoa Kỳ (KDIGO-2012).

- BN được làm đủ các xét nghiệm và thỏa mãn theo yêu cầu của nghiên cứu.

- BN hợp tác, tham gia nghiên cứu.

* Tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu:

- Suy tim mạn tính nặng.
- Suy gan nặng.
- Mặc bệnh ung thư giai đoạn cuối kèm theo.

- Đang mắc các bệnh cấp tính như: nhiễm khuẩn, nhồi máu cơ tim, suy tim cấp, đột quỵ não...

* 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 tăng acid uric máu khi nồng độ acid uric máu >420μmol/L ở nam và >360μmol/L ở nữ.

* Phân loại acid uric huyết tương theo tác giả Tsai (2017) [7]:

- Bình thường <360 μmol/L;
- Tăng nhẹ 360- < 480 μmol/L;
- Tăng vừa 480- < 590 μmol/L;
- Tăng cao ≥590 μmol/L

2.2. Địa điểm, thời gian nghiên cứu:

Khoa Nội thận -Tiết niệu và lọc máu Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

Khoa Sinh hóa Bệnh viện Trung ương Thái Nguyên.

2.3. Thiết kế nghiên cứu:

Mô tả cắt ngang. Cỡ mẫu toàn bộ.

2.4. Thiết bị nghiên cứu

Máy xét nghiệm sinh hóa tự động OLYMPUS AU480.

Hóa chất do hãng BECKMAN COULTER cung cấp.

2.5. Chỉ tiêu nghiên cứu

- Một số đặc điểm chung nhóm bệnh nhân nghiên cứu: Tuổi, giới, thời gian mắc bệnh, tiền sử bệnh thận

- Một số đặc điểm lâm sàng: Mạch, huyết áp, chỉ số BMI.

- Định lượng nồng độ ure, creatinin, acid uric.

2.6. 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. Ở nhóm bệnh nhân LMCK bệnh nhân được lấy mẫu máu trước lọc máu để định lượng các chỉ số cận lâm sàng theo quy trình chuẩn trên hệ thống máy AU.

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

2.8. 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

Đặc điểm	Nhóm NC	Nhóm LMCK (n=155) (a)	Nhóm ĐT bảo tồn (n=163) (b)	p (a,b)
	X±SD			
Tuổi	X±SD	59,9±14,9	62,6±16,2	>0,05
	<60(n=113)	54 (34,8%)	59 (36,2%)	
	≥60 (n=205)	101 (65,2%)	104 (63,8%)	
Giới	Nam (1)	95 (61,3)	90 (55,2)	>0,05
	Nữ (2)	60 (38,7)	73 (44,8)	
	p (1,2)	>0,05	>0,05	
BMI	Gầy	13 (8,4)	11 (6,7)	>0,05
	Bình thường	106 (68,4)	119 (73,0)	
	Thừa cân	36 (23,2)	33 (20,2)	

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tuổi, giới, chỉ số BMI ở hai nhóm bệnh nhân nghiên cứu. Bệnh nhân chủ yếu ở độ tuổi ≥ 60 , chiếm 65,2% ở nhóm LMCK và 63,8% ở nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn.

Bảng 2. Một số đặc điểm cận lâm sàng nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm NC	Nhóm LMCK (n=155) (a)	Nhóm ĐT bảo tồn (n=163) (b)	p (a,b)
Cholesterol _{TP} (mmol/L)		3,79 \pm 0,98	4,32 \pm 1,33	<0,01
Triglycerid (mmol/L)		1,19 \pm 0,99	1,47 \pm 0,79	<0,05
HDL-C (mmol/L)		1,09 \pm 0,25	1,02 \pm 0,23	>0,05
LDL (mmol/L)		2,73 \pm 1,04	2,37 \pm 0,75	<0,05
Ure (mmol/L)		27,5 \pm 7,3	25,9 \pm 11,5	>0,05
Creatinin (μ mol/L)		1027,0 \pm 273,6	758,8 \pm 319,0	<0,01
Glucose (mmol/L)		6,90 \pm 2,72	6,84 \pm 2,32	>0,05

Nhận xét: Nồng độ một số thành phần lipid huyết tương ở hai nhóm bệnh nhân nghiên cứu đều trong giới hạn bình thường. Ở nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn, nồng độ cholesterol_{TP}, triglycerid, LDL-C cao hơn có ý nghĩa, nồng độ creatinin huyết tương thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân LMCK.

Bảng 3. Nồng độ acid uric huyết tương (μ mol/L) theo một số đặc điểm lâm sàng nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm NC	Nhóm LMCK (n=155) (a)	Nhóm ĐT bảo tồn (n=163) (b)	p (a,b)
Giới	Chung (n=318)	466,9 \pm 87,5	432,1 \pm 107,8	<0,01
	Tỷ lệ tăng: n (%)	117 (75,5)	93 (57,1)	<0,01
	Nam (n=185) (1)	494,6 \pm 80,7	448,1 \pm 106,7	<0,01
	Nữ (n=133) (2)	424,3 \pm 80,9	416,8 \pm 109,5	>0,05
	p (1,2)	<0,01	<0,05	
Tuổi	<60 (n=113) (1)	453,6 \pm 82,6	420,6 \pm 106,2	<0,05
	≥ 60 (n=205) (2)	481,6 \pm 91,1	460,3 \pm 107,3	<0,05
	p (1,2)	<0,05	<0,05	
BMI	<23 (n=249) (1)	453,9 \pm 91,6	423,5 \pm 99,1	>0,05
	≥ 23 (n=69) (2)	472,8 \pm 82,7	441,7 \pm 92,3	>0,05
	p (1,2)	>0,05	>0,05	

Nhận xét: Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ acid uric huyết tương theo tuổi, theo giới ở nhóm bệnh nhân LMCK so với nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn. Tỷ lệ tăng acid uric huyết tương ở nhóm LMCK là 75,7% cao hơn có ý nghĩa so với

nhóm ĐT bảo tồn là 57,1%. Ở hai nhóm bệnh nhân, nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân nam, nhóm bệnh nhân ≥ 60 tuổi cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân nữ, nhóm bệnh nhân <60 tuổi.

Bảng 4. Phân loại acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Nhóm NC	Phân loại uric			
	<360 ($\mu\text{mol/L}$)	360-<480 ($\mu\text{mol/L}$)	480-<590 ($\mu\text{mol/L}$)	>590 ($\mu\text{mol/L}$)
Nhóm LMCK (n=155)	17 (11,0)	68 (43,9)	52 (33,5)	18 (11,6)
Nhóm ĐT bảo tồn (n=163)	30 (18,4)	93 (57,1)	23 (14,1)	17 (10,4)
p	>0,05	<0,05	<0,05	>0,05

Nhận xét: Không có sự khác biệt về tỷ lệ nồng độ acid uric ở mức độ bình thường và mức độ tăng cao ở hai nhóm bệnh nhân nghiên cứu. Ở nhóm bệnh nhân LMCK, nồng độ acid uric ở mức tăng nhẹ thấp hơn và tăng vừa cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm ĐT bảo tồn.

Bảng 5. Tương quan giữa nồng độ acid uric huyết tương với một số chỉ số cận lâm sàng

Chỉ số	Acid uric ($\mu\text{mol/L}$) (n=318)	
	r	p
Cholesterol _{TP} (mmol/L)	0,04	>0,05
Triglycerid (mmol/L)	0,07	>0,05
HDL-C (mmol/L)	-0,06	>0,05
LDL (mmol/L)	0,09	>0,05
Ure (mmol/L)	0,39	<0,05
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	0,57	<0,05
Glucose (mmol/L)	-0,15	>0,05

Nhận xét: Có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ acid uric huyết tương với nồng độ ure, creatinin huyết tương, với r tương ứng là $r=0,39$; $r=0,57$. Không có mối tương quan giữa nồng độ acid uric huyết tương với một số chỉ số lipid huyết tương.

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi ở cả hai nhóm bệnh nhân, nam chiếm đa số với tỷ lệ ở nhóm bệnh nhân LMCK và nhóm ĐT bảo tồn tương ứng là 61,3% và 55,2%; tuổi trung bình tương ứng là $59,9 \pm 14,9$ năm và

$62,6 \pm 16,2$ năm, tỷ lệ bệnh nhân ≥ 60 tuổi ở cả hai nhóm chiếm >60%. Tuổi trung bình trong nghiên cứu của tác giả Mai Huỳnh Ngọc Tân (2021) là $69,1 \pm 16,65$ [2], của tác giả Nguyễn Văn Tuấn (2021) ở nhóm bệnh nhân LMCK là $41,85 \pm 13,56$ và nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn là $53,73 \pm 17,57$ [3]. Tuổi trung bình trong nghiên cứu của tác giả Lê Hạnh Nguyên (2023) là $57,82 \pm 15,32$ (năm), tỷ lệ bệnh nhân ≥ 60 tuổi chiếm 50,8% [1].

Đa số bệnh nhân có chỉ số khối cơ thể ở mức bình thường (>68%), tỷ lệ bệnh nhân thừa cân-béo phì ở nhóm bệnh nhân LMCK và nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn tương ứng là 23,2% và 20,2%. Nghiên cứu của tác giả Mai Huỳnh Ngọc Tân năm 2019 trên 126 bệnh

nhân bệnh thận giai đoạn cuối có 78 (61,9%) bệnh nhân có chỉ số khối cơ thể ở mức bình thường và gầy, tỷ lệ bệnh nhân thừa cân-béo phì là 38,1% [2]. Tác giả Doualla (2018) nghiên cứu trên 103 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối đang điều trị bảo tồn, có độ tuổi trung bình là $55,78 \pm 12,58$ (năm), có 61 bệnh nhân nam chiếm tỷ lệ 59,3%, chỉ số khối cơ thể trung bình là 26,30 (6,04) [5].

Nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ acid uric huyết tương trung bình ở nhóm bệnh nhân LMCK và nhóm bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối ĐT bảo tồn tương ứng là $466,9 \pm 87,5$ $\mu\text{mol/L}$ và $432,1 \pm 107,8$ $\mu\text{mol/L}$; Tỷ lệ tăng acid uric huyết tương ở hai nhóm bệnh nhân trên là 75,5% và 57,1%. Ở nhóm bệnh nhân LMCK, tỷ lệ tăng acid uric ở mức độ vừa là 33,5%, mức độ nặng là 1,6%,

Tác giả Doualla và cộng sự (2018) nghiên cứu về nồng độ acid uric ở 103 bệnh nhân bệnh thận giai đoạn cuối trong đó có 73,7% suy thận giai đoạn 4, 5, kết quả nghiên cứu cho thấy nồng độ acid uric trung bình là $453,2 \pm 120,4$ $\mu\text{mol/L}$, tỷ lệ tăng acid uric là 67% [5].

Nghiên cứu của tác giả Huỳnh Mai Ngọc Tân (2019) trên 126 bệnh nhân bệnh thận mạn chưa LMCK tại bệnh viện đa khoa Trung ương Cần Thơ, nồng độ acid uric huyết tương trung bình là $494,21 \pm 131,57$ $\mu\text{mol/L}$, tỷ lệ tăng acid uric máu là 77,8% trong đó có 65,31% tăng acid uric mức độ nhẹ, 33,67% tăng trung bình,

1,02% tăng mức độ nặng [2]. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Tuấn trên 120 bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối cho thấy nồng độ acid uric ở nhóm điều trị bảo tồn là $490,0 \pm 131,6$ $\mu\text{mol/L}$ và ở nhóm điều trị thay thế là $500,28 \pm 95,48$ $\mu\text{mol/L}$ [3]. Nghiên cứu của tác giả Lê Hạnh Nguyên (2023) trên 195 bệnh nhân bệnh thận mạn chưa điều trị thay thế ở các giai đoạn khác nhau, nồng độ acid uric của bệnh nhân dao động từ 150,0-886,0 $\mu\text{mol/L}$, nồng độ acid uric trung bình của các bệnh nhân là $500,35 \pm 153,60$ $\mu\text{mol/L}$ [1].

Nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của tác giả Doualla [5], thấp hơn so với kết quả nghiên cứu của một số tác giả trong nước [1], [2], [3]. Có sự khác biệt giữa các nghiên cứu trên có thể do sự khác nhau về đối tượng nghiên cứu, độ tuổi của nhóm nghiên cứu, sự suy giảm chức năng thận cũng như tỷ lệ bệnh nhân sử dụng thuốc hạ acid uric (đây là hạn chế trong nghiên cứu của chúng tôi).

Liên quan giữa acid uric huyết tương và một số yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, ở cả hai nhóm bệnh nhân nghiên cứu nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân nam cao hơn so với nhóm bệnh nhân nữ, với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân ≥ 60 tuổi cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân < 60 tuổi. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân thừa cân, béo phì

so với nhóm bệnh nhân không thừa cân, béo phì.

Kết quả nghiên cứu của tác giả Mai Huỳnh Ngọc Tân cho thấy không có sự khác biệt về tỷ lệ tăng nồng độ acid uric huyết tương theo giới, theo nhóm tuổi. Có mối liên quan giữa tăng nồng độ acid uric với chỉ số BMI [2]. Nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Tuấn ở nhóm bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối điều trị bảo tồn, chỉ số nồng độ acid uric huyết tương có xu hướng tăng dần theo tuổi; và ở nam ($534,46 \pm 114,5 \mu\text{mol/L}$) cao hơn so với nữ ($456,91 \pm 135,46 \mu\text{mol/L}$), với sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) [3]. Kết quả nghiên cứu của tác giả Lê Hạnh Nguyên cho thấy không khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ acid uric giữa nam và nữ ở nhóm bệnh thận mạn nói chung và theo giai đoạn bệnh thận; không có mối tương quan giữa nồng độ acid uric huyết tương với tuổi; Có tương quan thuận giữa nồng độ acid uric huyết tương và BMI, với $r=0,264$, $p<0,001$ [1]. Nồng độ acid uric huyết tương ở nhóm bệnh nhân nữ thấp hơn so với nhóm bệnh nhân nam có thể được giải thích do estrogen ngăn chặn lượng protein tái hấp thu urat, làm tăng đào thải acid uric qua thận, dẫn đến giảm nồng độ acid uric huyết tương. Sự hiện diện của estrogen được cho là có thể bảo vệ phụ nữ chống lại các tổn thương ở thận.

Về mối tương quan giữa nồng độ acid uric huyết tương với một số chỉ số cận lâm sàng, kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ acid uric huyết tương với

nồng độ ure, creatinin huyết tương; Không có mối tương quan giữa nồng độ acid uric huyết tương với một số chỉ số lipid huyết tương.

Tác giả Wang H và cộng sự nghiên cứu trên 39736 người khỏe mạnh ở Trung Quốc cho thấy có mối liên quan thuận, khá chặt giữa nồng độ acid uric máu với nồng độ creatinin máu ($p < 0,001$) [8]; Nghiên cứu của Lê Hạnh Nguyên cũng cho thấy nồng độ acid uric huyết tương có mối tương quan thuận mức độ yếu với nồng độ ure ($r=0,265$, $p<0,001$) [1]. Có thể giải thích mối tương quan này như sau: Tại thận, acid uric được lọc hoàn toàn qua cầu thận, bài tiết và hấp thu ở ống thận, khi suy thận càng nặng thì khả năng bài tiết và hấp thu acid uric giảm, dẫn tới tăng acid uric huyết tương, mức độ tăng nồng độ acid uric huyết tương nặng dần theo mức độ suy thận.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ acid uric huyết tương trung bình ở nhóm bệnh nhân LMCK là $466,9 \pm 87,5 \mu\text{mol/L}$, cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân ĐT bảo tồn là $432,1 \pm 107,8 \mu\text{mol/L}$.

Tăng nồng độ acid uric huyết tương có liên quan đến tuổi, giới; Ở nhóm bệnh nhân nam, nhóm bệnh nhân ở độ tuổi ≥ 60 tuổi có nồng độ acid uric huyết tương cao hơn nhóm bệnh nhân nữ và nhóm bệnh nhân ở độ tuổi < 60 .

Có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ acid uric huyết tương với nồng độ ure, creatinin huyết tương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lê Hạnh Nguyên, Đỗ Gia Tuyển, Đặng Thị Việt Hà, Nghiêm Trung Dũng, Dương Đức Hạnh, Phạm Thị Lan Thanh** (2023). “Đánh giá rối loạn nồng độ acid uric máu ở bệnh nhân bệnh thận mạn chưa điều trị thay thế tại Bệnh viện đa khoa tỉnh Thanh Hóa”. Tạp chí Y học Việt Nam, tập 523 (02), số 1, 134-139.
2. **Mai Huỳnh Ngọc Tân, Nguyễn Như Nghĩa** (2019). “Nồng độ acid uric máu ở bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn chưa lọc máu định kì tại bệnh viện đa khoa Trung ương Cần Thơ”. Tạp chí Y học Dược Cần Thơ, số 9, trang 1-8.
3. **Nguyễn Văn Tuấn** (2021). “Khảo sát nồng độ acid uric huyết thanh ở bệnh nhân bệnh thận mạn giai đoạn cuối”. Tạp chí Y học Việt Nam, tập 504 (07), số 2, 147-151.
4. **Abbasi MT, Asghar MR, Bashir K, Hashmi MN** (2021). “Hyperuricemia in Renal patients: Treat or not to treat”. Arch Clin Nephrol 7(1): pp. 050-056.
5. **Doualla, M., Halle, M. P., Moutchia, J., Tegang, S., & Ashuntantang, G.** (2018). “Determinants of hyperuricemia in non-dialysed chronic kidney disease patients in three hospitals in Cameroon”. BMC Nephrology, 19(1), 169.
6. **Pan, X** (2021). “The Roles of FattyAcids and Apolipoproteins in the Kidneys”. Metabolites, 12, 462.
7. **Tsai, C.-W., Lin, S.-Y., Kuo, C.-C., & Huang, C.-C.** (2017). “Serum Uric Acid and Progression of Kidney Disease: A Longitudinal Analysis and Mini-Review”. PLOS ONE, 12(1), e0170393.
8. **Wang H., Wang L., Xier và cộng sự** (2014). “Association of serum uric acid with body mass index: across section study of Jiangsu province, China”. Iran J Public Health, 43(1), 1503-1509.

NHẬN XÉT TỶ LỆ RỐI LOẠN CHỨC NĂNG TUYẾN GIÁP Ở PHỤ NỮ MANG THAI 3 THÁNG ĐẦU TẠI BỆNH VIỆN PHỤ SẢN TRUNG ƯƠNG

Nguyễn Huy Đông¹, Nguyễn Hải Phương², Phạm Thị Thanh Thủy²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Mang thai là thời điểm có nhiều thay đổi nội tiết tố về tuyến giáp phức tạp, có thể làm thúc đẩy những rối loạn chức năng tuyến giáp (RLCNTG), để lại những hậu quả nặng nề cho cả mẹ và thai nhi nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời. Ở Việt Nam có một số nghiên cứu về vấn đề này nhưng chủ yếu áp dụng theo tiêu chuẩn của ATA 2011. **Mục tiêu:** Nhận xét tỉ lệ rối loạn chức năng tuyến giáp ở phụ nữ mang thai trong 3 tháng đầu tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương theo tiêu chuẩn của ATA 2017. **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang được tiến hành trên 992 thai phụ mang thai 3 tháng đầu. Dựa vào nồng độ xét nghiệm FT4, TSH để phân vào các nhóm và tính tỷ lệ RLCNTG. **Kết quả:** Dựa trên khoảng tham chiếu khuyến cáo của Hiệp hội tuyến giáp Hoa Kỳ (ATA) 2017 tỷ lệ RLCNTG là 13,7%. Trong đó, cường giáp 8,9%, suy giáp 2,5%, tình trạng giảm hormon FT4 2,3%. **Kết luận:** Tỷ lệ rối loạn chức năng tuyến giáp ở phụ nữ trong thời kỳ mang thai là khá lớn. Nên sử dụng tiêu chuẩn ATA 2017 trong chẩn đoán RLCNTG ở phụ nữ mang thai.

Từ khoá: rối loạn chức năng tuyến giáp, cường giáp, suy giáp, phụ nữ mang thai trong 3 tháng đầu.

SUMMARY

PREVALENCE OF THYROID DISORDERS IN PREGNANT WOMEN IN THE FIRST TRIMESTER AT THE NATIONAL HOSPITAL OF OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

Background: Pregnancy is a time of many complex hormonal changes in the thyroid gland, which can promote thyroid dysfunction, leaving severe consequences for both mother and fetus if not diagnosed and treated promptly. In Vietnam, there are a number of studies on this issue, but it is mainly applied according to the standards of ATA 2011. **Objectives:** To assess the status of thyroid dysfunction in pregnant women in the first 3 months at the National Hospital of Obstetrics and Gynecology, according to the standards of ATA 2017. **Subjects and methods:** a cross-sectional descriptive study was conducted on 992 pregnant women in the first trimester. Based on the concentration of FT4, TSH to classify into groups and calculate the rate of RLCNTG. **Results:** Based on the American Thyroid Association (ATA) 2017 recommended reference range, the prevalence of thyroid disorders was 13.7%. In which, hyperthyroidism 8.9%, hypothyroidism 2.5%, FT4 hormone decrease 2.3%. **Conclusion:** The prevalence of thyroid dysfunction in women during pregnancy is quite large. The 2017 ATA criteria should be

¹Trường Đại học Y tế Công cộng

²Bệnh viện Phụ sản Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Huy Đông

SĐT: 0834161303

Email: nhd@huph.edu.vn

Ngày nhận bài: 9.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

used in the diagnosis of thyroid disorders in pregnant women.

Keywords: Thyroid disorder, hyperthyroidism, hypothyroidism, pregnant women in the first trimester.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Mang thai là thời điểm có nhiều thay đổi nội tiết tố phức tạp. Những thay đổi bình thường về sinh lý tuyến giáp khi mang thai bao gồm tăng sản xuất hormon giáp (T3 và T4) khoảng 50%, cùng với sự gia tăng tương ứng về tổng lượng nhu cầu i-ốt hàng ngày, tăng nồng độ globulin gắn với tuyến giáp (TBG). Ở phụ nữ khỏe mạnh, những thay đổi sinh lý này diễn ra một cách tự nhiên. Tuy nhiên, rối loạn chức năng tuyến giáp (RLCNTG) có thể phát triển và xuất hiện ở nhiều phụ nữ mang thai do các quá trình bệnh lý. Bệnh lý tuyến giáp là bệnh nội tiết phổ biến thứ hai ở phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ chỉ sau bệnh đái tháo đường. Tỷ lệ RLCNTG trong thai kỳ thay đổi từ 3-15% tùy theo dân tộc và tiêu chuẩn chẩn đoán áp dụng. Hầu hết các rối loạn do tuyến giáp này đều có thể điều trị được và có thể ảnh hưởng xấu đến mẹ và thai nhi nếu chúng không được chẩn đoán sớm và quản lý một cách thích hợp [1].

Hormon giáp rất quan trọng trong thời kỳ mang thai để hỗ trợ sự tăng trưởng và phát triển của não và hệ thần kinh của thai nhi. Thai nhi phụ thuộc vào hormon giáp của mẹ trong suốt 10 đến 12 tuần đầu tiên của thai kỳ cho đến khi tuyến giáp của thai nhi bắt đầu hoạt động. Thiếu hụt hormon giáp trong tình trạng suy giáp có liên quan đến sảy thai, sinh non, vô sinh, viêm tuyến giáp sau sinh (PPT), nhau bong non và vỡ màng ối sớm, cũng như các kết quả bất lợi ở trẻ sơ sinh như tổn hại đến sự phát triển tâm thần và vận

động, rối loạn thiếu tập trung, giảm trọng lượng não [1]. Do đó, đánh giá tình trạng tuyến giáp trong thai kỳ, đặc biệt trong tam cá nguyệt đầu là điều cần thiết để bắt đầu điều trị sớm ở những người mới được chẩn đoán.

Ở Việt Nam đã có một số nghiên cứu đánh giá tình trạng RLCNTG ở phụ nữ có thai, tuy nhiên hầu hết đều áp dụng tiêu chuẩn của Hiệp hội tuyến giáp Hoa Kỳ (ATA) năm 2011 để chẩn đoán suy giáp mà chưa có đề tài nào sử dụng tiêu chuẩn của hướng dẫn mới ATA 2017. Vì vậy đề tài này được thực hiện với mục tiêu nhận xét tỷ lệ rối loạn chức năng tuyến giáp ở phụ nữ có thai 3 tháng đầu tại bệnh viện Phụ sản trung ương, dựa theo tiêu chuẩn của ATA 2017.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Đối tượng nghiên cứu là 992 phụ nữ mang thai dưới 14 tuần đến khám và quản lý thai nghén tại bệnh viện Phụ sản Trung ương từ tháng 1 năm 2021 đến tháng 6 năm 2023

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn: Phụ nữ mang đơn thai, thụ thai tự nhiên, thai sống, tuổi thai đến hết 13 tuần; Đồng ý tham gia nghiên cứu

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ: Thụ thai nhờ các biện pháp hỗ trợ sinh sản: IUI, IVF; Đang sử dụng các thuốc ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm như: hormon tuyến giáp, kháng giáp trạng, amiodarone, lithium, các chế phẩm corticoid, hormon sinh dục (estrogen); Đang mắc các bệnh cấp tính: nhiễm khuẩn, lao phổi, suy gan, suy thận; Các thai phụ không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu: Nghiên cứu được tiến hành tại khoa Sinh

hóa, bệnh viện Phụ Sản Trung Ương từ tháng 05 năm 2023 đến tháng 07 năm 2023.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

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

2.3.2. Cỡ mẫu: 992 thai phụ đạt tiêu chuẩn, chọn mẫu thuận tiện

2.3.3. Thu thập số liệu: Tất cả các đối tượng nghiên cứu được khám, lấy máu xét nghiệm nồng độ FT4, TSH tại khoa Sinh hoá BV Phụ sản Trung ương. Xét nghiệm được phân tích trên máy miễn dịch điện hóa phát quang Cobas E801 của hãng Roche bằng cơ chế miễn dịch bắt cặp.

2.3.4. Các chỉ tiêu đánh giá

Theo tiêu chuẩn ATA 2017 [1], trong trường hợp phòng xét nghiệm không có khoảng tham chiếu cho từng quần thể dân số và dành riêng cho phụ nữ có thai 3 tháng đầu thì có thể giảm giới hạn dưới của mức TSH bình thường xuống ~0,4 mIU/L và giới hạn trên xuống 0,5 mIU/L so với giá trị tham chiếu của người bình thường (tương đương với mức TSH là 0,1 – 4,0 mIU/L).

❖ *Chẩn đoán suy giáp*

- Suy giáp lâm sàng được xác định trong 2 trường hợp sau: Nồng độ TSH ≥ 10 mIU/L. Hoặc $4,0 \text{ mIU/L} < \text{TSH} < 10 \text{ mIU/L}$ và nồng độ FT4 $< 12 \text{ pmol/L}$.

- Suy giáp dưới lâm sàng được xác định khi TSH từ 4,0 - 10 mIU/L và nồng độ FT4 trong giới hạn bình thường (từ 12-22 mIU/L).

❖ *Chẩn đoán cường giáp*

- Cường giáp lâm sàng được xác định khi định lượng nồng độ TSH $< 0,1 \text{ mIU/L}$ và nồng độ FT4 cao ($> 22 \text{ pmol/L}$).

- Cường giáp dưới lâm sàng được xác định khi nồng độ TSH $< 0,1 \text{ mIU/L}$ và nồng độ FT4 trong giới hạn bình thường (từ 12-22 mIU/L).

❖ *Chẩn đoán tình trạng giảm hormon FT4:* Khi TSH bình thường (từ 0,1-4,0 mIU/L) và nồng độ FT4 giảm ($< 12 \text{ pmol/L}$).

❖ *Rối loạn chức năng tuyến giáp thai kỳ:* Thai phụ được xác định là có RLCNTG khi được chẩn đoán 1 trong 3 rối loạn sau: suy giáp, cường giáp, tình trạng giảm FT4.

2.3.5. Xử lý số liệu: Sử dụng các phương pháp thống kê y học và phần mềm SPSS 22.0, Excel.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm thai phụ tham gia nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm về tuổi của đối tượng nghiên cứu

Nhóm tuổi	Số lượng	Tỉ lệ %
< 30 tuổi	522	52,6
≥ 30 tuổi	470	47,4
Tổng	992	100%
Tuổi trung bình (min, max)	29,7 \pm 5,4 (min=17, max=50)	

Nhận xét: Nhóm thai phụ dưới 30 tuổi chiếm tỉ lệ 52,6%, nhóm trên 30 tuổi chiếm tỉ lệ thấp hơn là 47,4%. Tuổi trung bình của đối tượng tham gia nghiên cứu là 29,7 \pm 5,4. Trong đó, tuổi thấp nhất là 17 tuổi, cao nhất là 50 tuổi. Các thai phụ có độ tuổi nằm trong giới hạn trung bình của lứa tuổi sinh đẻ bình thường.

Bảng 2. Phân bố đối tượng nghiên cứu theo tiền sử sản khoa

Tiền sử sản khoa	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Thai lưu	100	10,1%
Sảy thai/Sinh non	17	1,7%

Nhận xét: Tỷ lệ thai phụ có tiền sử thai lưu là 10,1%, trong khi đó tỷ lệ thai phụ có tiền sử sảy thai hoặc sinh non là 1,7%.

3.2. Tỷ lệ các rối loạn chức năng tuyến giáp

Bảng 3. Tỷ lệ các rối loạn chức năng tuyến giáp của đối tượng nghiên cứu

Các rối loạn		N		Tỷ lệ (%)
Suy giáp	Lâm sàng	6	25	2,5
	Dưới lâm sàng	19		
Cường giáp	Lâm sàng	49	88	8,9
	Dưới lâm sàng	39		
Tình trạng giảm hormon FT4		23		2,3
Bình giáp		856		86,3
Tổng		992		100

Nhận xét: Các rối loạn chức năng tuyến giáp ở các thai phụ trong nghiên cứu của chúng tôi bao gồm: 25 người bị suy giáp (2,5%), 88 người bị cường giáp (8,9%) và 23 người (2,3%) có tình trạng giảm hormon FT4. Tổng số có 13,7% số thai phụ trong nghiên cứu bị các RLCNTG. Trong nhóm nghiên cứu có 856 thai phụ có chức năng tuyến giáp bình thường, chiếm 86,3%.

IV. BÀN LUẬN

Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: So với nghiên cứu của Nguyễn Thị Tường Vân thực hiện tại Bệnh viện phụ sản Trung ương trên 30 thai phụ có độ tuổi trung bình là $29,7 \pm 4,7$ tuổi, thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi là tương đương. Còn so với nghiên cứu của Bùi Thị Thu Hương [2] thực hiện trên 1583 thai phụ ở Thái Nguyên thì kết quả nghiên cứu của chúng tôi là cao hơn: Tuổi trung bình của nhóm tham gia nghiên cứu là $27,7 \pm 5,1$ tuổi, tuổi thấp nhất là 17 tuổi, cao nhất là 45 tuổi. Tỷ lệ thai phụ có tiền sử thai lưu trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn khá nhiều so với kết quả

nghiên cứu của Bùi Thị Thu Hương [2] là 1,5%, còn tỷ lệ thai phụ có tiền sử sảy thai hoặc sinh non thì khá tương đồng là 1,3%. Trong một nghiên cứu khác của Đỗ Thị Tuyết Nhung [3] thực hiện trên 156 thai phụ tới khám tại bệnh viện Phụ sản trung ương và Bệnh viện Bạch Mai thì tổng tỷ lệ thai phụ có tiền sử thai lưu, sảy thai và sinh non là 28,2%, cao hơn so với kết quả của chúng tôi. Điều này có thể giải thích do bệnh viện Phụ sản trung ương là bệnh viện tuyến cuối nên nhiều thai phụ lớn tuổi, có tiền sử sản khoa phức tạp lựa chọn đến để thăm khám và quản lý thai nghén.

Rối loạn chức năng tuyến giáp: Tình trạng rối loạn chức năng tuyến giáp ở phụ nữ mang thai là khá phổ biến. Tỷ lệ này khác nhau giữa các quốc gia, phụ thuộc vào tiêu chuẩn chẩn đoán, đặc điểm dân cư, dinh dưỡng và chế độ chăm sóc y tế. Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả thấp hơn Đỗ Thị Tuyết Nhung [3] năm 2015 có 38,5% số thai phụ bị các RLCNTG bao gồm: 17 thai phụ bị suy giáp (10,9%), 26 thai phụ bị cường giáp (16,7%) và 17 (10,9%) thai phụ có tình trạng

giảm hormon FT4. Kết quả tỉ lệ thai phụ mang thai 3 tháng đầu có RLCNTG của Phạm Tuấn Dương (2021) [4] trên 123 đối tượng tại bệnh viện 19-8 và của Bùi Thị Thu Hương [2] lần lượt là 31,7% và 40,9% cũng tương đồng với nghiên cứu của Đỗ Thị Tuyết Nhung và cao hơn kết quả của chúng tôi. So sánh với các nghiên cứu trong khu vực Châu Á, chúng tôi thấy kết quả tương đồng với nghiên cứu của tác giả Wang (Trung Quốc) [5], với RLCNTG gặp ở 10,2% số thai phụ và Dinesh (Ấn Độ) [6], RLCNTG gặp ở 15,5% thai phụ.

Suy giáp: Theo tiêu chuẩn của ATA 2017, trong nghiên cứu của chúng tôi có 25 thai phụ (chiếm 2,5%) được chẩn đoán là suy giáp; trong đó có 6 thai phụ chẩn đoán suy giáp lâm sàng (0,6%) và 19 thai phụ được chẩn đoán suy giáp dưới lâm sàng (1,9%). Kết quả này của chúng tôi giống với tác giả Đỗ Thị Thu Thủy [7] khi sử dụng mức giới hạn tham chiếu trên của TSH là 4,2 mIU/L thì có 58/2100 thai phụ bị suy giáp (chiếm 2,8%); trong đó suy giáp lâm sàng là 0,8% và suy giáp dưới lâm sàng là 2%. Tuy nhiên khi so với các nghiên cứu khác tại Việt Nam sử dụng cùng tiêu chuẩn là ATA 2011 với mức tham chiếu trên của TSH là 2,5 mIU/L thì kết quả của chúng tôi thấp hơn khá rõ (tỉ lệ thai phụ bị suy giáp của Phạm Tuấn Dương [4] là 16,3%, của Đỗ Thị Tuyết Nhung [3] là 10,9%). Ở Việt Nam chưa có nhiều nghiên cứu về tỉ lệ suy giáp trong thai kỳ theo tiêu chuẩn chẩn đoán của ATA 2017. Trên thế giới, tỉ lệ này cũng chênh lệch giữa các nghiên cứu của các tác giả khác nhau, tùy thuộc vào cách áp dụng khoảng tham chiếu của TSH. Ở Trung Quốc, nghiên cứu của Wang [5] lấy mức giới hạn trên tự xây dựng của TSH là 3,93 mIU/L thì tỉ lệ suy giáp gặp 7,5%. Tác giả Li [8] nghiên cứu 4800 phụ nữ

Trung Quốc mang thai quý đầu thấy tỉ lệ suy giáp khá cao (27,8%) nếu sử dụng tiêu chuẩn chẩn đoán của ATA 2011. Sự so sánh về tỉ lệ suy giáp của chúng tôi tương đối giống với sự so sánh tỉ lệ RLCNTG với các nghiên cứu trong và ngoài nước, khi các báo cáo trong nước chủ yếu sử dụng tiêu chuẩn ATA 2011. Nếu áp dụng theo tiêu chuẩn cũ ATA 2011 để chẩn đoán thì có thể dẫn đến một số lượng thai phụ lớn hơn được xếp vào nhóm suy giáp, gây ra những lo lắng không cần thiết tới bệnh nhân.

Cường giáp: Cường giáp trong thời kỳ mang thai hay gặp trong 3 tháng đầu thai kỳ. Có 2 nguyên nhân hay gặp nhất là cường giáp thoáng qua do thai nghén và cường giáp do bệnh Basedow. Nghiên cứu của chúng tôi có 88/992 thai phụ bị cường giáp, chiếm 8,9%, trong đó tỉ lệ cường giáp dưới lâm sàng và cường giáp lâm sàng khá tương đương nhau, lần lượt là 4,0% và 4,9%. Nghiên cứu của Đỗ Thị Tuyết Nhung [3] có 26/156 thai phụ bị cường giáp, chiếm 16,7%, còn nghiên cứu của Phạm Tuấn Dương [4] có tỉ lệ thai phụ bị cường giáp là 13%. Tỉ lệ cường giáp của chúng tôi khá cao so với các báo cáo trên thế giới. Ở Trung Quốc, tác giả Wang [5] gặp 1,8% số thai phụ trong thời kỳ mang thai 3 tháng đầu có TSH < 0,13 mIU/L được chẩn đoán là cường giáp (lâm sàng và dưới lâm sàng), tác giả Dinesh [6] ở Ấn Độ có kết quả 1,0% với TSH < 0,1 mIU/L được chẩn đoán là cường giáp trong thời kỳ mang thai 3 tháng đầu. Nguyên nhân có thể là do số thai phụ bị cường giáp thai nghén thoáng qua lớn khiến cho tỉ lệ được chẩn đoán cường giáp tăng cao. Để có thể chẩn đoán rõ ràng hơn chúng tôi cần có các xét nghiệm sâu hơn như TRAb, β -hCG mới có thể nhận định được. Bên cạnh đó, do địa điểm lấy mẫu nghiên cứu là tại bệnh viện đầu ngành

chuyên về sản khoa nên tỉ lệ gặp các thai phụ có bệnh tuyến giáp từ trước hay triệu chứng lâm sàng khó chịu hoặc có yếu tố nguy cơ cao về bệnh tuyến giáp sẽ tăng cao hơn. Tỷ lệ bệnh lý mà chúng tôi thu được chỉ đại diện cho quần thể thai phụ đến khám bệnh. Tỷ lệ này có thể sẽ thấp hơn nếu ở cộng đồng. Để có cái nhìn tổng quan về rối loạn chức năng tuyến giáp thai kỳ ở Việt Nam, cần tiến hành các nghiên cứu lớn hơn và rộng khắp tại cộng đồng.

Tình trạng giảm FT4: Đây là tình trạng thiếu hormon tuyến giáp thường liên quan đến iod. Một vài nghiên cứu cho rằng tình trạng giảm hormon FT4 ít có liên quan đến các kết cục bất lợi trong thai kỳ. Tuy nhiên tình trạng này ảnh hưởng đến sự hình thành hệ thần kinh của thai nhi và phát triển tâm thần kinh của trẻ về sau. Trong 992 thai phụ tham gia nghiên cứu, chúng tôi thấy có 23 thai phụ (chiếm 2,3%) có mức FT4 dưới 12,0 pmol/L đồng thời mức TSH trong giới hạn bình thường, được chẩn đoán là có tình trạng giảm hormon FT4. Tỷ lệ này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Phạm Tuấn Dương [4] là 2,4%. Tỷ lệ này trong nghiên cứu của Wang [5] là 1,3% và của Dinesh [6] là 0,9%.

V. KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ

Tỷ lệ rối loạn chức năng tuyến giáp ở phụ nữ trong thời kỳ mang thai là khá lớn. Nên sử dụng tiêu chuẩn mới ATA 2017 trong chẩn đoán RLCNTG ở thai phụ, đặc biệt là trong 3 tháng đầu của thai kỳ.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Alexander E.K., Pearce E.N., Brent G.A., et al.** (2017). 2017 Guidelines of the American Thyroid Association for the Diagnosis and Management of Thyroid

Disease During Pregnancy and the Postpartum. *Thyroid*, 27(3), 315–389.

2. **Hương B.T.T., Hà N.T.N., Hiền L.T.M., et al.** (2018). Nghiên cứu tỷ lệ bệnh tuyến giáp (cường, suy giáp) trên thai phụ được quản lý thai nghén tại Thái Nguyên. *Tạp chí Y Học Việt Nam*, 468, 130–135.
3. **Nhung Đ.T.T., Thủy Đ.B., and Vân N.K.D.** (2015). Nhận xét nồng độ hormon tuyến giáp, anti-TPO huyết thanh và hình ảnh siêu âm tuyến giáp ở phụ nữ trong 3 tháng đầu thai kỳ. *Luận văn Thạc sĩ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội*.
4. **Dương P.T. and Hoa Đ.T.** (2021). Thực trạng rối loạn chức năng tuyến giáp ở phụ nữ mang thai 3 tháng đầu tại bệnh viện 19-8. *Tạp chí Nội tiết và đái tháo đường*, 45, 76–81.
5. **Wang W., Teng W., Shan Z., et al.** (2011). The prevalence of thyroid disorders during early pregnancy in China: the benefits of universal screening in the first trimester of pregnancy. *European Journal of Endocrinology*, 164(2), 263–268.
6. **Dhanwal D., Prasad S., Agarwal A., et al.** (2013). High prevalence of subclinical hypothyroidism during first trimester of pregnancy in North India. *Indian J Endocr Metab*, 17(2), 281.
7. **Thủy Đ.T.T., Tâm V.V., and Dũng L.V.** (2014). Nghiên cứu ảnh hưởng của suy giáp thai kỳ đến mẹ và thai nhi tại bệnh viện phụ sản Hải Phòng. *Tạp chí Phụ sản*, 12(2), 120–122.
8. **Li C., Shan Z., Mao J., et al.** (2014). Assessment of Thyroid Function During First-Trimester Pregnancy: What Is the Rational Upper Limit of Serum TSH During the First Trimester in Chinese Pregnant Women?. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 99(1), 73–79.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ VITAMIN D HUYẾT TƯƠNG Ở BỆNH NHÂN NHIỄM KHUẨN HUYẾT

Nguyễn Văn Tuấn¹, Phan Thị Thanh Hải¹,
Quách Xuân Hình¹, Lê Hữu Song¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nồng độ vitamin D huyết tương và đánh giá mối liên quan giữa nồng độ Vit-D huyết tương và với bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân (BN) nhiễm khuẩn huyết (NKH). **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả tiến cứu trên 125 bệnh nhân NKH điều trị tại bệnh viện TỰ QUỠ 108 từ tháng 12/2019 đến tháng 02/2021. Nồng độ Vit-D huyết tương được đo tại thời điểm chẩn đoán xác định NHK. **Kết quả:** Tỷ lệ thiếu Vit-D ở bệnh nhân NKH là 48%. Nồng độ Vit-D huyết tương tại thời điểm bệnh nhân được chẩn đoán NHK là 20,41 (15,03 - 30,25) ng/mL. Điểm SOFA ở nhóm thiếu Vit-D cao hơn nhóm không thiếu ($p < 0,05$). Nồng độ Vit-D ở nhóm sốc thấp hơn nhóm không sốc (19,33 ng/mL và 24,36 ng/mL, $p < 0,05$), nhóm thở máy thấp hơn nhóm không thở máy (17,3 ng/mL và 22,06 ng/mL, $p < 0,05$), nhóm tử vong trong 30 ngày thấp hơn nhóm sống sót (15,51 ng/mL và 22,06 ng/mL, $p < 0,01$). **Kết luận:** Thiếu Vit-D hay gặp ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. Nồng độ Vit-D huyết tương có thể liên quan đến bệnh cảnh lâm sàng nặng và tử vong trong 30 ngày.

Từ khóa: Nhiễm khuẩn huyết, Vitamin D

SUMMARY

STUDY ON PLASMA VITAMIN D LEVELS IN SEPSIS PATIENTS

Objective: To determine plasma vitamin D levels and evaluate the association between plasma vitamin D levels and outcomes of patients with sepsis. **Subject and methods:** Prospective descriptive study was conducted on 125 patients with sepsis treated at 108 Military Central Hospital from December 2019 to February 2021. Plasma vitamin D levels were measured at the time of definitive diagnosis with sepsis. **Results:** vitamin D deficiency rate in patients with sepsis was 48%. The level of plasma vitamin D at the time of definitive diagnosis with sepsis was 20.41 (15.03 – 30.25) ng/mL. SOFA score in vitamin D deficient group was higher than in non-deficient group ($p < 0.05$). vitamin D level in the shock group was lower than in the non-shock group (19.33 ng/mL vs 24.36 ng/mL, $p < 0.05$), in the mechanical ventilation group was lower than in the non-ventilation group (17.3 ng/mL vs 22.06 ng/mL, $p < 0.05$) and in the 30 - day mortality group was lower than in the survival group (15.51 ng/mL vs 22.06 ng/mL, $p < 0.01$). **Conclusion:** Deficiency of vitamin D was common in patients with sepsis. Plasma vitamin D level may be associated with severe outcomes and 30-day mortality.

Keywords: Sepsis, Vitamin D

¹Bệnh viện TỰ QUỠ 108

Chịu trách nhiệm chính: Quách Xuân Hình

SĐT: 0986969800

Email: xuanhinh108@gmail.com

Ngày nhận bài: 30.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Nghiêm Luật

Ngày duyệt bài: 5.7.2023

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm khuẩn huyết (NKH) là tình trạng nhiễm khuẩn nặng gây nên bởi phản ứng của vật chủ với tác nhân gây bệnh dẫn đến rối loạn chức năng các cơ quan dẫn đến tử vong. Năm 2017, ước tính trên toàn cầu có khoảng 48,9 triệu ca NKH, 11 triệu ca tử vong, chiếm 19,7% tổng số ca tử vong [1]. Điều trị cơ bản NKH là bù dịch, kháng sinh, kiểm soát ổ nhiễm khuẩn, hỗ trợ thông khí và tối ưu hóa huyết động để duy trì huyết áp phù hợp đảm bảo tưới máu các cơ quan. Phương pháp điều trị hỗ trợ để hạn chế phản ứng viêm, giảm tác hại của các gốc tự do, cải thiện rối loạn chuyển hóa sẽ là cần thiết trong điều trị NKH.

Vitamin D (Vit-D) có vai trò điều chỉnh miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thích ứng. Vit-D cũng có đặc tính chống viêm, điều chỉnh sản xuất peptit kháng khuẩn nội sinh, ức chế tế bào CD4 + Th1 sản xuất cytokin viêm như inteleukin 2 (IL-2), interferon và yếu tố hoại tử u, kích thích tế bào Th2 sản xuất IL-4, IL-5 và IL-10, tăng sản xuất oxit nitric, giảm rối loạn đông máu do NKH [2].

Cho đến nay trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về nồng độ Vit-D ở bệnh nhân NKH, tuy nhiên vẫn còn nhiều khía cạnh chưa nhất quán trong nhận định vai trò của yếu tố này [2]. Ở Việt Nam chưa có nghiên cứu về vấn đề này. Do đó, nghiên cứu nồng độ Vit-D huyết tương và mối liên quan giữa nồng độ Vit-D huyết tương với bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân NKH là rất cần thiết. Qua đó tạo cơ sở cho thực hiện những nghiên cứu can thiệp trong tương lai. Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài với mục tiêu:

- Xác định nồng độ vitamin D huyết tương ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết.
- Đánh giá mối liên quan giữa nồng độ vitamin D huyết tương với bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng

Gồm 125 bệnh nhân được chẩn đoán NKH, điều trị tại Bệnh viện TƯQĐ 108 từ tháng 12/2019 đến tháng 02/2021.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Từ 18 tuổi trở lên, được chẩn đoán NKH theo tiêu chuẩn của đồng thuận Quốc tế lần thứ 3 về NKH bao gồm: có biểu hiện nhiễm khuẩn và tăng cấp tính điểm SOFA từ 2 điểm trở lên [3].

Tiêu chuẩn loại trừ: Nhiễm HIV, dùng thuốc ức chế miễn dịch, suy thận mạn lọc máu chu kỳ, xơ gan mất bù, truyền máu, các chế phẩm của máu, bổ sung Vit-D trong vòng 3 tháng trước, phụ nữ đang mang thai, cho con bú, bệnh tự miễn.

Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả tiến cứu.

Phương pháp lấy mẫu: chọn mẫu theo phương pháp chọn mẫu thuận tiện.

Nội dung nghiên cứu và các chỉ tiêu đánh giá

Các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng được thu thập dựa trên mẫu bệnh án nghiên cứu: Tuổi, giới, bệnh lý nền, thời gian nằm viện, điểm SOFA, thở máy, sốc nhiễm khuẩn, suy thận (creatinine máu $\geq 176,8$ $\mu\text{mol/L}$), suy gan (bilirubin TP máu $> 34,2$ $\mu\text{mol/L}$ và INR $> 1,5$) [4], tử vong trong 30 ngày, nồng độ Vit-D huyết tương tại thời điểm chẩn đoán NKH.

Nồng độ Vit-D huyết tương được xác định bằng nồng độ 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) huyết tương, giá trị tham chiếu 20 - 50 ng/mL, thiếu Vit-D khi nồng độ Vit-D huyết tương < 20 ng/mL (theo hãng Roche).

Xét nghiệm định lượng vitamin D huyết tương

Bệnh phẩm được lấy tại thời điểm bệnh nhân được chẩn đoán NKH. Lấy 2 ml máu tĩnh mạch cho vào ống chống đông bằng Li heparin, sau đó ly tâm 4000 vòng trong 5 phút tách lấy huyết tương, bảo quản ở - 80° C cho đến khi tiến hành xét nghiệm.

Định lượng Vit-D huyết tương bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang, trên máy Cobas E601, hóa chất hãng Roche, Đức

Xử lý và phân tích số liệu

- Số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm thống kê SPSS 22.0.

- Các biến định tính: tính tỷ lệ phần trăm.

- Biến liên tục phân phối chuẩn được tính trung bình và độ lệch chuẩn, so sánh trung bình của 2 nhóm bằng kiểm định t-test. Biến liên tục không phân phối chuẩn được mô tả bằng trung vị và khoảng tứ phân vị, so sánh 2 nhóm khác nhau bằng test Mann Whitney.

- Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

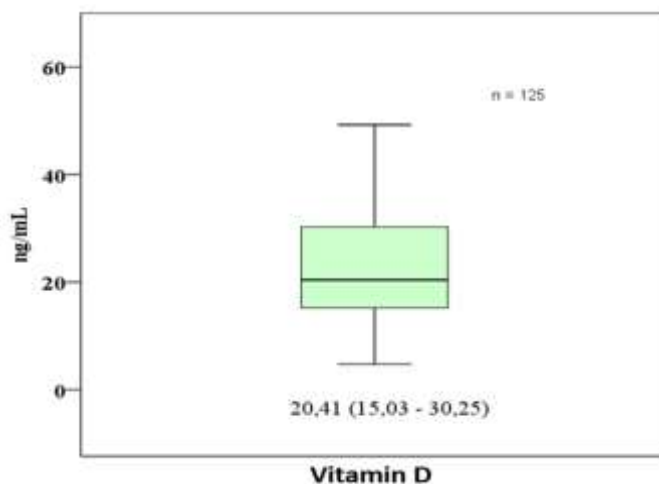
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Nồng độ Vit-D và tỷ lệ thiếu Vit-D ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết



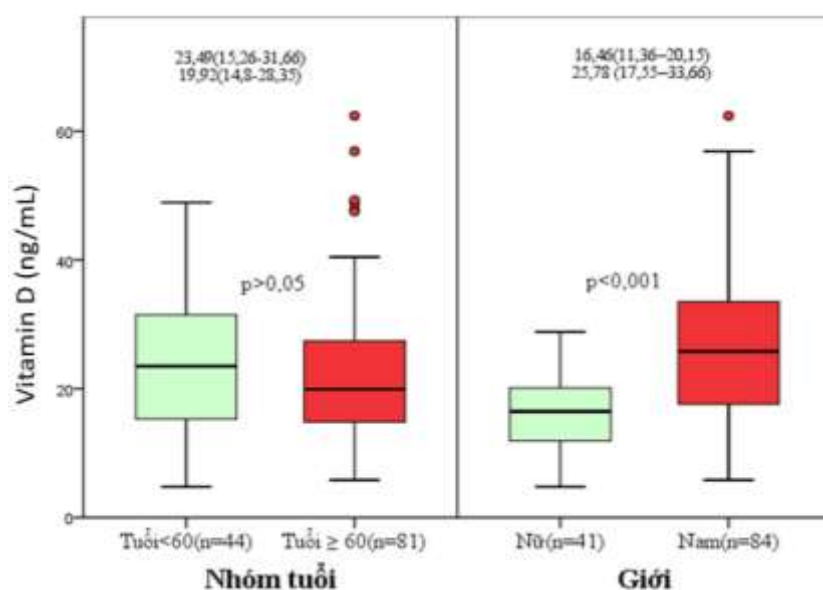
Biểu đồ 1. Tỷ lệ thiếu Vit-D ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết

Kết quả ở Biểu đồ 1 cho thấy 48% bệnh nhân thiếu Vit-D tại thời điểm được chẩn đoán NKH, 52% không thiếu Vit-D.



Biểu đồ 2. Nồng độ Vit-D ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết

Kết quả ở Biểu đồ 2 cho thấy nồng độ Vit-D huyết tương tại thời điểm được chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết là 20,41 (15,03 - 30,25) ng/mL.



Biểu đồ 3. So sánh nồng độ Vit-D theo tuổi, giới

Kết quả ở Biểu đồ 3 cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ Vit-D giữa nhóm < 60 tuổi và nhóm ≥ 60 tuổi. Nồng độ Vit-D ở nữ thấp hơn nam, $p < 0,001$.

3.2. Mối liên quan giữa nồng độ vitamin D huyết tương với bệnh cảnh lâm sàng ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết

Bảng 1. Điểm SOFA, thời gian nằm viện ở nhóm thiếu và không thiếu Vit-D

Thông số		Vitamin D (ng/mL)		p
		Thiếu	Không thiếu	
SOFA (điểm)	n	60	65	< 0,05
	Trung bình	8,78 ± 4,43	6,54 ± 3,36	
Thời gian nằm viện (ngày)	n	38	53	> 0,05
	Trung bình	16,90 ± 7,57	18,15 ± 9,97	

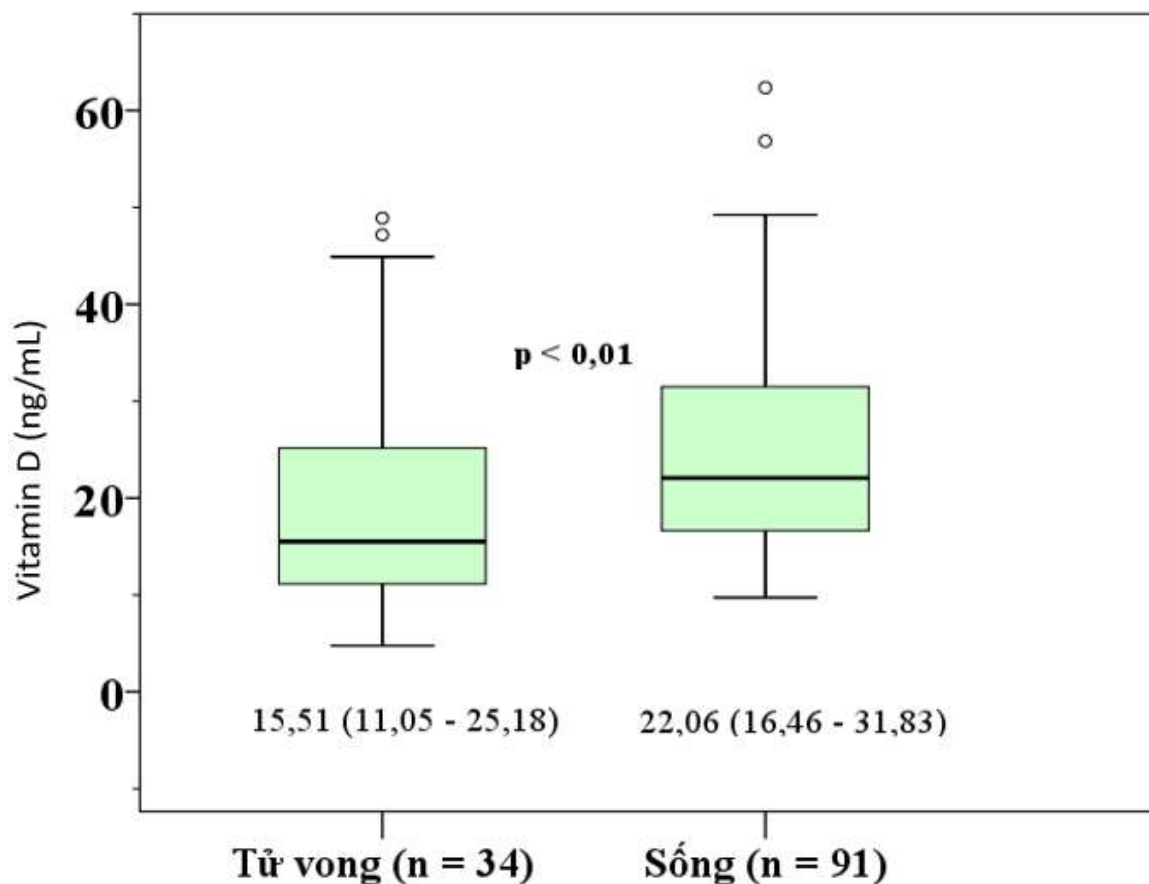
Kết quả ở Bảng 1 cho thấy nhóm thiếu Vit-D có điểm SOFA cao hơn nhóm không thiếu ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về thời gian nằm viện giữa nhóm thiếu và không thiếu Vit-D.

Bảng 2. Nồng độ Vit-D ở bệnh nhân suy tạng

Thông số		n	Trung vị (Khoảng tứ vị)	p*
Sốc	Không	52	24,36 (17,18 - 32,62)	0,011
	Có	73	19,33 (13,01 - 27,67)	
Thở máy	Không	77	22,06 (17,21 - 30,89)	0,014
	Có	48	17,28 (11,81 - 28,59)	
Suy thận	Không	88	20,75 (14,83 - 30,91)	0,468
	Có	37	19,33 (15,47 - 29,09)	
Suy gan	Không	95	20,17 (13,97 - 29,30)	0,112
	Có	30	23,59 (16,04 - 42,0)	

* Test Mann – Whitney

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy nồng độ Vit-D huyết tương ở nhóm sốc thấp hơn so với nhóm không sốc, nhóm thở máy thấp hơn so với nhóm không thở máy, $p < 0,05$. Nồng độ Vit-D không có sự khác biệt giữa nhóm có suy thận và nhóm không có suy thận, nhóm suy gan và không suy gan.



Biểu đồ 4. So sánh nồng độ Vit-D ở nhóm sống và nhóm tử vong

Kết quả ở Biểu đồ 4 cho thấy nồng độ Vit-D ở nhóm tử vong thấp hơn ở nhóm sống (15,51 ng/mL và 22,06 ng/mL), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$.

IV. BÀN LUẬN

Theo nghiên cứu của chúng tôi thấy tỷ lệ thiếu Vit-D tại thời điểm chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết là 48%. Nhiều nghiên cứu của các tác giả khác trên thế giới cũng cho thấy thiếu Vit-D là một đặc điểm phổ biến ở bệnh

nhân NKH, tỷ lệ thiếu Vit-D ở bệnh nhân NKH cao từ 54 - 81,7% [5], [6], [7], [8]. Nồng độ Vit-D ở bệnh nhân NKH thấp, theo Shojaei (2019) là $19,03 \pm 13,08$ ng/ml [7], theo Bayat (2021) là $19,03 \pm 13,08$ ng/mL [9]. Các kết quả này cũng tương đồng với kết quả của chúng tôi, nồng độ Vit-D huyết tương tại thời điểm chẩn đoán NKH là 20,41 (15,03 - 30,25) ng/mL. Chúng tôi thấy nồng độ Vit-D ở bệnh nhân nữ thấp hơn nam, $p < 0,001$ (biểu đồ 3). Nghiên cứu của

Trongtrakul (2017) cũng thấy tỷ lệ thiếu Vit-D ở nữ cao hơn nam. Giải thích cho sự khác biệt này, có thể do nữ giới thường hay sử dụng các biện pháp chống nắng như mặc quần áo, sử dụng kem chống nắng nhiều hơn so với nam giới dẫn đến giảm tiếp xúc với ánh nắng mặt trời làm giảm tổng hợp Vit-D. Điều này dẫn đến tỷ lệ thiếu Vit-D trong cộng đồng của nữ cao hơn nam đã được ghi nhận trong nghiên cứu của Huong T.T. Nguyen (2012) khi tiến hành khảo sát tỷ lệ thiếu Vit-D của người dân miền Bắc Việt Nam cho thấy tỷ lệ thiếu Vit-D ở nữ là 30%, ở nam là 16%, tỷ lệ thiếu Vit-D ở nữ cao gấp gần 2 lần ở nam. Chúng tôi thấy không có sự khác biệt về nồng độ Vit-D giữa nhóm < 60 tuổi và nhóm \geq 60 tuổi. Kết quả này cũng được các tác giả khác ghi nhận [6], [9].

Vit-D có vai trò quan trọng trong đáp ứng viêm và NKH. Vit-D tham gia điều chỉnh miễn dịch bẩm sinh và miễn dịch thích ứng, tham gia sản xuất các peptit kháng khuẩn nội sinh như LL-37, ức chế tế bào CD4 + Th1 sản xuất các cytokin viêm như IL-2, yếu tố hoại tử u, tăng cường sản xuất IL-4, IL-5 và IL-10 của tế bào Th2 giảm thiểu tác động có hại của trạng thái tiền viêm. Vit-D cũng là một yếu tố phiên mã nitric oxide synthase nội mô, làm tăng sản xuất oxit nitric. Vit-D còn có tác dụng làm giảm rối loạn đông máu do NKH [2]. Với vai trò như vậy, thiếu Vit-D có thể dẫn tới tăng tổn thương các cơ quan, tăng tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân NKH. Sốc nhiễm khuẩn, thở máy, tổn thương tạng là những biểu hiện nặng của NKH. Thang điểm SOFA được Vincent và

cộng sự phát triển nhằm đánh giá mức độ nặng của rối loạn chức năng đa cơ quan ở BN hồi sức. Hiện nay thang điểm SOFA đã được hội nghị đồng thuận về NKH 2016 (sepsis 3) đưa vào trong chẩn đoán NKH (khi có nhiễm khuẩn và điểm SOFA từ 2 điểm trở lên được chẩn là NKH). Với điểm SOFA ở mức này, tỷ lệ tử vong tại bệnh viện của bệnh nhân được ước tính là 10%, điểm SOFA càng cao thì tỷ lệ tử vong càng gia tăng [3]. Theo kết quả nghiên cứu ở bảng 1, bảng 2 nhóm thiếu Vit-D có điểm SOFA cao hơn nhóm không thiếu ($p < 0,05$), Vit-D ở nhóm sốc thấp hơn nhóm không sốc, ở nhóm thở máy thấp hơn nhóm không thở máy, $p < 0,05$. Nhiều nghiên cứu khác cũng cho thấy thiếu Vit-D liên quan đến mức độ nặng của NKH [8], nhóm thiếu Vit-D có tỷ lệ phải thở máy cao hơn nhóm không thiếu, điểm SOFA ở nhóm thiếu Vit-D cao hơn nhóm không thiếu [6], [8], NKH nặng có nồng độ Vit-D thấp hơn, Vit-D ở nhóm sốc thấp hơn nhóm không sốc [9]. Chúng tôi thấy, nồng độ Vit-D ở nhóm tử vong trong 30 ngày thấp hơn nhóm sống sót, $p < 0,01$ (biểu đồ 4). Kết quả này cũng được ghi nhận ở các nghiên cứu khác như nghiên cứu của Rech (2014) [5] và Shojaei (2019) [7] cũng thấy nồng độ Vit-D ở nhóm tử vong thấp hơn nhóm không tử vong trong 30 ngày điều trị.

V. KẾT LUẬN

Thiếu vitamin D hay gặp ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. Nồng độ vitamin D huyết tương có thể liên quan đến bệnh cảnh lâm sàng nặng và tử vong trong 30 ngày.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Rudd KE., Johnson SC, Agesa KM, et al.** Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet* 2020 Jan 18; 395 (10219): 200-211.
2. **Rossetti M, Martucci G, Starchl C, et al.** Micronutrients in Sepsis and COVID-19: A Narrative Review on What We Have Learned and What We Want to Know in Future Trials. *Medicina* 2021; 57(5): 419.
3. **Singer M, Deutschman CS, Seymour C, et al.** The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *Jama* 2016; 315(8): 801-810.
4. **Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al.** Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Crit Care Med* 2013; 41(2): 580-637.
5. **Rech MA, Hunsaker T, Rodriguez J.** Deficiency in 25-hydroxyvitamin D and 30-day mortality in patients with severe sepsis and septic shock. *Am J Crit Care* 2014; 23(5): e72-79.
6. **Ala-Kokko TI, Mutt SJ, Nisula S, et al.** Vitamin D deficiency at admission is not associated with 90-day mortality in patients with severe sepsis or septic shock: Observational FINNAKI cohort study. *Ann Med* 2016; 48(1-2): 67-75.
7. **Shojaei M, Sabzeghabaei A, Valaei Barhagh H, et al.** The Correlation between Serum Level of Vitamin D and Outcome of Sepsis Patients; a Cross-Sectional Study. *Arch Acad Emerg Med* 2019; 7(1): e1.
8. **Southeast Asia Infectious Disease Clinical Research Network.** Causes and outcomes of sepsis in southeast Asia: a multinational multicentre cross-sectional study. *Lancet Glob Health* 2017; 5(2): e157-e167.
9. **Bayat M, Gachkar L, Zahirnia M, et al.** Association Between Low Serum Vitamin D Levels and Sepsis: A Single-Center Study in Tehran, Iran. *Arch Clin Infect Dis* 2021 February; 16(1): e102926.

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ VITAMIN B12 HUYẾT TƯƠNG TRÊN BỆNH NHÂN XƠ GAN DO RƯỢU

Nông Văn Diệp¹, Phùng Thị Trang¹, Triệu Thị Biên¹,
Phạm Văn Trân², Nguyễn Thị Mai Ly²,
Bùi Khắc Cường², Nguyễn Văn Tuấn²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định nồng độ vitamin B12 huyết tương (VTM B12 HT) và mối liên quan giữa nồng độ vitamin B12 huyết tương với một số triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng trên bệnh nhân (BN) xơ gan do rượu (XGDR). **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mô tả cắt ngang, đối tượng nghiên cứu gồm 2 nhóm: Nhóm bệnh gồm 50 BN XGDR điều trị tại Bệnh viện Quân y 103 từ 12/2021-07/2022; Nhóm chứng gồm 50 người khỏe mạnh. **Kết quả:** Nồng độ trung bình của VTM B12 huyết tương ở BN XGDR là $991,56 \pm 782,39$ pg/mL, trung vị 845,5 pg/mL cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng là $293,12 \pm 109,62$ pg/mL, trung vị 254 pg/mL, $p < 0,0001$. Có mối liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với các triệu chứng lâm sàng như vàng da niêm mạc ($p=0,001$), cổ trướng ($p=0,0008$) và giai đoạn xơ gan theo Child Pugh ($p=0,016$). Nồng độ VTM B12 HT có mối tương quan thuận với nồng độ bilirubin toàn phần ($r = 0,46$; $p=0,0006$), bilirubin trực tiếp ($r = 0,46$; $p=0,0007$) và ALT ($r = 0,29$; $p=0,03$). **Kết luận:** Nồng độ VTM B12 HT tăng cao ở BN XGDR.

Có mối liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với vàng da niêm mạc, cổ trướng và phân độ Child Pugh; Có mối tương quan thuận giữa nồng độ VTM B12 HT với các nồng độ bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp và hoạt độ ALT.

Từ khóa: Xơ gan do rượu, vitamin B12, mối liên quan

SUMMARY

STUDY THE PLASMA VITAMIN B12 LEVELS IN PATIENTS WITH ALCOHOLIC LIVER CIRRHOSIS

Aim: To determine the plasma vitamin b12 levels and the relationship between vitamin b12 levels and some clinical and subclinical symptoms in patients with alcoholic liver cirrhosis. **Subjects:** A cross-sectional study including 50 alcoholic cirrhosis patients diagnosed and treated in Military Hospital 103, from 12/2021-07/2022 and the control group with 50 healthy participants. **Results:** The plasma vitamin B12 of alcoholic cirrhosis patients was 991.56 ± 782.39 pg/mL, median 845.5 pg/mL significantly higher than that of healthy controls was 293.12 ± 109.62 pg/mL, median 254 pg/mL), $p < 0.0001$. There is a relationship between the concentration of plasma vitamin B12 with clinical symptoms such as mucosal jaundice ($p=0.001$), ascites ($p=0.0008$) and the Child Pugh stages ($p=0,016$). The plasma vitamin B12 was positively correlated with total bilirubin ($r = 0.46$, $p=0.0006$), direct bilirubin ($r = 0.46$, $p=0.0007$) and ALT ($r = 0.29$, $p=0.03$).

¹Bệnh viện Đa khoa tỉnh Bắc Kạn

²Học viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Nông Văn Diệp

SĐT: 0981125822

Email: nongvandiep1093@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS. Nguyễn Thị Hoa

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

Conclusion: The vitamin B12 increased significantly among patients with alcoholic cirrhosis, suggesting the reduced store capacity of damaged liver. In addition, the among alcoholic cirrhosis, the plasma vitamin B12 levels were associated with mucosal jaundice, ascites and cirrhosis, as well as the positively correlated with the total bilirubin, direct bilirubin, and ALT level. The result suggests the prognostic value of plasma vitamin B12 in patients

Keywords: Alcoholic liver cirrhosis, vitamin B12, relationship

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh gan mạn tính xảy ra ở hơn 1.5 tỉ người và 2% trong số đó là nguyên nhân do rượu [1]. Xơ gan là giai đoạn cuối của bệnh gan mạn tính, gây ra hơn 2 triệu người chết mỗi năm [2]. Các cơ chế lạm dụng rượu gây tổn thương gan bao gồm suy giảm chuyển hóa gây tích trữ lipid trong gan, tăng cường phản ứng viêm tại chỗ và thúc đẩy quá trình xơ hóa [2].

Vitamin B12 (VTM B12) có vai trò quan trọng trong quá trình chuyển hóa chất và năng lượng, trong sự phân chia tế bào, trong tổng hợp nhân porphyrin, biến đổi ribonucleotid, tổng hợp protein ở ribosom [3].

Bệnh gan nặng do rượu liên quan đến tăng cường vận chuyển VTM B12 toàn phần từ mô gan vào huyết tương. Bổ sung VTM B12 thúc đẩy tự sửa chữa và hồi phục tổn thương gan, làm chậm tiến triển của xơ gan và đảo ngược tình trạng viêm và xơ hóa gan [4]. Khi gan bị tổn thương nặng, liên kết giữa VTM B12 và mô gan bị phá vỡ, dự trữ B12 của mô gan giảm dẫn tới VTM B12 thoát ra khỏi gan vào tuần hoàn [4]. Trong khi đó, sự thiếu hụt nghiêm trọng VTM B12

trong bệnh gan nặng gây ra rối loạn chức năng chuyển hóa ở mô, mặc dù tổng lượng VTM B12 trong huyết tương tăng cao [4]. Tuy nhiên, các nghiên cứu về nồng độ VTM B12 HT ở BN XGDR tại Việt nam còn chưa đầy đủ. Vì vậy, đề tài nghiên cứu nhằm mục tiêu: Xác định nồng độ VTM B12 HT và mối liên quan giữa nồng độ vitamin B12 huyết tương với một số triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng trên BN XGDR.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Nhóm bệnh gồm 50 BN XGDR được chẩn đoán, điều trị tại Bệnh viện Quân y 103 từ 12/2021-07/2022.

Nhóm chứng gồm 50 người khỏe mạnh.

Tiêu chuẩn lựa chọn nhóm bệnh

Chẩn đoán xơ gan khi có đầy đủ 3 hội chứng: Hội chứng suy tế bào gan, hội chứng tăng áp lực tĩnh mạch cửa và hội chứng thay đổi hình thái gan.

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

Tiêu chuẩn lựa chọn nhóm chứng

Người bình thường, khỏe mạnh đến khám sức khỏe định kỳ tại Bệnh viện Quân y 103 và có các kết quả xét nghiệm cận lâm sàng trong giới hạn bình thường.

Giá trị tham chiếu của vitamin B₁₂: sử dụng dải tham chiếu của nồng độ VTM B12 HT tại khoa Sinh hóa, Bệnh viện Quân y 103, bình thường từ 180 - 914 pg/mL; Giảm < 180pg/mL; Tăng: >914pg/mL.

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, ly tâm tách huyết tương.

2.3. Các chỉ tiêu nghiên cứu

Một số đặc điểm lâm sàng: Tuổi, giới, chán ăn, vàng da, xạm da, phù, sao mạch, bàn tay son.

Một số đặc điểm cận lâm sàng: Định lượng nồng độ VTM B12 huyết tương theo nguyên lý miễn dịch hóa phát quang, trên máy UniCel DxI 800 (Beckman Coulter).

Xác định hoạt độ AST, ALT, GGT và một số chỉ số cận lâm sàng khác theo qui trình chuẩn.

Bệnh nhân được 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. Trong quá trình thu thập số liệu có 5 bệnh nhân không thu thập được đầy đủ triệu chứng lâm sàng nên khi phân tích mối liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với một số triệu chứng lâm sàng chỉ được phân tích trên 45 bệnh nhân.

2.4. Xử lý số liệu trên phần mềm thống kê SPSS 23.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Phân bố nồng độ VTM B12 theo tuổi

Bảng 1. Nồng độ VTM B12 HT theo tuổi

Nhóm tuổi	Vitamin B12 (pg/ml)			
	n	$\bar{x} \pm SD$	min - max	trung vị
<40 tuổi	6	989,83±1061,8	334-3135	616,5
40-60 tuổi	34	997,15±784,09	296-4430	886
>60 tuổi	10	973,6±672,0	407-2730	899,5
p	0,665			

Kiểm định Kruskal-Wallis cho thấy không có sự khác biệt về nồng độ VTM B12 huyết tương giữa các nhóm tuổi của bệnh nhân xơ gan với $p=0,665$. Như vậy, VTM B12 HT không phụ thuộc vào tuổi.

3.2. Nồng độ VTM B12 HT giữa nhóm bệnh và nhóm chứng

Bảng 2. So sánh nồng độ VTM B12 HT giữa nhóm bệnh, nhóm chứng

	VTM B12 (pg/mL)	
	Xơ gan do rượu	Nhóm chứng
Min-Max	296-4430	130-513
Trung vị	845,5	254
$\bar{x} \pm SD$	991,56±782,39	293,12±109,62
p= 0.0000		

So sánh nồng độ VTM B12 HT giữa nhóm XGDR và nhóm khỏe mạnh cho thấy, nhóm XGDR có nồng độ VTM B12 HT cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p<0.0001$).

Bảng 3. Liên quan biến đổi VTM B12 HT với xơ gan

Nhóm		Biến đổi VTM B12			Tổng
		Bình thường	Tăng	Giảm	
Chứng	n	42	0	8	50
	%	84	0	16	100
Xơ gan	n	28	22	0	50
	%	56	44	0	100
Tổng	n	70	22	8	100
	%	70	22	8	100
Pearson chi2(2) = 32.800 Pr = 0.000					
Fisher's exact = 0.000					

Phân tích liên quan cho thấy mỗi liên quan có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ biến đổi nồng độ VTM B12 HT và bệnh lý xơ gan. Tăng VTM B12 HT không xảy ra ở nhóm chứng, nhưng xuất hiện ở 22/50 (44%) BN XGDR.

3.3. Liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với đặc điểm lâm sàng

Bảng 4. Liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với một số triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng		n	VTM B12(pg/ml)			p
			$\bar{x} \pm SD$	Min-max	Trung vị	
Chán ăn	Có	33	1084,3±865,4	311-4430	909	0,065
	Không	12	652,2±280,5	296-1073	595	
Mệt mỏi	Có	40	1010,9±809,1	296-4430	855	0,233
	Không	5	634,0±279,5	313-1040	626	
Vàng da niêm mạc	Có	26	1235,4±921,3	311-4430	1035,5	0,001
	Không	19	604,5±222,0	296-1073	564	
Xạm da	Có	15	1200,7±813,6	334-3135	977	0,054
	Không	30	853,2±742,8	296-4430	649,5	
Phù	Có	19	1094,6±1015,3	311-4430	955	0,765
	Không	26	877,3±544,2	296-2905	729	
Sao mạch	Có	17	1106,5±901,4	407-4430	996	0,087
	Không	28	885,6±692,8	296-3135	694	
Bàn tay son	Có	18	1074,1±892,2	334-4430	995,5	0,179
	Không	27	899,0±696,5	296-3135	670	
Rối loạn ý thức	Có	5	1059,6±1035,5	467-2905	629	0,745
	Không	40	957,7±753,4	296-4430	855	
Xuất huyết tiêu hóa	Có	13	705,0±230,2	417-1073	629	0,202
	Không	32	1076,3±890,2	296-4430	934,5	
Tuần hoàn bàng hệ	Có	24	1012,3±794,1	334-4430	932	0,237
	Không	21	919,6±770,6	296-3135	629	
Cổ trướng	Có	29	1102,1±830,2	313-4430	977	0,008
	Không	16	727,8±618,1	296-2905	563,5	

Xơ gan giai đoạn	Còn bù	4	510,75±171,79	296-670	538,5	0,067
	Mất bù	41	1013,80±797,93	311-4430	863	
Xơ gan Child Pugh	Child A	5	572,2±329,8	296-1140	451	0,016
	Child B	23	744,91±291,91	311-1443	718	
	Child C	17	1389,12±1096,1	334-4430	1057	

Kết quả cho thấy, có mối liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với các triệu chứng lâm sàng như vàng da niêm mạc ($p=0,001$), cổ trướng ($p=0,0008$) và giai đoạn xơ gan theo Child Pugh ($p=0,016$). Không có sự khác biệt nồng độ VTM B12 HT giữa các

BN có hay không có các triệu chứng lâm sàng khác như chán ăn, mệt mỏi, xạm da, phù, sao mạch, bàn tay son, rối loạn ý thức, xuất huyết tiêu hóa, tuần hoàn bàng hệ.

3.4. Tương quan giữa nồng độ VTM B12 HT với một số chỉ số hóa sinh

Bảng 5. Tương quan giữa nồng độ VTM B12 HT với một số xét nghiệm hóa sinh

Chỉ số	VTM B12	
	r	p
Glucose (mmol/L)	0,02	0,87
Protein (g/L)	0,04	0,73
Albumin (g/L)	0,15	0,29
Bilirubin TP ($\mu\text{mol/L}$)	- 0,46	0,0006
Bilirubin TT ($\mu\text{mol/L}$)	- 0,46	0,0007
AST (U/L)	0,23	0,10
ALT (U/L)	- 0,29	0,03
GGT (U/L)	0,15	0,29
Cholesterol (mmol/L)	0,08	0,56
Triglycerid (mmol/L)	0,002	0,98
Ure (mmol/L)	0,05	0,68
Creatinin ($\mu\text{mol/L}$)	0,03	0,82

Kết quả phân tích chỉ ra mối tương quan thuận giữa nồng độ VTM B12 và nồng độ Bilirubin toàn phần, Bilirubin trực tiếp và ALT ($p<0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Trong thời gian ngắn và cỡ mẫu hạn chế ($n=50$), nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận bệnh nhân nữ bị XGDR. Điều này phản ánh đúng thực trạng dịch tễ tại Việt Nam và phù hợp với các nghiên cứu của Phạm Thị Dung (2018) (100% nam giới) [5] và Hà Thị Hạnh Dung (2019) 98% nam [6].

Nghiên cứu của Banker và CS năm 1987 đã chỉ ra rằng BN mắc bệnh gan có nồng độ VTM B12 HT tăng và mức độ VTM B12 trong nhu mô gan giảm [7]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra sự tăng cao nồng độ VTM B12 HT ở BN XGDR so với nhóm chứng. 44% BN XGDR (22/50) có nồng độ VTM B12 HT tăng cao. Đáng chú ý, tăng VTM B12 HT liên quan với giai đoạn xơ gan theo Child Pugh ($p<0,05$) gợi ý giá trị ý nghĩa tiên lượng của B12 với mức độ tăng nặng của BN XGDR. Tuy nhiên, cần có nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn để có đủ bằng chứng đưa ra khuyến cáo.

Nồng độ VTM B12 tăng cao hơn ở BN XGDR có cổ trướng, vàng da niêm mạc, so với BN XGDR không có các triệu chứng trên. Mặt khác, nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra sự tương quan giữa nồng độ VTM B12 HT và các chỉ số xét nghiệm cận lâm sàng liên quan đến chức năng gan và sự phá hủy tế bào gan như bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp và hoạt độ enzym ALT. Như vậy, có bằng chứng gợi ý về mối tương quan giữa mức độ nặng của bệnh với mức độ tăng VTM B12 HT. Mối tương quan này chỉ ra rằng với sự gia tăng tổn thương tế bào gan (tăng enzym gan), VTM B12 HT cũng có xu hướng cao hơn. Lý do có thể là gan bị tổn thương, giảm chức năng hấp thụ cobalamin và các chất tương tự từ máu [8]. Đồng thời, gan tổn thương suy giảm khả năng liên kết với VTM B1, vài giảm khả năng lưu trữ transcobalamin, khiến VTM B12 thoát ra khỏi tế bào gan vào hệ tuần hoàn [8]. Vì vậy, ở những bệnh nhân có tổn thương gan, thiếu dưỡng VTM B12 có thể bị che mờ bởi sự tăng VTM B12 do giảm dự trữ trong tế bào gan. Các nghiên cứu về mức độ VTM B12 trong huyết tương và mô gan ở những người bệnh gan do rượu gợi ý rằng tổn thương gan có thể gây thiếu hụt nghiêm trọng B12 ở mô, dẫn đến rối loạn chức năng chuyển hóa mặc dù tổng lượng VTM B12 trong huyết tương vẫn tăng [7]. Bên cạnh đó, nồng độ Bilirubin phản ánh sự tắc nghẽn và ứ trệ trong gan, hoạt độ ALT là chỉ số phản ánh tổn thương mạn tính tế bào gan. Sự tương quan thuận với nồng độ Bilirubin ($r = 0.46$) và hoạt độ ALT ($r = 0.29$), cũng như sự liên quan giữa tăng VTM B12 và phân độ xơ gan gợi ý giá trị tiên lượng của nồng độ VTM B12.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ VTM B12 HT tăng cao ở BN XGDR.

Có mối liên quan giữa nồng độ VTM B12 HT với vàng da niêm mạc, cổ trướng và phân độ Child Pugh;

Có mối tương quan thuận giữa nồng độ VTM B12 HT với các nồng độ bilirubin toàn phần, bilirubin trực tiếp và hoạt độ ALT.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Global (2018)**. Regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*, **392** (10159): p. 1789-1858.
2. **Mokdad, A.A., et al., (2010)**. Liver cirrhosis mortality in 187 countries between 1980 and 2010: a systematic analysis. *BMC Med*, 2014. **12**: p. 145.
3. **Rizzo, G. and A.S. Laganà (2020)**. A review of vitamin B12. p. 105-129.
4. **Baker, H., et al., (1998)**. Cobalamin (vitamin B12) and holotranscobalamin changes in plasma and liver tissue in alcoholics with liver disease. *J Am Coll Nutr*, 17(3): p. 235-8.
5. **Phạm Thị Dung, D.Q.H., (2018)**. Nghiên cứu nồng độ homocystein huyết tương ở bệnh nhân xơ gan do rượu. *Tạp chí Y dược học Quân sự*, trang 27-31 (8-TV).
6. **Hà Thị Hạnh Dung, V.Q.H., Lê Thanh Hà, Phạm Văn Trân, (2020)**. Nghiên cứu nồng độ alpha 2 macroglobuline ở bệnh nhân xơ gan do rượu. *Tạp chí Y học Việt Nam*, (tập 496, Số chuyên đề): trang 171-177.
7. **Baker, H., O. Frank, and B. DeAngelis (1987)**. Plasma vitamin B12 titres as indicators of disease severity and mortality of patients with alcoholic hepatitis. *Alcohol, Alcohol*, 22(1): p. 1-5.
8. **Kanazawa, S. and V. Herbert (1985)**. Total corrinoid, cobalamin (vitamin B12), and cobalamin analogue levels may be normal in serum despite cobalamin in liver depletion in patients with alcoholism. *Lab Invest*, 53 (1): p. 108-10.

NỒNG ĐỘ AMH HUYẾT THANH Ở PHỤ NỮ TIỀN MÃN KINH KHỎE MẠNH

Nguyễn Thị Thanh Hương¹, Đặng Thị Thu Thủy¹,
 Nông Thị Khánh Chi¹, Nguyễn Thị Linh¹, Nguyễn Đoàn Dũng¹

TÓM TẮT

Nồng độ AMH huyết thanh là cơ sở cho ứng dụng lâm sàng liên quan đến dấu hiệu lão hóa buồng trứng ở phụ nữ. **Mục tiêu:** Mọi liên quan giữa nồng độ AMH huyết thanh với các hormon sinh dục, đặc điểm sinh sản và một số triệu chứng tiền mãn kinh ở phụ nữ tiền mãn kinh khỏe mạnh. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang được thực hiện trên 140 phụ nữ tiền mãn kinh khỏe mạnh có độ tuổi từ 35 – 45. Thu thập thông tin, đặc điểm lâm sàng bằng bộ câu hỏi phỏng vấn. Các xét nghiệm AMH, FSH, LH, E2, prolactin, progesteron, testosterone được thực hiện trên máy Cobas E801, bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang. **Kết quả:** Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $39,62 \pm 2,44$ tuổi, nồng độ AMH với trung vị (KTC 95%) là 1,12 (0,91 – 1,63) ng/ml; 1,02 (0,83 – 1,22) ng/ml; 0,48 (0,21 – 0,74) ng/ml lần lượt tương ứng với các nhóm tuổi 35 – 38; 39 – 42; 43 – 45 tuổi, có sự khác biệt đáng kể về nồng độ AMH theo nhóm tuổi với $p < 0,05$. Trong các triệu chứng tiền mãn kinh có triệu chứng khó thụ thai chiếm tỷ lệ cao nhất (68,57%), kinh nguyệt không đều (40%), bốc hỏa (27,9%), có mối liên quan giữa nồng độ AMH với triệu chứng bốc hỏa

với $p < 0,05$. Có mối tương quan nghịch giữa nồng độ AMH với hormon sinh dục FSH và LH với $p < 0,05$. **Kết luận:** Nồng độ AMH thấp có liên quan đến tuổi ngày càng tăng ở phụ nữ, với tình trạng kinh nguyệt và đặc điểm kinh nguyệt trong độ tuổi tiền mãn kinh. Có mối liên quan giữa AMH với triệu chứng bốc hỏa. Không có mối tương quan giữa AMH với các hormon sinh dục như E2, prolactin, progesteron, testosterone, nhưng lại có mối tương quan nghịch với FSH và LH.

Từ khóa: AMH, tiền mãn kinh, hormon sinh dục

SUMMARY

Serum AMH levels are the basis for clinical application in relation to ovarian aging markers in women. **Objectives:** Relationship between serum AMH levels and sex hormones and some premenopausal symptoms in healthy premenopausal women. **Subjects and methods:** A cross-sectional analysis included 140 healthy premenopausal women aged from 35 to 45 years. Information collection, clinical characteristics by interview questionnaire. Tests for AMH, FSH, LH, E2, Prolactin, Progesteron, Testosterone were analyzed on Cobas E801 machine, by electroluminescence immunoassay. **Results:** The mean age of the study group was $39,62 \pm 2,44$ years old, the AMH concentration (median, 95% CI) was 1,12 (0,91 – 1,63) ng/ml; 1,02 (0,83 – 1,22) ng/ml; 0,48 (0,21 – 0,74) ng/ml corresponding to age groups 35 - 38; 39 – 42; 43 - 45 years old, there was a significant difference

¹Bệnh viện Phụ Sản Trung Ương

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Thanh Hương
 SĐT: 0904982465

Email: thanhhuong3012@gmail.com

Ngày nhận bài: 29.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Thiện Ngọc

Ngày duyệt bài: 4.7.2023

in AMH concentration by age group with $p < 0,05$. Among perimenopausal symptoms, the highest rate was difficulty conceiving (68,57%), irregular menstruation (40%), hot flashes (27,9%). There is an inverse correlation between the concentration of AMH and sex hormones FSH and LH with $p < 0,05$. **Conclusions:** Low AMH levels are associated with increasing age in women, with menstrual irregularities and menstrual irregularities in perimenopause. There is a relationship between AMH levels and hot flashes. There is no relationship between AMH and sex hormones such as E2, prolactin, progesterone, testosterone, but there is an inverse correlation with FSH and LH.

Keywords: Anti-mullerian Hormon, perimenopausal, sex hormones

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Anti-mullerian Hormon (AMH) là một loại glycoprotein, có trọng lượng phân tử 140kDa, là thành viên của họ các yếu tố biến đổi tăng trưởng (TGF- β). Ở phụ nữ trưởng thành, AMH được sản xuất và tiết ra độc quyền bởi các tế bào hạt của nang trứng, kiểm soát việc tuyển dụng, chọn lọc và trưởng thành của các nang trứng sơ cấp [1]. Nồng độ AMH không thay đổi trong suốt chu kỳ kinh nguyệt và nồng độ này không phụ thuộc vào một số hormon sinh dục khác như FSH, LH, E2, Progesteron. Những đặc điểm này làm cho AMH trở thành mục tiêu hấp dẫn với các nhà lâm sàng, đặc biệt trong lĩnh vực sản phụ khoa và đề nghiên cứu [2]. AMH rất nhạy cảm với những thay đổi liên quan đến tuổi tác, đây cũng là một chỉ dấu quan trọng được dùng làm tiêu chí hỗ trợ cho việc phân loại các giai đoạn lão hóa sinh sản theo phân loại Stages of Reproductive Aging Workshop (STRAW +10) [3]. Mặc dù AMH được nghiên cứu rộng rãi trong nhiều trường

hợp như trong hỗ trợ sinh sản, hội chứng buồng trứng đa nang, khối u buồng trứng... nhưng những liên quan giữa AMH với các yếu tố ở phụ nữ tiền mãn kinh (TMK) khỏe mạnh vẫn còn ít. Vì vậy mục tiêu nghiên cứu của chúng tôi là xác định mối liên quan ở phụ nữ TMK khỏe mạnh giữa nồng độ AMH huyết thanh với một số nồng độ hormon sinh dục trong huyết thanh, đặc điểm sinh sản và các triệu chứng của TMK.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

❖ Tiêu chuẩn lựa chọn

- Nghiên cứu được thực hiện trên 140 phụ nữ trong độ tuổi tiền mãn kinh từ 35 – 45 tuổi, được đánh giá theo tiêu chí của STRAW +10 [3].

- Chưa được thực hiện các hỗ trợ về sinh sản (IUI, IVF, ICSI)

- Đồng ý tham gia nghiên cứu

❖ Tiêu chuẩn loại trừ

- Mắc các bệnh lý cấp tính, mạn tính, bệnh lý về buồng trứng, ung thư buồng trứng hay đã phẫu thuật liên quan đến buồng trứng trước đó.

- Thiếu năng sinh dục di truyền, mang thai, mất kinh > 12 tháng

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian: từ 1/2023 – 4/2023

- Địa điểm: Các bệnh nhân đến khám tại Khoa Khám bệnh của bệnh viện Phụ sản Trung Ương. Các xét nghiệm AMH, FSH, LH, E2, Prolactin, Progesteron, Testosteron được thực hiện tại Khoa Sinh hóa – BV Phụ sản Trung Ương.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

❖ **Thiết kế nghiên cứu:** Nghiên cứu cắt ngang

❖ **Chỉ tiêu nghiên cứu**

- Các phụ nữ đến khám được đo chiều cao cân nặng, khai thác bệnh sử, tiền sử sản phụ khoa, tình trạng kinh nguyệt hiện tại, các triệu chứng của tiền mãn kinh theo bộ câu hỏi có sẵn.

- Các xét nghiệm AMH, FSH, LH, E2, Prolactin, Progesteron, Testosteron được thực hiện vào ngày 2 – 3 vòng kinh. Tuy nhiên đối với một số phụ nữ có triệu chứng mất kinh < 12 tháng (nằm trong triệu chứng của tiền mãn kinh), có thể lấy mẫu làm xét nghiệm ngay khi đến khám bệnh.

❖ **Kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu:** Các xét nghiệm được thực hiện trên máy

Cobas E801 bằng phương pháp miễn dịch điện hóa phát quang.

❖ **Phương pháp phân tích số liệu:**

- Sử dụng phần mềm SPSS 20.0, thống kê phi tham số do dữ liệu có độ lệch cao. Các thử nghiệm đơn biến cho biến phân phối không chuẩn Wilcoxon và Kruskal-Wallis.

- Đối với những phụ nữ có nồng độ AMH thấp hơn LOD (giới hạn phát hiện) thì giá trị AMH được tính bằng cách sử dụng LOD/2, đây là giá trị nằm giữa 0 và LOD. Với AMH trong nghiên cứu của chúng tôi có LOD: 0,0098 vậy với những phụ nữ có AMH < 0,0098 ng/ml thì giá trị được lấy là 0,0049 ng/ml.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Đặc điểm của nhóm nghiên cứu và mối liên quan với AMH huyết thanh

Đặc điểm chung		AMH (ng/ml) Median (KTC 95%)	P
Tuổi (Mean ± SD)	39,62 ± 2,44		
Phân nhóm tuổi n(%)			
35 – 38	50 (35,7)	1,12 (0,91 – 1,63)	<0,001
39 – 42	71 (50,7)	1,02 (0,83 – 1,22)	
43 – 45	19 (13,6)	0,48 (0,21 – 0,74)	
Tuổi hành kinh (Mean ± SD)	14,58 ± 1,57		
Phân loại tuổi hành kinh n(%)			
<14	78 (55,7)	0,97 (0,85 – 1,16)	0,446
15-17	56 (40)	1,06 (0,77 – 1,25)	
18-20	6 (4,3)	0,72 (0,04 – 2,42)	
Tuổi mang thai (Mean ± SD)	25,84 ± 4,41		
Phân loại tuổi mang thai lần đầu n(%)			
<19	11 (8,9)	0,92 (0,26 – 1,3)	0,430
20-24	35 (28,5)	0,83 (0,54 – 1,18)	
25-29	55 (44,7)	1,05 (0,79 – 1,17)	
>=30	22 (17,9)	1,28 (0,85 – 2,27)	
Số con đã có n(%)			
0	23 (16,4)	1,09 (0,65 – 1,82)	0,212
1-2	106 (75,7)	0,98 (0,82 – 1,16)	
3-4	11 (7,9)	0,80 (0,21 – 1,11)	

Tình trạng kinh nguyệt			
Không đều	56 (40,0)	0,6 (0,38 – 0,82)	<0,001
Đều	84 (60,0)	1,16 (1,03 – 1,43)	
Triệu chứng rối loạn kinh nguyệt			
Không có triệu chứng	51 (36,4)	1,16 (1,05 – 1,39)	0,001
Chu kỳ ngắn	26 (18,6)	0,71 (0,401 – 1,44)	
Chu kỳ dài < 2 tháng	29 (20,7)	0,86 (0,35 – 1,59)	
2 tháng < Mất kinh < 12 tháng	7 (5,0)	0,0049(0,0049 – 0,125)	
Rong kinh	6 (4,3)	0,859 (0,385 – 2,41)	
Kinh ít	12 (8,6)	1,14 (0,88 – 2,25)	
Cường kinh	9 (6,4)	1,405 (0,62 – 3,15)	

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $39,62 \pm 2,44$ tuổi, trong đó độ tuổi từ 39 – 42 chiếm tỷ lệ cao nhất 50,7% và có mối liên quan giữa nồng độ AMH với phân loại nhóm tuổi ở phụ nữ TMK. Có mối liên quan giữa

nồng độ AMH với tình trạng kinh nguyệt và các triệu chứng rối loạn kinh nguyệt ở phụ nữ TMK. Tuy nhiên, không có mối liên quan giữa AMH với tuổi bắt đầu hành kinh, tuổi mang thai lần đầu.

Bảng 3.2. Triệu chứng tiền mãn kinh và mối liên quan với AMH huyết thanh

Triệu chứng tiền mãn kinh	n (%)	AMH (ng/ml) Median (KTC 95%)	P
Triệu chứng bốc hỏa			
Không	101 (72,14)	0,99 (0,85 – 1,24)	0,017
Có	39 (27,86)	0,817 (0,29 – 1,10)	
Khó thụ thai			
Không	44 (31,43)	0,98 (0,73 – 1,17)	0,301
Có	96 (68,57)	0,95 (0,81 – 1,16)	
Hay lo lắng/hồi hộp			
Không	101 (72,14)	0,982 (0,82 – 1,16)	0,293
Có	39 (27,86)	0,925 (0,76 – 1,16)	
Dễ tăng cân			
Không	85 (62,86)	0,99 (0,85 – 1,16)	0,404
Có	55 (39,29)	0,902 (0,62 – 1,20)	
Đau nhức xương khớp			
Không	88 (62,86)	1,00 (0,87 – 1,36)	0,070
Có	52 (37,14)	0,84 (0,68 – 1,13)	
Rối loạn giấc ngủ			
Không	104 (74,29)	0,94 (0,81 – 1,12)	0,937
Có	36 (25,71)	1,07 (0,77 – 1,41)	

Trong các triệu chứng về tiền mãn kinh của đối tượng nghiên cứu thì triệu chứng khó thụ thai chiếm tỉ lệ cao nhất (68,57%), rối loạn giấc ngủ chiếm thấp nhất (25,71%). Có mối liên quan giữa nồng độ AMH với triệu chứng bốc hỏa ($p < 0,05$).

Bảng 3.3. Mối tương quan giữa nồng độ AMH huyết thanh với một số hormon sinh dục

Xét nghiệm	OR (KTC 95%)	p
FSH	-0,038 (-0,053 – -0,022)	<0,001
LH	-0,048 (-0,087 – -0,009)	0,016
E2	0,003 (-0,006 – 0,012)	0,561
PRL	0 (-0,001 – 0,001)	0,615
PRG	-0,041 (-0,34 – 0,258)	0,783
TES	0,627 (-0,044 – 1,298)	0,066

Mô hình hồi quy ở bảng 3.3 cho thấy nồng độ AMH có tương quan tuyến tính nghịch với xét nghiệm FSH với OR=-0,038 (KTC 95%: -0,053 – -0,022; p < 0,001) và LH với OR=-0,048 (KTC 95%: -0,087 – -0,009; p=0,016). Không có mối tương quan giữa AMH với xét nghiệm E2, Prolactin, Progesterone và Testosterone.

IV. BÀN LUẬN

AMH là chỉ số để đánh giá dự trữ buồng trứng ở phụ nữ đã được áp dụng trong thực hành lâm sàng hiện nay như một công cụ để chẩn đoán và tiên lượng. AMH rất nhạy cảm với những thay đổi liên quan đến tuổi tác. Sau khi tăng cho đến tuổi trưởng thành sớm, nồng độ AMH sẽ giảm dần khi tuổi càng cao. Nồng độ AMH huyết thanh của từng cá nhân phản ánh chính xác kích thước của nang trứng, đại diện cho số lượng các nang trứng nguyên thủy còn lại. Do đó AMH thay đổi đáng kể và không giống nhau ở phụ nữ có cùng độ tuổi, điều đó cho phép AMH dự đoán chiều dài còn lại của chu kỳ kinh nguyệt ở người phụ nữ [4]. Nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với các báo cáo khác về mối liên quan nghịch giữa tuổi tác và nồng độ AMH.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, không có mối liên quan giữa AMH với các đặc điểm về sinh sản như tuổi bắt đầu hành kinh, tuổi mang thai lần đầu và số con đã có. Kết quả này cũng phù hợp với nghiên cứu của

một số tác giả khác. Nghiên cứu của tác giả Christiana [5] cũng cho thấy không có mối liên quan nào được tìm thấy giữa AMH với đặc điểm sinh sản ở phụ nữ TMK. Kết quả ở bảng 3.1 cho thấy có mối liên quan giữa nồng độ AMH với tình trạng kinh nguyệt và rối loạn kinh nguyệt ở phụ nữ tiền mãn kinh. Ở những phụ nữ có tình trạng kinh nguyệt không đều, nồng độ AMH 0,6 (0,38 – 0,82) thấp hơn có ý nghĩa so với phụ nữ có kinh nguyệt đều 1,16 (1,03 – 1,43). Ở phụ nữ có triệu chứng rối loạn kinh nguyệt với triệu chứng mất kinh trên 2 tháng và dưới 12 tháng có nồng độ AMH thấp hơn hẳn so với phụ nữ có triệu chứng cường kinh, rong kinh. Điều đó cho thấy sự phù hợp về mặt sinh lý cùng với sự lão hóa buồng trứng, tuy nhiên điều đó cũng cho thấy sự thay đổi nồng độ AMH cũng như các dấu hiệu về lão hóa buồng trứng không giống nhau ở phụ nữ cùng trong độ tuổi tiền mãn kinh.

Triệu chứng về tiền mãn kinh ở đối tượng nghiên cứu của chúng tôi cũng khá đa dạng, hay gặp nhất là triệu chứng khó thụ thai, điều này có thể lý giải do nhu cầu đến khám và chữa vô sinh ở đối tượng phụ nữ trong độ tuổi tiền mãn kinh khá cao ở bệnh viện của chúng tôi. Tuy nhiên, không có mối liên quan giữa nồng độ AMH với triệu chứng trên cũng như một vài triệu chứng khác như hay hồi hộp đánh trống ngực, dễ tăng cân, rối loạn giấc ngủ. Chỉ có triệu chứng bốc hỏa là có mối liên quan với nồng độ AMH với

$p < 0,05$. Kết quả về mối liên quan này của chúng tôi cũng tương đồng với một nghiên cứu ở Hàn Quốc của tác giả SunJu về nồng độ AMH thấp có liên quan đến việc tăng nguy cơ mắc các triệu chứng vậ mạch (bốc hỏa và đổ mồ hôi) khởi phát sớm ở phụ nữ trong độ tuổi tiền mãn kinh [6].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra có mối tương quan nghịch đáng kể giữa nồng độ FSH và LH. Không có mối tương quan với E2, Prolatin, Proges và Testos. Kết quả này phù hợp với hầu hết các nghiên cứu [7], [8]. Trong giai đoạn tiền mãn kinh chức năng buồng trứng thay đổi dẫn đến những thay đổi trong các hormon sinh dục ở giai đoạn này. Nồng độ FSH phải tăng lên để duy trì chức năng của buồng trứng trong chu kỳ và nồng độ E2 giảm dần do nó được sản xuất bởi các nang noãn.

AMH cho thấy có nhiều đặc điểm thuận lợi để sử dụng trong lĩnh vực lâm sàng. Tính độc lập của nó với các đặc điểm trong chu kỳ kinh nguyệt, sinh sản, thời gian và nhân trắc học khiến nó trở nên hấp dẫn đối với những ứng dụng lâm sàng ở phụ nữ.

V. KẾT LUẬN

Nồng độ AMH thấp có liên quan đến tuổi ngày càng tăng của phụ nữ, với tình trạng kinh nguyệt và rối loạn kinh nguyệt trong độ tuổi tiền mãn kinh ở phụ nữ. Có mối liên quan giữa nồng độ AMH với triệu chứng bốc hỏa. Không có mối liên quan giữa AMH với các hormon sinh dục như E2, prolactin, progesteron, testosteron, nhưng lại có mối tương quan nghịch với FSH và LH.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **E. Feyereisen, D. H. Mendez Lozano, J. Taieb và cộng sự** (2006). Anti-Mullerian

hormone: clinical insights into a promising biomarker of ovarian follicular status. *Reprod Biomed Online*, 12 (6), 695-703.

2. **W. J. Hehenkamp, C. W. Looman, A. P. Themmen và cộng sự** (2006). Anti-Mullerian hormone levels in the spontaneous menstrual cycle do not show substantial fluctuation. *J Clin Endocrinol Metab*, 91 (10), 4057-4063.
3. **S. D. Harlow, M. Gass, J. E. Hall và cộng sự** (2012). Executive summary of the Stages of Reproductive Aging Workshop + 10: addressing the unfinished agenda of staging reproductive aging. *Menopause*, 19 (4), 387-395.
4. **I. A. van Rooij, F. J. Broekmans, G. J. Scheffer và cộng sự** (2005). Serum antimullerian hormone levels best reflect the reproductive decline with age in normal women with proven fertility: a longitudinal study. *Fertil Steril*, 83 (4), 979-987.
5. **C. M. Shaw, F. Z. Stanczyk, B. L. Egleston và cộng sự** (2011). Serum antimullerian hormone in healthy premenopausal women. *Fertil Steril*, 95 (8), 2718-2721.
6. **S. J. NamGoung, Chang, Y., Kim, Y. et al** (2022). Low anti-Müllerian hormone levels are associated with an increased risk of incident early-onset vasomotor symptoms among premenopausal women. *Nature*, 12,
7. **A. La Marca, G. Stabile, A. C. Arsenio và cộng sự** (2006). Serum anti-Mullerian hormone throughout the human menstrual cycle. *Hum Reprod*, 21 (12), 3103-3107.
8. **G. Liberty, A. Ben-Chetrit, E. J. Margalioth và cộng sự** (2010). Does estrogen directly modulate anti-mullerian hormone secretion in women? *Fertil Steril*, 94 (6), 2253-2256

ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ TƯƠNG ĐỒNG CỦA CÁC PHƯƠNG PHÁP XÉT NGHIỆM HbA1c TRÊN CÁC BỆNH NHÂN MANG BIẾN THỂ HbE

Đào Huyền Quyên¹, Nguyễn Thúy Nga¹,
Uông Thị Thu Hương¹, Vũ Thị Hương²

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Phương pháp sắc ký ái lực Boronate (Boronate Affinity Chromatography-HPLC) và phương pháp miễn dịch ức chế đo độ đục (Turbidimetric Inhibition Immunoassay-TINIA) có kết quả tương quan tốt, không có sự khác biệt giữa hai phương pháp khi phân tích trên mẫu máu hemoglobin bình thường. **Mục tiêu:** So sánh độ chênh lệch và độ tương quan về kết quả HbA1c giữa phương pháp sắc ký ái lực Boronate (Premier Hb9210, Trinity Biotech) với phương pháp miễn dịch đo độ đục (Cobas c513, Roche Diagnostics) trên bệnh nhân đái đường và bệnh nhân mang biến thể Hemoglobin E. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** nhóm 1: 50 mẫu máu toàn phần bệnh nhân đái đường tại Khoa Hóa sinh – Bệnh viện Bạch Mai; nhóm 2: 40 mẫu máu toàn phần có kết quả điện di bất thường với đỉnh HbE tại Khoa Hóa sinh, Viện Huyết học - Truyền máu Trung Ương từ tháng 05/2023 đến tháng 06/2023. HbA1c được phân tích trên hệ thống Premier Hb9210 và Cobas c513 tại Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Bạch Mai. Tiêu chuẩn chấp nhận sự độ lệch nhỏ hơn tổng

sai số cho phép (TEa) <6% quy định Chương trình quốc gia chuẩn hóa GlycoHemoglobin. **Kết quả:** Độ lệch HbA1c giữa Hb9210 (HPLC) và c513 (TINIA) trong 2 nhóm lần lượt là 2.60%, 0,556% đều nhỏ tiêu chuẩn độ chênh lệch cho phép là 6% HbA1c. Trong nhóm HbE sự khác biệt giữa 38/40 (95%); tương quan mạnh, phương trình tương quan là $y = -0,505 + 1,1 * x$ với Pearson Correlation: 0,862.. Độ lệch kết quả HbA1c 6,5% là 2,23%, nhỏ hơn 50% TEa_ tiêu chuẩn CAP là 3%. **Kết luận:** Kết quả HbA1c phương pháp sắc ký ái lực Boronate và miễn dịch ức chế đo độ đục trên mẫu của bệnh nhân đái đường và bệnh nhân mang biến thể HbE có độ chênh lệch nhỏ hơn tiêu chuẩn độ chênh lệch cho phép 6% (NGSP) và hai phương pháp có sự tương quan rất chặt.

Từ khóa: Miễn dịch ức chế đo độ đục, sắc ký ái lực Boronate, HbA1c, bệnh hemoglobin

SUMMARY

EVALUATION OF THE CORRELATION OF HbA1c TESTING METHODS AT BACH MAI HOSPITAL ON PATIENTS CARRYING THE HbE VARIANT

Background: Boronate Affinity Chromatography (HPLC) and Turbidimetric Inhibition Immunoassay (TINIA) have excellent compatibility; there is no distinction between the two methods analyzed using a sample of normal hemoglobin. **Objectives:** Comparison of the difference and correlation of results between Boronate affinity chromatography (Premier

¹Khoa hóa sinh – Bệnh viện Bạch Mai

²Khoa hóa sinh – Viện Huyết học truyền máu Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Đào Huyền Quyên

SĐT: 0982128503

Email: quyenshbm@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Thị Hoa

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

Hb9210, Trinity Biotech) and Turbidimetric Inhibition Immunoassay (Cobas c513, Roche Diagnostics) in HbA1c quantification in whole blood samples of diabeto patients and patients of Hemoglobin E variant carrier. **Materials and methods:** group 1: 50 random samples of diabeto patients at the Department of Biochemistry - Bach Mai Hospital; group 2: 40 samples had abnormal electrophoresis results with HbE peak at the Department of Biochemistry, National Institute of Hematology and Blood Transfusion from May 2023 to June 2023. HbA1c were analyzed on Premier Hb9210 and Cobas c513 systems at Department of Biochemistry, Bach Mai Hospital. Accepted method of assessment is when the difference between the two methods is less than TEa 6% according to National Glycohemoglobin Standardization Program. **Results:** The HbA1c test results between the two methods HPLC and TINIA in the two groups diabeto and with HbE showed that the difference were 2.60, 0.556% less than 6%. The difference of groups with HbE within the limit with 38/40 samples (95%); the two methods have strong correlation in HbA1c quantitative results, the correlation equation for test results is $y = -0.505 + 1.1 * x$ with Pearson Correlation: 0.862. Calculating the difference according to the linear regression model) at 6.5% HbA1c (diabeto diagnostic threshold) the difference between the two machines is 2.23%, smaller than 50% TEa_CAP(3%). **Conclusion:** The results of HbA1c between Boronate Affinity Chromatography and Turbidimetric Inhibition Immunoassay in samples of diabeto patients and samples of patients carrying the HbE variant had a difference of less than the 6% (NGSP) and the two methods have a strong correlation.

Keywords: Boronate Affinity Chromatography, HPLC, Turbidimetric

Inhibition Immunoassay, HbA1c, hemoglobinopathy.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

HbA1c được coi là chỉ số đáng tin cậy và được sử dụng phổ biến để chẩn đoán và đánh giá nồng độ glucose huyết trong cơ thể trong 3 tháng qua [1], [2], [6]. Hiệp hội Đái tháo đường Hoa Kỳ (ADA) khuyến cáo các phòng xét nghiệm nên lựa chọn các phương pháp đo HbA1c mà đã được chứng nhận bởi Chương trình Quốc gia về chuẩn hóa Glycohemoglobin [3], [7]. Hiện nay, có nhiều phương pháp đo HbA1c tuy nhiên có mỗi phương pháp có những hạn chế và ưu điểm khác nhau. Nghiên cứu gần đây cho thấy bệnh huyết sắc tố có thể ảnh hưởng đến phép đo HbA1c, và đưa ra nhận định mức độ HbA1c có kết quả thấp ở những bệnh nhân có mang biến thể hemoglobin bất thường [2], [4], [9]. Khoa Hóa Sinh bệnh viện Bạch Mai hiện nay đang sử dụng 2 phương pháp đo HbA1c là sắc ký ái lực Boronate (HPLC) và miễn dịch đo độ đục (TINIA). Trước khi đưa vào sử dụng máy, khoa đã khảo sát tương quan giữa 2 phương pháp này trên nhóm bệnh nhân đái đường không có biến hemoglobin bất thường cho thấy 2 phương pháp này có mối tương quan rất chặt. Việt Nam nằm khu vực Đông Nam Á vùng có HbA₁C nhiều bệnh nhân mang biến thể Hemoglobin bất thường đặc biệt là HbE chiếm tỷ lệ phổ biến [2], đây là yếu tố ảnh hưởng đến phép đo HbA1c vì vậy đề tài được thực hiện với mục tiêu: *So sánh độ chênh lệch và độ tương quan về kết quả HbA1c*

máu toàn phần giữa phương pháp sắc ký ái lực Boronate (Premier Hb9210, Trinity Biotech) với phương pháp miễn dịch đo độ đục (Cobas c513, Roche Diagnostics) trên bệnh nhân mang biến thể Hemoglobin E.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

❖ Nhóm 1: 50 mẫu máu toàn phần của bệnh nhân đái đường tại Khoa Hóa sinh - Bệnh viện Bạch Mai.

❖ Nhóm 2: 40 mẫu máu toàn phần có kết quả điện di bất thường với đỉnh hemoglobin E (HbE) tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung Ương từ tháng 05/2023 đến tháng 06/2023.

Tiêu chuẩn chọn mẫu: Mẫu máu bệnh nhân chẩn đoán đái đường và mẫu máu được xác định có biến thể HbE bằng phương pháp điện di mao quản.

Tiêu chuẩn loại trừ:

- Bệnh thiếu máu tán huyết. Bệnh thiếu máu do thiếu sắt.

Bệnh nhân hồi phục sau mất máu cấp tính, Bệnh nhân mắc HbSS, HbCC và HbSC,

Bệnh nhân được chẩn đoán suy thận mãn tính.

❖ Địa điểm nghiên cứu: Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Bạch Mai.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

❖ Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang.

❖ Cỡ mẫu: 90 mẫu máu toàn phần trong đó 50 mẫu toàn phần bệnh nhân chẩn đoán đái đường và 40 mẫu toàn phần bệnh nhân có biến thể HbE.

❖ Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện

❖ Trang thiết bị:

Máy xét nghiệm Cobas c513, hãng Roche Diagnostics và hóa chất chính hãng.

Premier Hb9210, hãng Trinity Biotech và hóa chất chính hãng.

❖ Nội dung nghiên cứu:

Đối tượng nghiên cứu: Bệnh nhân đái đường và biến thể hemoglobin E.

Tiêu chuẩn được chấp nhận là khi độ chênh lệch của hai phương pháp nhỏ hơn TEa là 6% được quy định bởi NGSP.

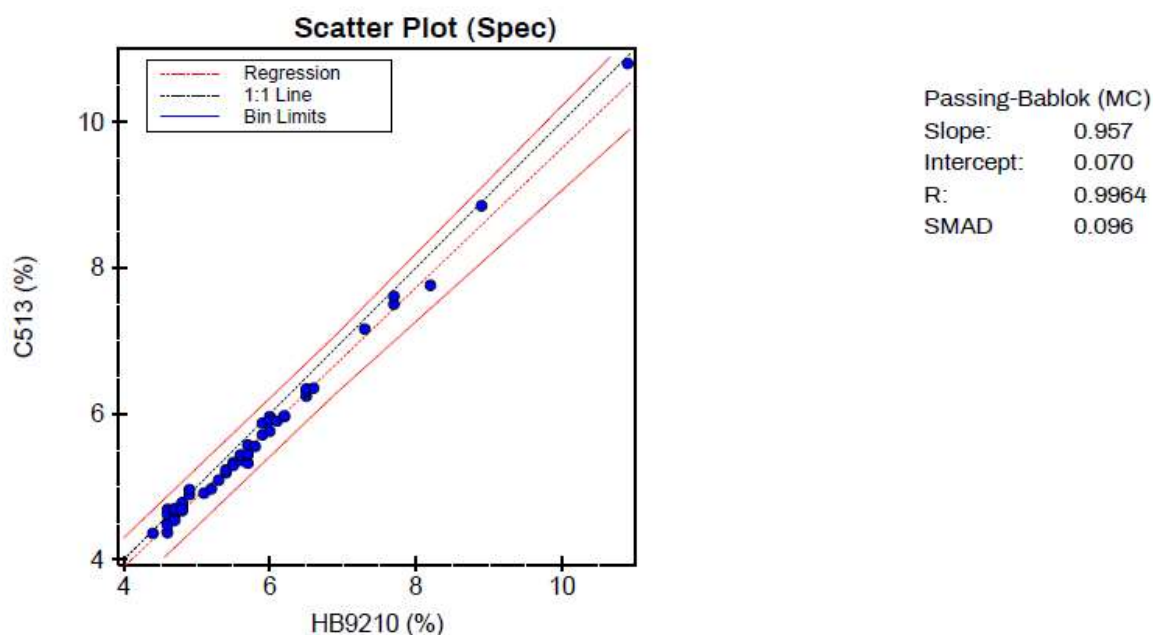
Hệ số tương quan Pearson Correlation đánh giá mức độ tương quan.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Độ lệch kết quả HbA1c giữa hai phương pháp HPLC và TINIA của bệnh nhân đái tháo đường

Method/ Differences	N	Min	Max	Mean
Hb9210	50	4,40	10,90	5,78
Cobas c513	50	4,36	10,80	5,63
Bias	50			0.15
Bias (%)	50			2.60

Nhận xét: Trong 50 mẫu ngẫu nhiên, độ chênh lệch HbA1c giữa hai phương pháp HPLC và TINIA là 2.60% < 6% tiêu chuẩn cho phép của NGSP.



Biểu đồ 1. Biểu đồ Passing Pablok Regression so sánh độ tương quan của phương pháp HPLC và TINIA của bệnh nhân đái tháo đường

Nhận xét: Trong nhóm 1, kết quả HbA1c giữa phương pháp HPLC và TINIA tương đồng với Pearson Correlation: 0,9964 với 100% mẫu đạt tiêu chí về lệch bias.

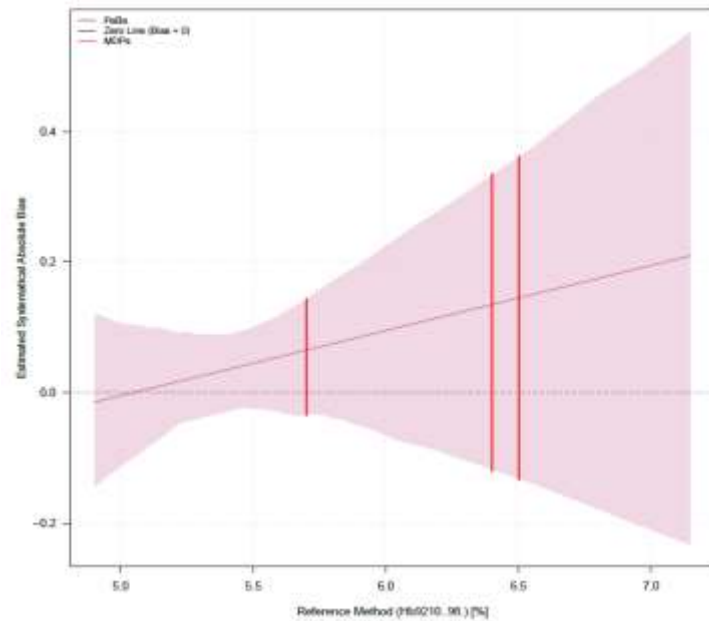
Bảng 2. Độ chênh lệch kết quả giữa hai phương pháp HPLC và TINIA trên mẫu có điện di bất thường với đỉnh hemoglobin E

Method/ Differences	N	Min	Max	Mean	Median
Hb9210	40	4,90	5,90	5,40	5,35
Cobas c513	40	4,59	5,98	5,42	5,40
Bias	40	-0,31	0,34	0,02	0,03
Bias (%)	40	-6,33	6,42	0,41	0,556

Nhận xét: Trong 40 mẫu nhóm 2, độ chênh lệch HbA1c giữa hai phương pháp HPLC và TINIA là 0,556 % < 6% tiêu chuẩn cho phép của NGSP.

Bảng 3. Độ chênh lệch kết quả giữa hai phương pháp HPLC và TINIA tại ngưỡng HbA1c 6,5%

Regr. Method	Level (%)	Bias	95% LCL	95% UCL	Bias (%)
Passing Pablok Regression	6,5	0,145	-0,13	0,36	2,23

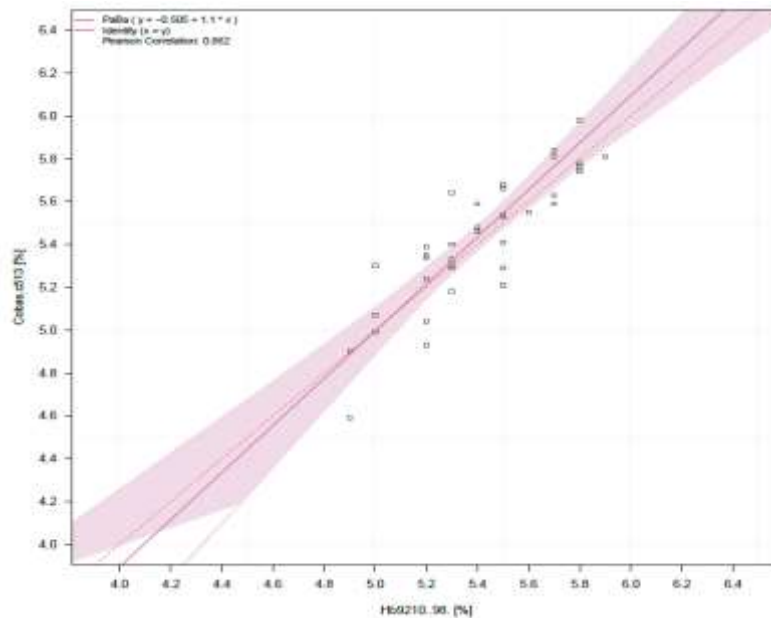


Biểu đồ 2. Biểu đồ Passing Pablok Regression so sánh độ chênh lệch của phương pháp HPLC và TINIA tại mức HbA1c 6,5%

Nhận xét: Độ chênh lệch HbA1c giữa hai phương pháp HPLC và TINIA là 2,23% nhỏ hơn độ chênh lệch tối đa cho phép tại nồng độ này là 3% (50% TEa_CAP).

Bảng 4. Độ tương quan HbA1c giữa phương pháp HPLC và TINIA

Method	Correlation Method	Estimate	p-Value
HPLC vs TINIA	Pearson	0,862	< 0,001



Biểu đồ 3. Biểu đồ Passing Pablok Regression so sánh độ tương quan của phương pháp HPLC và TINIA trong mẫu có điện di bất thường với đỉnh hemoglobin E

Nhận xét: Trong nhóm 2, kết quả HbA1c giữa phương pháp HPLC và TINIA có độ tương quan cao với phương trình tương quan kết quả xét nghiệm là $y = -0,505 + 1,1 * x$ với Pearson Correlation: 0,86

IV. BÀN LUẬN

Qua nghiên cứu này, chúng tôi đã ghi nhận độ chênh lệch về kết quả HbA1c giữa Hb9210 (HPLC) và c513 (TINIA) trong 2 nhóm lần lượt là 2,60%, 0,556% đều nhỏ tiêu chuẩn độ chênh lệch cho phép là 6% (NGSP) (bảng 1-2). Tại mức HbA1c 6,5% (ngưỡng chẩn đoán đái tháo đường), độ chênh lệch kết quả HbA1c giữa hai phương pháp là 2,23% < tiêu chuẩn độ chênh lệch cho phép tại nồng độ này là 3% (50% TEa_CAP) (bảng 3). Kết quả chúng tương tự nghiên cứu tác giả Xiaobin Wu (2016) cho thấy hai phương pháp đo trên hệ máy Premier Hb9210 và Roche c501 cho hiệu suất tốt với CV% nhỏ hơn tiêu chuẩn cho phép. Hiệu suất cao về độ chính xác, độ tuyến tính, của 2 phương pháp này phù hợp với các nghiên cứu trước đây và tiêu chuẩn của nhà sản xuất đưa ra [3].

Nghiên cứu so sánh phân tích hồi quy Passing-Bablok, ở nhóm dữ liệu ngoại kiểm CAP và nhóm mẫu ngẫu nhiên, ghi nhận kết quả HbA1c giữa phương pháp HPLC và TINIA tương đồng với Pearson Correlation lần lượt là 0,999 và 0,957. Với nhóm mẫu mang biến thể HbE, kết quả HbA1c giữa phương pháp HPLC và TINIA có độ tương quan rất chặt chẽ với phương trình tương quan kết quả xét nghiệm là $y = -0,505 + 1,1 * x$ với Pearson Correlation: 0,86. Nghiên cứu Xiaobin cũng cho kết quả có mối tương

quan rất chặt giữa 2 phương pháp này Passing-Bablok: $Y = 0,96$ (CI 95%: 0,93 đến 1,00) [3]. Hệ số tương quan của nghiên cứu này cao hơn của nghiên cứu của chúng tôi do chọn mẫu của chúng tôi toàn bộ mẫu bệnh nhân có biến thể HbE, còn của tác giả bao gồm cả mẫu bệnh nhân bình thường và bệnh lý về Hemoglobin.

Một nghiên cứu của tác giả Manthana Mitchai (2021) đã cho kết quả HbA1c trong 16 trường hợp HbE đồng hợp tử và 2 trường hợp CSEA Bart's không thể phát hiện được bằng phương pháp điện di mao quản mặc dù vẫn có thể đo được bằng phương pháp TINIA [2]. Nghiên cứu chúng tôi lựa chọn mẫu bệnh nhân có mang biến thể HbE, kết quả HbA1c giữa 2 phương pháp HPLC và TINIA có tương quan rất chặt. Kết quả này tương tự một số nghiên cứu trước đây cũng đưa ra kết luận kết quả phép đo HbA1c phân tích bằng máy mao quản 2FP, Roche c501 và Premier Hb9210 không bị ảnh hưởng bởi sự hiện diện của biến thể HbE [3], [5].

V. KẾT LUẬN

Phương pháp sắc ký ái lực Boronate (HPLC) và miễn dịch ức chế đo độ đục (TINIA) có độ chênh lệch kết quả nằm trong tiêu chuẩn độ chênh lệch cho phép của NGSP và tương quan rất chặt trong xét nghiệm HbA1c trên mẫu máu của bệnh nhân đái đường và bệnh nhân mang biến thể HbE.

VI. LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu cảm ơn Công ty Roche Diagnostic Việt Nam đã hỗ trợ thực hiện đề tài nghiên cứu này. Việc công bố kết quả nghiên cứu này không có xung đột lợi ích.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Nguyen CT, Pham NM, Lee AH, et al (2015).** Prevalence of and risk factors for type 2 diabetes mellitus in Vietnam: a systematic review. *Asia Pac J Public Health*, 27: 588-600.
2. **Manthana Mitchai, et al (2021).** Misleading HbA1c Measurement in Diabetic Patients with Hemoglobin Variants. *Med Sci.* 7; 9 (2): 43.
3. **Xiaobin Wu, et al (2016).** A comparative evaluation of the analytical performances of Capillars 2 Flex Piercing, Tosoh HLC-723 G8, Premier Hb9210, and Roche Cobas c501 Tina-quant Gen 2 analyzers for HbA_{1c} determination. *Biochem Med.* 26 (3): 353–364.
4. **C. Rohlfing, S. Hanson, C. Weykamp, C. Siebelder, T. Higgins, R. Molinaro, P. M. Yip, R.R (2016).** Little, Effects of hemoglobin C, D, E and S traits on measurements of hemoglobin A1c by twelve methods. *Clin. Chim. Acta* 455: 80-832.
5. **Gilani, M., Aamir, M., Akram, A., Haroon, Z. H., Ijaz, A., & Khadim, M. T. (2020).** Comparison of Turbidimetric Inhibition Immunoassay, High-Performance Liquid Chromatography, and Capillary Electrophoresis Methods for Glycated Hemoglobin Determination. *Laboratory medicine*, 51 (6): 579–584.
6. **International Diabetes Federation (2019).** *IDF Diabetes Atlas. 9th ed.* International Diabetes Federation.
7. **Lenters-Westra E, English E (2017).** **Evaluating** new HbA1c methods for adoption by the IFCC and NGSP reference networks using international quality targets. *Clin Chem Lab Med*; 55:1426-34.
8. **Little, R. R., & Rohlfing, C. L. (2016).** Assessing quality from an accuracy-based HbA1c proficiency survey. *Clinical chemistry and laboratory medicine*, 54 (3), e75–e76.
9. **Yang, X., Zeng, X., Zhang, Y., Kuang, W., & He, D. (2023).** Evaluation of interference from 16 hemoglobin variants on hemoglobin A_{1c} measurement by five methods. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*, 83 (1): 18–22.

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT SẮC KÝ LỎNG GHEP KHỐI PHỔ (LC-MS/MS) ĐÁNH GIÁ PHƠI NHIỄM THUỐC TRỪ SÂU PHOSPHO HỮU CƠ NGƯỜI DÂN PHUN THUỐC TẠI TỈNH AN GIANG

Nguyễn Hồng Lập¹, Ngô Quốc Đạt², Nguyễn Văn Chinh¹,
Nguyễn Kim Trung¹, Ngô Kiến Đức³, Lâm Vĩnh Niên²,
Trần Thiện Thuận⁴, Trần Quang Hiền⁵

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Phơi nhiễm thuốc trừ sâu tại ĐBSCL lần đầu tiên được ứng dụng kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS) định lượng chất chuyển hoá Dialkyl phosphate (DAPs) trong nước tiểu của người nông dân phun thuốc trừ sâu, **mục tiêu** xác định tình trạng phơi nhiễm thuốc trừ sâu gốc phospho hữu cơ (OP) của người dân phun thuốc tại tỉnh An Giang, Đồng bằng Sông Cửu Long. **Phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang mô tả trên 748 đối tượng. **Kết quả:** Tổng DAPs nhóm phun thuốc so với nhóm chứng là 1672,2 ng/ml so với 623,8 ng/ml, trong 6 chất chuyển hoá tìm thấy DMTP có nồng độ cao nhất ở hai nhóm lần lượt là 1003,8 ng/ml so với 302,4 ng/ml. Nồng độ trung bình PChE hai nhóm lần lượt là 6023 ± 1399 so với 7362 ± 1318 (UI/L), phân tích Pearson có quan nghịch giữa nồng độ

DAP so với PChE với R là -0,129 và $P < 0,001$. **Kết luận:** Việc ứng dụng kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS) giám sát tình trạng phơi nhiễm thuốc trừ sâu OP là cần thiết. Cụ thể những người phơi nhiễm thuốc trừ sâu có nồng độ DAP cao hơn nhóm không phơi nhiễm, kết quả là bằng chứng về những rủi ro khi tiếp xúc với hóa chất bảo vệ thực vật.

Từ khóa: Phơi nhiễm thuốc trừ sâu, sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-MS/MS), phospho hữu cơ.

SUMMARY

APPLICATION OF LIQUID CHROMATOGRAPHY- MASS SPECTROMETRY (LC-/MS/MS) IN THE ASSESSMENT OF ORGANOPHOSPHATE PESTICIDE EXPOSURE IN AN GIANG PROVINCE

Introduction: The first application of liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) in the exposure to pesticides in the Mekong Delta. **Objective:** to determine the exposure status of OPs-based pesticides of spraying people in An Giang province, the Mekong Delta. **Methods:** A cross-sectional descriptive study on 748 subjects. **Results:** Total DAPs in the spray group compared with the control group was 1672,2 ng/ml and 623,8 ng/ml. Among the 6 metabolites, DMTP was found to have the highest concentration of both groups at 1003,8 ng/ml and 302,4 ng/ml. The mean PChE

¹Khoa Điều Dưỡng – Kỹ thuật Y học, Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh

²Khoa Y, Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh

³Khoa Dược, Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh

⁴Khoa Y tế Công cộng, Đại học Y dược TP. Hồ Chí Minh

⁵Sở Y tế Tỉnh An Giang

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hồng Lập
SĐT: 0918172961

Email: nguyenhonglap@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 4.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS. Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 6.7.2023

concentrations of the two groups were 6023 ± 1399 UI/L vs 7362 ± 1318 (UI/L). Pearson's test analysis had an inverse relationship between DAPs and PChE concentrations with $R = -0.129$ and $P < 0.001$. **Conclusion:** The application of liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS) technique to monitor OP pesticide exposure is practical. Specifically, those exposed to pesticides had higher levels of DAP than the non-exposed group, a result that is evidence of the risks associated with pesticide exposure.

Keywords: Pesticide exposure, Liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS/MS), Organophosphate

I. GIỚI THIỆU

Đồng bằng sông Cửu Long, người dân nơi đây sử dụng thuốc trừ sâu bình quân 0,27 kg/loại và mỗi mùa vụ sử dụng trung bình 7 loại thuốc khác nhau, nghiên cứu cho thấy 64 loại thuốc khác nhau đã được sử dụng trong canh tác lúa ở các tỉnh Cần Thơ và Tiền Giang, bao gồm cả loại thuốc trừ sâu bị cấm, như methyl parathion và methamidophos (các hợp chất phosphor hữu cơ),^{(3),(7)}. Người dân sử dụng ngày càng nhiều chất độc hại, không được kiểm soát, không theo hướng dẫn nhà sản xuất, kèm theo sự hiểu biết còn hạn chế, không sử dụng và sử dụng bảo hộ lao động không đúng cách, điều này ảnh hưởng đến sức khỏe và tác động lên môi trường là điều khó tránh. Việc đánh giá phơi nhiễm thuốc trừ sâu phosphor hữu cơ rất phức tạp phụ thuộc nhiều yếu tố thời gian, mức độ, liều lượng tiếp xúc, phương pháp phát hiện cần có độ nhạy và độ đặc hiệu cao, giới hạn phát hiện dưới là thấp nhất nên chọn kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ là lựa chọn tối ưu trong điều kiện hiện nay. Tại ĐBSCL lần đầu tiên chúng tôi ứng dụng kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC-

MS/MS) để định lượng chất chuyển hoá Dialkyl phosphate trong nước tiểu với mục tiêu xác định tình trạng phơi nhiễm thuốc trừ sâu gốc phosphor hữu cơ của người dân phun thuốc tại tỉnh An Giang.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu

Nông dân làm nông nghiệp có tham gia phun thuốc trừ sâu như pha, trộn, xịt thuốc

Tiêu chí chọn vào: nhóm phun thuốc có độ tuổi từ 18 - 60, sinh sống địa bàn nghiên cứu, làm nông nghiệp trên 2 năm, có tham gia phun thuốc trừ sâu như pha, trộn, xịt thuốc tại thời điểm khảo sát tối thiểu 1 lần trong tuần. Nhóm chứng bao gồm những người dân sinh sống cùng địa bàn, không có tham gia bất kỳ vào công việc phun thuốc, làm công việc khác nhau. Tất cả nhóm phun thuốc và nhóm chứng không có bất kỳ bệnh lý nào hay bị nhiễm Covid-19 vào thời điểm lấy mẫu.

Tiêu chí loại ra: Đối tượng làm nông nghiệp không tham gia phun thuốc, hoặc không đồng ý tham gia.

2.2 Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang

Cỡ mẫu: 748 đối tượng, trong đó nhóm phun thuốc 611 và nhóm chứng 137

Thời gian và địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện vào vụ Đông – Xuân (bắt đầu tháng 12 năm 2021 đến tháng 2 năm 2022), tại trạm y tế 7 xã của hai huyện Phú Tân và An Phú tỉnh An Giang

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu ngẫu nhiên, thuận tiện, đối tượng đáp ứng đúng tiêu chí chọn vào

Cách thu thập dữ liệu: Phỏng vấn trực tiếp bao gồm các biến số như tuổi, học vấn, sử dụng rượu bia, thuốc lá, thu nhập, công

việc phun thuốc, số lần phun trong tuần, số giờ phun trong lần, số năm làm nông nghiệp, hành vi sử dụng thuốc, sử dụng bảo hộ lao động. Lấy máu tĩnh mạch 2 ml không có chất chống đông và lấy 2 lọ nước tiểu trong buổi sáng. Mẫu máu phân tích Pseudocholinesterase (PChE) và lọ nước tiểu thứ nhất phân tích Creatinine trên thiết bị AU480 tại Trung Tâm Kiểm chuẩn Xét Nghiệm Y học ĐHYD TPHCM. Lọ nước tiểu thứ hai phân tích 6 chất chuyển hoá Dialkylphosphate (DAPs) gồm Dimethylphosphate (DMP), Dimethylthiophosphate (DMTP), Dimethyldithiophosphate (DMDTP), Diethylphosphate (DEP), Diethylthiophosphate (DETP), Diethyldithiophosphate (DEDTP) tại Viện kiểm nghiệm thuốc Thành phố Hồ Chí Minh

trên hệ thống máy UPLC-MS/MS hãng Waters.

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu:

Dữ liệu, kết quả thu nhận từ phân tích mẫu máu, nước tiểu, được nhập ở bảng Excel. Thống kê mô tả thể hiện phần trăm, tần số, trung bình và độ lệch chuẩn, trung vị và khoảng tứ phân vị. Thống kê phân tích sử dụng phép kiểm ANOVA, Mann-Whitney test, tương quan Pearson, biến số phụ thuộc là DAPs và biến số độc lập như đặc điểm dịch tễ học, tính chất phun thuốc, nồng độ PChE trong huyết thanh.

Đạo đức nghiên cứu: Được chấp thuận từ hội đồng đạo đức nghiên cứu Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh IRB-VN01003/IRB00010293/FWA00023448. Số 296/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 16 tháng 4 năm 2021

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm dịch tễ học của đối tượng nghiên cứu ở An Giang (n= 748)

Đặc điểm	Nhóm phun thuốc (n=611)	Nhóm chứng (n=137)	Đặc điểm	Nhóm phun thuốc (n=611)	Nhóm chứng (n=137)
Tuổi , TB ± ĐLC	42,2 (8,5)	41,2 ± 10,3	Dưới 1 lần/tuần	327 (53,5)	58 (42,3)
Dưới 30 tuổi	27 (4,4)	12 (8,8)	2 đến 3 lần/tuần	153 (25,0)	53 (38,7)
Từ 30 đến 45 tuổi	372 (60,9)	79 (57,7)	Hút thuốc lá		
Từ 46 đến 60 tuổi	212 (34,7)	46 (33,6)	Không hút	298 (48,8)	82 (59,9)
Trình độ học vấn			Dưới 10 điều/ngày	112 (18,3)	28 (20,4)
Cấp 1/dưới cấp 1	248 (40,6)	27 (19,7)	Từ 10-20 điều/ngày	201 (32,9)	27 (19,7)
Cấp 2	212 (34,7)	31 (22,6)	Thu nhập		
Cấp 3 và TH	151 (24,7)	79 (57,7)	Dưới 50 triệu/năm	363 (59,4)	68 (49,6)
Sử dụng rượu bia			Từ 50-80 triệu/năm	179 (29,3)	43 (31,4)
Không uống	131 (21,4)	26 (19,0)	Trên 80 triệu/năm	69 (11,3)	26 (19,0)

Tuổi trung bình nhóm nghiên cứu là 42,2 tuổi, không có sự khác biệt về nhóm tuổi ở cả hai nhóm, trong đó độ tuổi từ 30 đến 45 chiếm tỷ lệ cao 60,3% đây có thể xem là độ tuổi lao động chính trong gia đình. Trình độ học vấn phân bố đều ở 3 mức cấp 1, cấp 2 và

cấp 3. Kết quả khảo sát tình trạng uống rượu bia đa số người dân có sử dụng chiếm 79,0%, bên cạnh hút thuốc lá chiếm 49,2%. Người dân có thu nhập thấp dưới 50 triệu/năm chiếm 57,6% (bảng 1).

Bảng 2: Tính chất công việc, và sử dụng PPE nhóm phun thuốc tại An Giang (n=611)

Đặc điểm nhóm phun thuốc	Nhóm phun thuốc Tần số (%) (n=611)	Đặc điểm nhóm phun thuốc	Nhóm phun thuốc Tần số (%) (n=611)
Công việc phun thuốc		Trên 10 năm	506 (83,2)
Phun cho gia đình	330 (54,3)	Thói quen sử dụng thuốc phun	
Phun thuê	126 (20,7)	Sử dụng một loại thuốc	4 (0,7)
Kết hợp hai loại trên	152 (25,0)	Pha hai loại thuốc	15 (2,5)
Số lần phun thuốc/tuần		Pha nhiều hơn 02 loại	590 (96,9)
Từ 1 đến 2 lần/tuần	267 (44,1)	Sử dụng PPE	
Từ 3 đến 4 lần/tuần	191 (31,5)	Có	33 (5,4)
Trên 4 lần/tuần	148 (24,4)	Không	575 (94,6)
Số giờ phun thuốc/lần		Loại trang bị bảo hộ	
Từ 1 đến 4 giờ	406 (67,0)	Khẩu trang	222 (29,7)
Từ 4 đến 6 giờ	126 (20,6)	Găng tay	20 (2,7)
Trên 6 giờ	75 (12,4)	Áo và quần bảo hộ	3 (0,4)
Số năm làm nông nghiệp		Kính bảo hộ	40 (5,4)
Từ 2 đến 5 năm	32 (5,3)	Nón bảo hộ	5 (0,7)
Từ 5 đến 10 năm	70 (11,5)	Giày bảo hộ	5 (0,7)

Kết quả cho thấy phun cho gia đình chiếm 54,3%, phun thuê chiếm 20,7%, kết hợp vừa phun thuê và phun cho gia đình chiếm 25%. Thời gian phun từ 1 đến 2 lần trong tuần chiếm 44,1%, nhưng vẫn có phun trên 4 lần trong tuần chiếm 24,4%. Mỗi lần phun đa số từ 1 – 4 giờ chiếm 67,0%, người

làm nông có thâm niên trên 10 năm chiếm 83,2%. Trong quá trình phun thuốc có thói quen phối trộn nhiều hơn 2 loại thuốc chiếm 96,9%. Không sử dụng bảo hộ lao động là 94,6%, và trong số trả lời có sử dụng bảo hộ lao động chỉ là khẩu trang loại vải chiếm 29,7%. (bảng 2).

Bảng 3: Nồng độ PChE trong huyết thanh của người dân phun thuốc tỉnh An Giang, ĐBSCL (n= 748)

Nồng độ PChE/ huyết thanh (UI/L)	Nhóm phun thuốc (n=611)	Nhóm chứng (n=137)	p
PChE, TB± ĐLC	6023 ± 1399	7362 ± 1318	<0,001
	n (%)	n (%)	
Giảm dưới < 2660 UI/L)	11 (1,8)	0 (0)	<0,001
Giảm dưới < 3990 UI/L)	38 (6,2)	0 (0)	
Giảm < 5320 UI/L)	131 (21,5)	8 (5,8)	
Bình thường (≥ 5320 UI/L)	431 (70,5)	129 (94,2)	

Kết quả cho thấy nồng độ trung bình PChE nhóm phun thuốc thấp hơn nhóm chứng 6023 ± 1399 (UI/L) so với 7362± 1318 (UI/L), trong đó nhóm giảm dưới là 2660 UI/L là 1,8%, nhóm giảm dưới 3990 UI/L là 6,2% và giảm dưới mức bình thường < 5320 UI/L là 21,5%. Có sự khác biệt PChE giữa nhóm phun thuốc và nhóm chứng (p<0,001) (bảng 3).

Bảng 4: Nồng độ DAPs (ng/ml) trong nước tiểu và nồng độ DAPs hiệu chỉnh ($\mu\text{g/gCreatinine}$) của đối tượng nghiên cứu tỉnh An Giang, ĐBSCL (n=748)

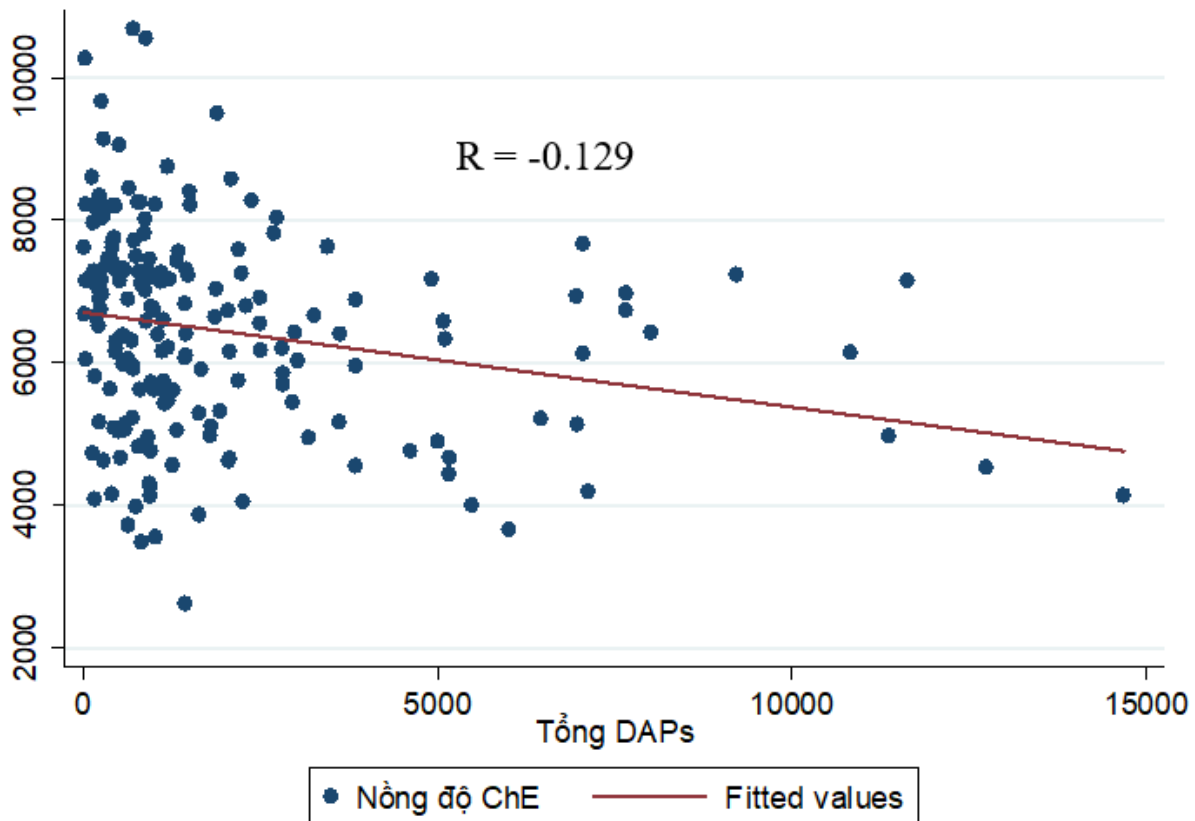
	DAPs (ng/ml)			DAPs hiệu chỉnh ($\mu\text{g/gCreatinine}$)		
	Nhóm phun thuốc (n=611) Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	Nhóm chứng (n=137) Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	p	Nhóm phun thuốc (n=611) Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	Nhóm chứng (n=134) Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	p
Log(Σ DAPs)	7,42 (6,69–8,08)	6,44 (5,77–7,05)	<0,001	7,39 (6,34–8,20)	6,56 (5,56–7,21)	<0,001
Σ DAPs	1672,2 (800,6–3243,2)	623,8 (315,6–1134,2)	<0,001	1609 (759,1–3635,3)	703,2 (253,5–311,9)	<0,001
DMP	0 (0 – 4,3)	0 (0 – 7)	0,859	0 (0 – 5,1)	0 (0 – 4,6)	0,768
DMTP	1003,8 (367–2575,2)	302,4 (90,2–662,6)	<0,001	1065 (354,4–3024,5)	323 (79–691,7)	<0,001
DMDTP	7,2 (0 – 36,8)	2,4 (0 – 17,6)	0,005	7,6 (0 – 41,1)	1,5 (0 – 17,1)	0,006
DEP	41,6 (7,2 – 84)	35,4 (2,2 – 84)	0,335	40,7 (7,5–99,5)	36,6 (2 – 92)	0,513
DETP	28,7 (11,6–55,8)	18,8 (6,4–35,6)	0,002	26,5 (11,2–61,8)	19 (6,6–48,4)	0,018
DEDTP	161,3 (22,3–414)	94,8 (9,8–292,4)	0,010	160,2 (21,6–450,7)	78,1 (8–320,7)	0,009

Kết quả cho thấy nhóm phun thuốc có tổng DAP cao hơn nhóm chứng là 1672,2 ng/ml so với 623,8 ng/ml, trong đó DMTP tìm thấy có nồng độ cao nhất là 1003,8 ng/ml so với 302,4 ng/ml. Kết quả hiệu chỉnh với Creatinine cũng cho kết quả tương tự, không có sự khác biệt đáng kể. Tuy nhiên kết quả có sự khác biệt rõ rệt giữa hai nhóm có phun thuốc và nhóm chứng về các chỉ số DMTP, DMDTP, DETP, DEDTP (bảng 4).

Bảng 5: Tương quan giữa DAP và PChE của đối tượng nghiên cứu ở An giang (n=748)

	Tương quan Pearson PChE với DAPs (ng/ml), n=748			Tương quan Pearson PChE với DAPs hiệu chỉnh ($\mu\text{g/gCreatinine}$), n=748		
	R	P	Coefficiance (95% CI)	R	P	Coefficiance (95% CI)
Σ DAPs	-0,129	<0,001	-0,078 (-0,121 – -0,035)	-0,055	0,002	-0,016 (-0,036 – 0,005)
Log(Σ DAPs)	-0,151	<0,001	-188,1 (-276,7 – -99,5)	-0,110	0,003	-121,9 (-201 – -42,8)

Chúng tôi tìm thấy có mối tương nghịch giữa tổng DAPs, log (Σ DAPs) với nồng độ PChE trong huyết thanh với R và P lần lượt là -0,129, -0,151 và P < 0,001. Tương tự hiệu chỉnh với Creatinine R và P lần lượt là -0,055, -0,110 và P là 0,002, 0,003 (bảng 5)



Hình 1: Tương quan giữa tổng DAPs và PChE trong huyết thanh của người dân phun thuốc tại An Giang

IV. BÀN LUẬN

Người nông dân tham gia nghiên cứu có tuổi trung bình cao hơn những nghiên cứu khác, độ tuổi chiếm đa số ở hai nhóm là trên 30 -45 tuổi, đây được xem là thành phần lao động chính gia đình. Nghiên cứu tại Thái Lan ghi nhận độ tuổi trung bình trên đối tượng tiếp xúc thuốc trừ sâu là 30,29⁽⁹⁾. Đi kèm là số năm làm nông nghiệp trên 10 năm được ghi nhận là 83.2% (bảng 2). Cho thấy người nông dân tiếp xúc thuốc trừ sâu từ rất sớm và trong thời gian dài. Một nghiên cứu tại Ấn Độ đối tượng phun thuốc cho thấy được số năm trung bình làm nông nghiệp của người phun thuốc là 11,9 năm⁽⁸⁾

Đối tượng nghiên cứu là nam nên thói quen hút thuốc lá và sử dụng bia rượu chiếm

tỉ lệ tương đối cao ở cả hai nhóm. Kết quả phù hợp với một nghiên cứu tại Thái Lan có hơn 80% đối tượng thừa nhận sử dụng rượu bia và gần 50% đối tượng hiện đang sử dụng thuốc lá⁽⁴⁾.

Trong nghiên cứu cho thấy phần lớn người nông dân phun thuốc tại hộ gia đình. Tỉ lệ phun thuê hoặc phun cả hai hình thức là như nhau. Ngoài ra hình thức phun và số lần phun trong tuần có mối liên quan đáng kể, tần suất phun từ 2 – 4 lần trong tuần và trên 4 lần chiếm tỉ lệ cao hơn ở những người phun thuê hoặc cả hai hình thức. Một nghiên cứu tại Thái Lan cho thấy phần lớn đối tượng tiếp xúc, phun từ 1 hoặc 2 lần một tuần lần lượt là 46,5% và 41,3%, người phun trên 3 lần chỉ chiếm dưới 10%⁽⁴⁾, phản ánh được các đối

tượng trong nghiên cứu chúng tôi tần suất tiếp xúc nhiều hơn so với nghiên cứu đã công bố.

Trong nghiên cứu ghi nhận trung bình PChE của nhóm phun thuốc thấp hơn so với nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Theo nghiên cứu tại Ý trung bình ở đối tượng tiếp xúc và không tiếp xúc lần lượt là 4406 UI/L và 5862 UI/L⁽⁵⁾, kết quả nghiên cứu thấp hơn so với nghiên cứu của chúng tôi. Một nghiên cứu tại Ấn Độ kết quả phù hợp khi nhận định rằng hoạt tính PChE giảm đáng kể giữa nhóm phun thuốc và nhóm chứng⁽¹⁾.

Kết quả DAP của chúng tôi tương tự như các nghiên cứu về nghề nghiệp và môi trường, trong 6 chất chuyển hóa DAP thì DMTP là chất thường được phát hiện nhất và có nồng độ cao nhất. Tương tự một nghiên cứu tại Latino cho thấy rằng DMTP là chất thường gặp nhất trong mẫu khảo sát với người làm nông nghiệp là 75%, và người không làm nông nghiệp chiếm và 67,4% ở năm 2012⁽²⁾, tác giả khảo sát trong năm 2013 thì tỉ lệ giữa hai nhóm này đã tăng lên gần 90%, kết quả gần tương đồng so với nghiên cứu của chúng tôi.

Phân tích số liệu cho thấy trung bình nồng độ của các chất chuyển hóa trong nhóm phun thuốc cao hơn so với nhóm còn lại, cụ thể ở đây trung bình Σ DAP trên đối tượng phun thuốc là 1672,2 ng/ml so với đối tượng không phun thuốc là 623,8 ng/ml, sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê. Kết quả tương đồng với một nghiên cứu tại Latino đã đưa ra kết luận rằng trung bình Σ DAP của những người làm nông nghiệp cao hơn với những người không làm nông nghiệp⁽²⁾.

Mặc dù có rất ít tài liệu đánh giá mối liên quan giữa DAP và dấu ấn sinh học như PChE ở người tiếp xúc thuốc trừ sâu. Kết quả

trong nghiên cứu cho thấy có tương quan nghịch giữa nồng độ các chất chuyển hóa DAP với nồng độ PChE, tuy nhiên ước tính chỉ thể hiện tương quan yếu giữa hai yếu tố. Một nghiên cứu tại Mexico mức tương quan giữa các chất DMTP, DMDTP, DEP, DETP, tổng DAP so với dấu ấn sinh học PChE lần lượt là -0,12; -0,02; -0,36; -0,40; -0,29. Tác giả cũng kết luận được rằng có mối tương quan nghịch có ý nghĩa giữa các chất chuyển hóa DAP và nồng độ cholinesterase⁽⁶⁾.

V. KẾT LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên chúng tôi ứng dụng kỹ thuật sắc ký lỏng ghép khối phổ (LC/MS/MS) cùng với việc xét nghiệm máu PChE trong huyết thanh nhằm đánh giá mức độ phơi nhiễm thuốc trừ sâu phospho hữu cơ của những người phun thuốc ở tỉnh An Giang, ĐBSCL, có sự tương quan nghịch giữa nồng độ PChE và tổng DAP cả trường hợp hiệu chỉnh với Creatinine. Mặc dù hạn chế nghiên cứu là thành phần thuốc trừ sâu chưa đặc hiệu, nhưng kết quả cho thấy những rủi ro khi tiếp xúc, đồng thời cần các chương trình can thiệp nhằm mục đích giảm thiểu những tác hại gây ra từ việc tiếp xúc với thuốc trừ sâu trong thời gian dài.

VI. TUYÊN BỐ CHUNG

Nghiên cứu này được sự tài trợ kinh phí từ Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh An Giang. Kết quả nghiên cứu là một phần trong đề tài “Nghiên cứu tác động thuốc trừ sâu phospho hữu cơ ảnh hưởng đến sức khỏe sinh sản của người phun thuốc tại tỉnh An Giang và hiệu quả của một số biện pháp can thiệp”

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Aprea C, Sciarra G, Sartorelli P, Desideri E, Amati R, Sartorelli E.** Biological monitoring of exposure to organophosphorus insecticides by assay of urinary alkylphosphates: influence of protective measures during manual operations with treated plants. *International archives of occupational and environmental health.* 1994;66(5):333-8.
2. **Arcury T A, Laurienti P J, Chen H, Howard T D, et al,** (2016), "Organophosphate Pesticide Urinary Metabolites Among Latino Immigrants: North Carolina Farmworkers and Non-farmworkers Compared", *J Occup Environ Med*, 58 (11), pp. 1079-1086..
3. **Dasgupta, S., C. Meisner, D. Wheeler, L. Th. Nhan, and X. Khuc.** 2007. "Pesticide Poisoning of Farm Worker: Implication of Blood Test Results from Viet Nam." *World Bank Policy Research Working Paper* 3624.
4. **Forté CA, Colacino J, Polemi K, Guytingco A, Peraino NJ, Jindaphong S, et al.** Pesticide exposure and adverse health effects associated with farmwork in Northern Thailand. *Journal of occupational health.* 2021;63(1):e12222.
5. **Ghafouri-Khosrowshahi A, Ranjbar A, Mousavi L, Nili-Ahmadabadi H, Ghaffari F, Zeinvand-Lorestani H, et al.** Chronic exposure to organophosphate pesticides as an important challenge in promoting reproductive health: A comparative study. *Journal of education and health promotion.* 2019;8:149.
6. **Herrera-Moreno JF, Medina-Díaz IM, Bernal-Hernández YY, Barrón-Vivanco BS, González-Arias CA, Moreno-Godínez ME, et al.** Organophosphorus pesticide exposure biomarkers in a Mexican population. *Environmental science and pollution research international.* 2021;28(36):50825-34.
7. **Nguyen, D. H., and D. T. T. Tran.** 1999. *Economic and Health Consequences of Pesticide Use in Paddy Production in The Mekong Delta, Vietnam.* EEPSEA Research Report 1999– 2002. Available at <https://idl-bnc.idrc.ca/dspace/bitstream/10625/25143/10/113557.pdf>. Accessed April 17, 2017.
8. **Rastogi SK, Singh VK, Kesavachandran C, Jyoti, Siddiqui MK, Mathur N, et al.** Monitoring of plasma butyrylcholinesterase activity and hematological parameters in pesticide sprayers. *Indian journal of occupational and environmental medicine.* 2008;12(1):29-32.
9. **Thetkathuek A, Yenjai P, Jaidee W, Jaidee P, Sriprapat P.** Pesticide Exposure and Cholinesterase Levels in Migrant Farm Workers in Thailand. *Journal of agromedicine.* 2017;22(2):118-30.

NGHIÊN CỨU PHƯƠNG PHÁP PCR-RFLP GEN 16S rRNA ĐỂ ĐÁNH GIÁ ĐA DẠNG VI KHUẨN TRONG PHÂN TRẺ TIÊU CHẢY KHÔNG RÕ NGUYÊN NHÂN

Nguyễn Hồng Dương¹, Nguyễn Thị Quý¹, Ngọc Thu Thảo²,
Nghiêm Đỗ Như Thảo³, Phùng Thị Bích Thủy⁴, Đỗ Thị Huyền^{1,5}

TÓM TẮT

Tiêu chảy là bệnh phổ biến dẫn đến tình trạng mất nước, suy dinh dưỡng ở trẻ em, nặng nhất có thể gây tử vong. Bên cạnh các trường hợp tiêu chảy xác định được nguyên nhân, một tỷ lệ đáng kể các trường hợp tiêu chảy không rõ nguyên nhân. Trong nghiên cứu này, phương pháp PCR-RFLP gen 16S rRNA được thiết lập để đánh giá tính đa dạng của vi khuẩn trong phân của trẻ tiêu chảy không rõ nguyên nhân và hỗ trợ thêm cho việc xác định nguyên nhân. Đầu tiên, trong số bảy enzyme giới hạn được nghiên cứu, MboI đã cắt metagene 16S của chín chủng chỉ thị và vi khuẩn từ phân tạo ra đa hình chiều dài đoạn giới hạn đa dạng nhất. Các đoạn DNA được tạo ra từ sự phân cắt bằng RsaI có giá trị bổ sung thông tin cho một số đoạn DNA nhất định. Chương trình tough-up PCR đã khuếch đại metagene 16S rRNA đa dạng nhất so với các

chương trình PCR thông thường và chương trình tough-down, do đó đã tạo nguồn gen tốt nhất cho phân tích RFLP. Qua quan sát điện di đồ PCR-RFLP, một số băng DNA khác biệt có nguồn gốc từ phân trẻ bị bệnh có kích thước tương ứng tại vị trí các băng chỉ thị của E. coli hoặc Salmonella. Các đoạn DNA này cần được giải trình tự để khẳng định sự có mặt của vi khuẩn này trong mẫu bệnh phẩm.

SUMMARY

ESTABLISHMENT OF PCR-RFLP OF 16S rRNA GENE FOR ANALYSIS OF BACTERIAL DIVERSITY IN STOOLS OF CHILDREN SUFFER FROM DIARRHEA WITH UNKNOWN CAUSE

Diarrhea is common disease leading to dehydration and malnutrition in children and in the most severity can cause mortality. Besides the identified-cause diarrhea, significant percent cases are unknown reason. In this study, a method PCR-RFLP of the 16S rRNA gene was established for assessment of bacterial diversity in stools of children suffer from unknown-cause diarrhea and further assists for identification of reason. Firstly, of the seven investigated restriction enzyme, MboI digested 16S metagene of nine indicator strains and bacteria from stools to generate the most diversity of restriction fragment length polymorphism. The DNA fragments created from RsaI cleavage also contributed additional information for certain DNA fragments. The tough-up PCR program amplified the most diverse 16S rRNA metagene

¹*Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

²*Đại học Y Hà Nội*

³*University of Nebraska-Lincoln*

⁴*Bệnh viện Nhi Trung Ương*

⁵*Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Thị Huyền

SĐT: 0967060875

Email: dohuyen@ibt.ac.vn

Ngày nhận bài: 7.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Nghiêm Luật

Ngày duyệt bài: 8.7.2023

than normal and tough-down PCR programs thus contributed the best materials for RFLP analysis. Some discriminated DNA bands originated from disease stool were observed at the position of *E. coli* or *Salmonella* indicator bands, that should be confirmed bysequencing.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ở Việt Nam, tiêu chảy là một trong 10 bệnh phổ biến ở trẻ và đứng thứ 4 về tỷ lệ tử vong. Tại bệnh viện, để xác định tác nhân gây bệnh, phương pháp phổ biến nhất được áp dụng là soi tươi, cấy phân và PCR để chẩn đoán các tác nhân thông thường. Tuy nhiên, trên thế giới, con số trẻ tiêu chảy không tìm được ra nguyên nhân chiếm khoảng 30-65%. Ở Việt Nam, nghiên cứu năm 2016 trên 122 trẻ tiêu chảy kéo dài cho thấy có tới 47,38% trẻ có dấu hiệu nhiễm trùng nhưng không xác định được căn nguyên [1]. Trong những năm gần đây, nhiều phương pháp sinh học phân tử được áp dụng để phân tích đa dạng hệ vi khuẩn trong phân của nhiều loại mẫu bệnh phẩm trong đó có tiêu chảy và đã phát hiện ra nhiều nguyên nhân từ mất cân bằng vi sinh đường ruột dẫn tới bệnh tật, điển hình như béo phì, tự kỷ, tiểu đường, tim mạch, ung thư đại tràng, ... Những phát hiện mới này đã thúc đẩy phát triển nhiều con đường tiếp cận khác nhau cho chẩn đoán và điều trị bệnh. Các phương pháp điển hình gồm giải trình tự đa hệ gen bằng công nghệ giải trình tự thế hệ mới, phân tích đa hình cấu trúc sợi đơn (SSCP), phân tích đa hình giới hạn DNA ribosome khuếch đại (ARDRA), phân tích đa hình đoạn giới hạn (RFLP), phân tích đa hình chiều dài đoạn giới hạn (T-RFLP), điện di trên gel gradient biến tính (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis-DGGE), ... Các phương pháp này đều có khả năng đánh giá đa dạng vi khuẩn và đồng thời tìm kiếm các gen khác biệt trùng với gen chỉ thị gây bệnh hoặc khác biệt so với đối chứng để tiến hành giải trình tự, xác định căn nguyên [4]. Trong

công trình nghiên cứu này, chúng tôi trình bày việc thiết lập phương pháp PCR-RFLP để đánh giá đa dạng phổ vi khuẩn trong mẫu phân trẻ bị tiêu chảy chưa rõ nguyên nhân và mẫu chứng từ trẻ khỏe mạnh để tiến tới định hướng hỗ trợ tìm kiếm các tác nhân vi khuẩn gây bệnh.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu, nguyên liệu nghiên cứu

Các vi khuẩn có khả năng gây bệnh gồm *E. coli* HM 3175, *E. coli* ATCC27117, *B. aureus*, *B. subtilis* 168, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium*, *S. enteritidis* ATCC 13076, *Listeria fermentum*, *Enterococcus faecium* có trong bộ sưu tập chủng của phòng Kỹ thuật di truyền, Viện Công nghệ sinh học được sử dụng làm chủng chỉ thị để khuếch đại gen 16S rRNA, đánh giá các enzyme giới hạn phù hợp cắt sản phẩm PCR của 9 loại vi khuẩn này thành các đoạn có độ đa hình cao. DNA đa hệ gen vi khuẩn từ mẫu phân của trẻ khỏe mạnh và trẻ tiêu chảy (mẫu đã được kiểm tra âm tính với các tác nhân tiêu chảy bằng QIAstat-Dx® Gastrointestinal Panel25 tác nhân) được tách chiết từ công trình nghiên cứu trước [5]. DNA đa hệ gen được sử dụng trong nghiên cứu này là được bằng phương pháp của Sambrook (ký hiệu là S) và GenJET (ký hiệu là G). DNA đa hệ gen tách từ mẫu trẻ tiêu chảy (ký hiệu là D) và mẫu từ trẻ khỏe mạnh (ký hiệu là H) được tách lặp lại hai lần gồm DS1, DS2, DG1, DG2, HS1, HS2, HG1, HG2. Các mẫu được dùng để đánh giá: (1) chương trình PCR làm tăng độ đa dạng gen 16S của mẫu; (2) phương pháp tách chiết DNA đa hệ gen làm tăng độ đa dạng gen 16S của mẫu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1 PCR khuếch đại gen 16S rRNA

DNA hệ gen của chủng vi khuẩn chỉ thị được tách chiết dựa theo phương pháp của

Sambrook và cộng sự [7]. Gen 16S rRNA được khuếch đại bằng cặp mồi 27F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') và 1527R (5'-AGAAAGGAGGTGATCCAGCC-3'). PCR được tiến hành với tổng thể tích 100 µl gồm 10 µl đệm Pfu 10x, 8 µl dNTP 2 mM, 4 µl mồi (2 µM) mỗi loại, 10 ng DNA hệ gen hoặc 50 ng DNA đa hệ gen, 1 µl Pfu DNA polymerase (Thermo Fisher Scientific, 2,5 U/µl) và nước deion vô trùng. Gen 16S của các chủng vi khuẩn chỉ thị được khuếch đại bằng chương trình chuẩn (Ký hiệu là N: normal) với chu trình gồm: (1) biến tính sợi khuôn ở 94°C, 4'; (2) khuếch đại gen với 35 chu kỳ (94°C, 30"; 55°C, 30", 72°C, 1'); (3) hoàn thiện ở 72°C, 4'; giữ sản phẩm PCR ở 4°C. Gen 16S rRNA của các vi khuẩn trong mẫu DNA đa hệ gen (DS1, DS2, DG1, DG2, HS1, HS2, HG1, HG2) được khuếch đại bằng chương trình chuẩn và chương trình tough-up (ký hiệu là U có nhiệt độ gắn mồi thay đổi tăng dần sau mỗi 5 chu kỳ từ 50°C đến 52°C, 55°C, và cuối cùng là 20 chu kỳ có nhiệt độ gắn mồi 58°C) và chương trình tough-down (ký hiệu là D, có nhiệt độ gắn mồi giảm dần sau mỗi 5 chu kỳ từ 58 xuống 52°C như phương pháp tough-up, 20 chu kỳ có nhiệt độ gắn mồi ở 50°C). Sản phẩm PCR sau khi khuếch đại được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 0,8%, được tủa lại bằng 2 lần thể tích ethanol 98° (Sigma) qua đêm ở -20°C, rửa bằng ethanol 70%, làm khô và hòa lại bằng 50 µl nước vô trùng. Hàm lượng DNA được đo bằng máy Nanodrop 2000 (Implen).

2.2.2. Nghiên cứu lựa chọn enzyme hạn chế thích hợp để cắt sản phẩm PCR gen 16S rRNA của các vi khuẩn khác nhau tạo các đoạn giới hạn đa dạng

Đầu tiên, các enzyme giới hạn nhận biết bộ 4 nucleotide bao gồm AluI (10 U/µl), DpnI (20 U/µl), HaeIII (10 U/µl), MboI (5 U/µl), MspI (20 U/µl), RsaI (10 U/µl), Sau3AI (4 U/µl) (New England Biolab) được khảo sát

cắt hỗn hợp sản phẩm PCR gen 16S từ 9 chủng chỉ thị để tìm ra các enzyme giới hạn cho phổ băng DNA sau khi cắt đa dạng nhất, có khả năng phân biệt cao giữa 9 chủng. Tổng thể tích phản ứng cắt là 15 µl gồm 1,5 µl đệm CutSmart 10x, 900 ng metagen 16S (trộn từ 100 ng DNA hệ gen của mỗi chủng), 10 U enzyme hạn chế và nước deion vô trùng. Phản ứng cắt diễn ra ở 37°C trong 3 giờ sau đó sản phẩm sau khi cắt được điện di kiểm tra trên gel agarose 2%. Enzyme cắt tạo đoạn giới hạn tốt được dùng để cắt gene 16S của mỗi chủng giúp định vị đoạn chỉ thị đa hình. Tổng thể tích phản ứng cắt là 15 µl gồm 1,5 µl đệm CutSmart 10x, 100 ng DNA sản phẩm PCR gen 16S của mỗi chủng, 2 U enzyme hạn chế

và nước deion vô trùng và được ủ ở 37°C trong 3 giờ.

2.2.3. Nghiên cứu khảo sát chương trình PCR thích hợp thuận lợi cho đánh giá đa hệ gen vi khuẩn trong mẫu phân

Việc khảo sát để tìm ra chương trình PCR thích hợp giúp đánh giá tốt đa dạng vi khuẩn trong mẫu phân, chúng tôi sử dụng phương pháp PCR-RFLP với sự hỗ trợ phân tích bằng sơ đồ heatmap. Đầu tiên, sản phẩm PCR gen 16S được khuếch đại bằng 3 chương trình PCR từ DNA đa hệ gen vi khuẩn trong mẫu phân của bệnh nhi tiêu chảy và trẻ khỏe mạnh và được cắt bằng enzyme MboI, RsaI. Ảnh điện di sản phẩm cắt được chuyển vào phần mềm ImageLab để phân mềm quét và đưa ra chỉ số cường độ đậm nhạt của các băng ở mỗi vị trí tương ứng với hàm lượng DNA của các băng ở mỗi vị trí. Dựa vào chỉ số cường độ băng, đồ thị Heatmap sẽ được xây dựng dựa trên ngôn ngữ R [3] để đánh giá mức độ phân biệt phổ băng DNA sau cắt bằng các enzyme khác nhau.

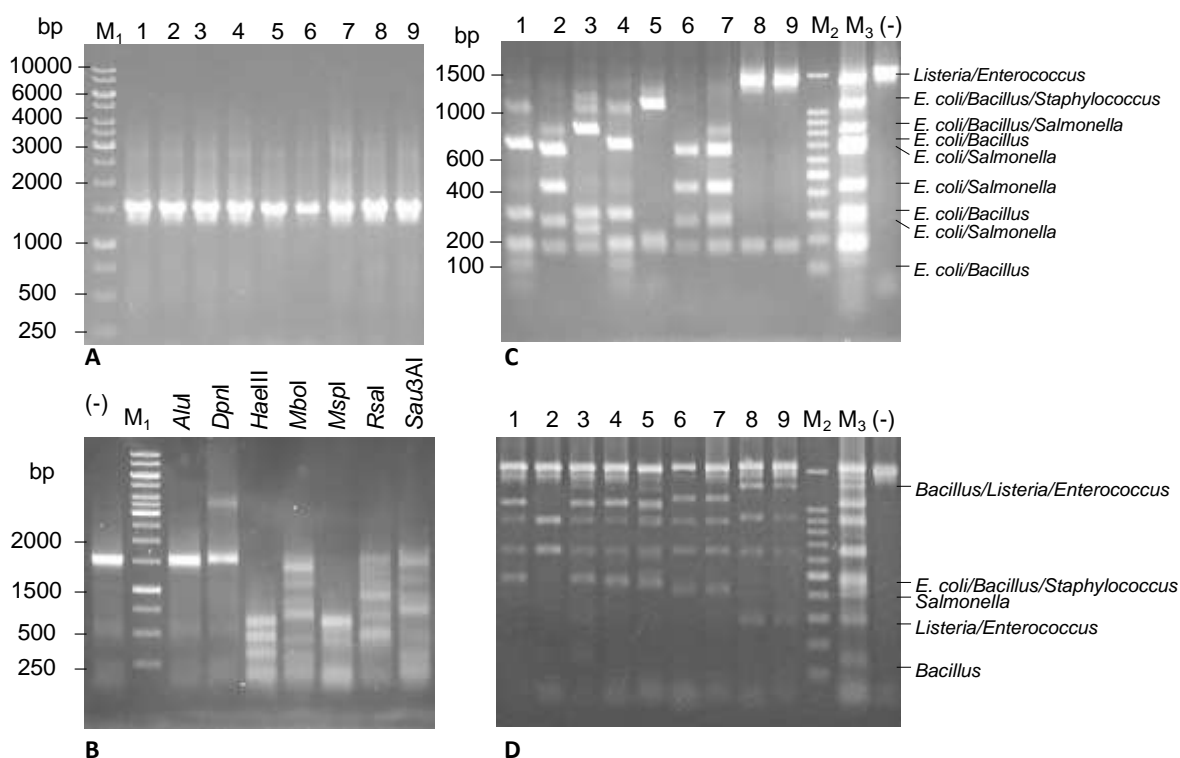
III. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Nghiên cứu khảo sát enzyme giới hạn tạo đa hình đoạn gen 16S rRNA cao

Để khảo sát được enzyme hạn chế thích hợp cho cắt gen 16S rRNA của vi khuẩn tạo đoạn đa hình cao, đầu tiên, gen 16S từ 9 chủng chỉ thị đã được khuếch đại đặc hiệu, hàm lượng lớn với kích thước khoảng 1,5 kb như tính toán lý thuyết (Hình 1A). Sau khi trộn chung sản phẩm PCR và cắt bằng các enzyme hạn chế, hầu như gen của 9 chủng không bị cắt bởi AluI, một phần nhỏ bị cắt bởi DpnI nhưng tạo các đoạn không rõ ràng. Các enzyme HaeIII, MboI, MspI, RsaI và Sau3AI đều cắt hỗn hợp gen thành các đoạn khác nhau. Enzyme EcoRI và HindIII cũng được thử nghiệm, tuy nhiên hầu như gen 16S từ các chủng vi khuẩn không bị cắt bởi hai

enzyme hạn chế này. Sau khi cắt kiểm tra lại, hai enzyme MboI, RsaI cắt hỗn hợp thành nhiều đoạn có độ đa dạng chiều dài cao nhất.

Để tạo marker phân tử có thể nhận biết đoạn gen của vi khuẩn gây bệnh có trong mẫu phân, sản phẩm PCR gen 16S của từng chủng chỉ thị đã được cắt lại bằng MboI, RsaI. Kết quả (Hình 1C, D) cho thấy MboI cắt gen của 9 chủng chỉ thị thành các đa hình đoạn giới hạn có độ đa dạng cao, có khả năng phân biệt lớn hơn RsaI. Tuy nhiên, việc cắt bằng RsaI cũng cho kết quả bổ sung cho việc cắt bằng MboI tốt. Do vậy, chúng tôi chọn hai enzyme hạn chế này để thiết lập phương pháp PCR-RFLP cho đánh giá đa dạng vi khuẩn trong mẫu phân và hỗ trợ giúp tìm nhanh vi khuẩn gây bệnh có thể có trong mẫu.



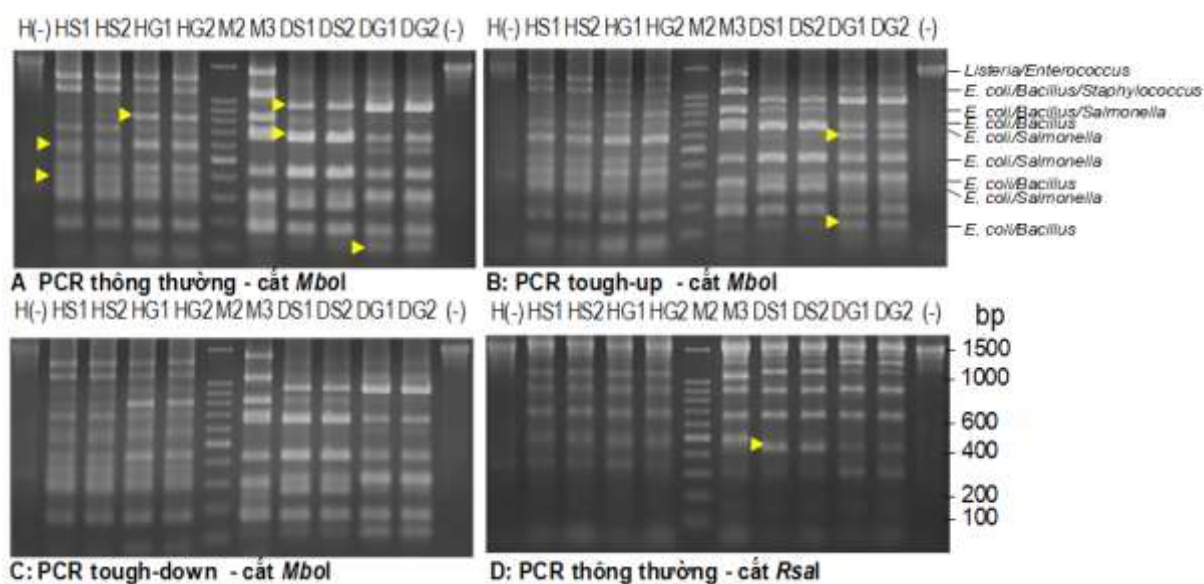
Hình 1. Điện di đồ phân tích sản phẩm PCR và sản phẩm cắt sản phẩm PCR bằng các enzyme khác nhau

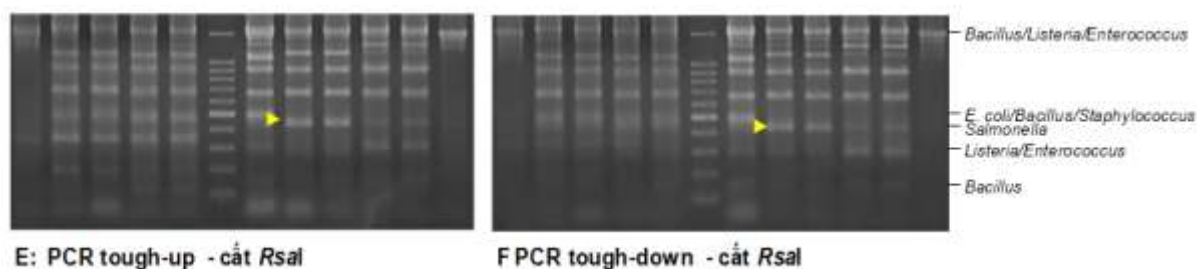
A. Sản phẩm PCR gen 16S rRNA; B: Sản phẩm cắt hỗn hợp gen 16S rRNA của 9 chủng chỉ thị; C, D: Tương ứng là sản phẩm cắt gen 16S rRNA của từng chủng và hỗn hợp 9 chủng chỉ thị bằng enzyme MboI, RsaI. 1: *E. coli* HM 3175; 2: *E. coli* ATCC 27117; 3: *B. aureus*; 4: *B. subtilis* 168; 5: *Staphylococcus aureus*; 6: *Salmonella typhimurium*; 7: *S. enteritidis* ATCC 13076; 8: *Listeria fermentum*; 9: *Enterococcus faecium*; M1: DNA chuẩn 1 kb (Fermentas); M2: DNA chuẩn 100 bp (Fermentas); M3: Hỗn hợp của 9 chủng chỉ thị.

3.2. Nghiên cứu thiết lập phương pháp PCR-RFLP cho đánh giá đa dạng vi khuẩn và hỗ trợ phát hiện tác nhân vi khuẩn gây bệnh

Trước hết, gen 16S rRNA được khuếch đại từ khuôn DNA đa hệ gen DS1, DS2, DG1, DG2, HS1, HS2, HG1, HG2 bằng chương trình chuẩn, tough-up và tough-down. Kết quả, gen 16S được khuếch đại là đặc hiệu, có kích thước 1,5 kb như tính toán lý thuyết (Kết quả không được trình bày trong bài) với hàm lượng gần tương đương

nhau. Sau khi rửa cặn và loại bỏ muối, DNA có chất lượng tốt với A260/280 đạt từ 1,96 đến 2,07; A260/230 đạt trên 2,2. MboI cắt metagene 16S thành 14 đoạn đa hình, RsaI cắt metagen 16S thành 13 đoạn đa hình. Nhìn tổng quát trong cả 6 ảnh phân tích (Hình 2), metagen 16S khuếch đại từ DNA đa hệ gen vi khuẩn mẫu phân được tách chiết bằng kit GenJET có độ đa dạng cao hơn, được thể hiện ở cả mẫu bệnh và mẫu chứng (Hình 2A, B, C). Trong khi đó, gen khuếch đại từ đa hệ gen vi khuẩn tách bằng Sambrook cũng thể hiện một số băng khác biệt so với kit GeJET. Nguyên nhân có thể có là do bản chất các hóa chất được sử dụng trong ly trích thu hồi DNA đa hệ gen ở hai phương pháp tách chiết là khác nhau nên hiệu quả thu hồi DNA từ vi khuẩn thuộc các chi, ngành khác nhau có sự khác nhau. Các mẫu được tách lặp lại hai lần cho các kết quả tương tự nhau. Như vậy có thể nói để có thể thu được đa hệ gen vi khuẩn phong phú nhất cho đánh giá đa dạng, việc tách chiết DNA đa hệ gen từ mẫu phân bằng cả hai phương pháp là cần thiết.





Hình 2. Điện di đồ sản phẩm cắt metagen 16S rRNA được khuếch đại bằng các chương trình PCR từ khuôn DNA đa hệ gen vi khuẩn từ phân trẻ bị tiêu chảy (DS1, DS2, DG1, DG2) và trẻ khỏe mạnh HS1, HS2, HG1, HG2) trên gel agarose

(-): Sản phẩm PCR gen 16S không cắt; M2: DNA chuẩn 100 bp (Fermentas); M3: Sản phẩm cắt gen 16S rRNA của 9 chủng chỉ thị. Mũi tên chỉ các băng DNA khác biệt điển hình giữa mẫu bệnh so với mẫu khỏe.

Như được quan sát thấy trong mẫu chủng chỉ thị, gen 16S khuếch đại từ đa hệ gen được cắt bằng MboI cho phổ băng rõ ràng, tách biệt hơn và có sự phân biệt giữa mẫu bệnh và mẫu chứng khá rõ. Đối với mẫu cắt bằng MboI, đoạn DNA kích thước khoảng 1 kb chỉ thấy xuất hiện ở mẫu bệnh với hàm lượng khá lớn và không trùng với đoạn đa hình của chủng chỉ thị. Đây là đoạn đáng quan tâm nên được giải trình tự để dự đoán vi khuẩn có mặt. Đoạn gen ở vị trí 700 bp, 200 bp không thấy có ở mẫu trẻ khỏe nhưng thấy rất rõ với hàm lượng khá lớn ở mẫu trẻ bị tiêu chảy đều tương ứng với đoạn chỉ thị của *E. coli* và *Salmonella*. Do vậy, rất có thể trẻ tiêu chảy chưa rõ nguyên nhân là do mắc các loại vi khuẩn này. Tuy nhiên, để khẳng định chắc chắn, các đoạn gen này cần được giải trình tự và so sánh với gen tương ứng của *E. coli* và *Salmonella*. Quan sát điện di đồ phân tích đa hình đoạn giới hạn chúng tôi cũng nhận thấy, các đoạn đa hình khác biệt giữa mẫu bệnh này được thể hiện rõ hơn, nét hơn khi gen 16S được khuếch đại bằng

chương trình tough-up. Độ đa đa hình các đoạn giới hạn thấp nhất khi gen 16S được khuếch đại bằng chương trình tough-down.

Tương tự như vậy, đối với các mẫu cắt bằng RsaI băng DNA ở vị trí khoảng 450 bp có kích thước tương ứng với đoạn chỉ thị của *Salmonella* (Hình 2E, F). Ngoài ra, đoạn gen ở vị trí 300 bp tương ứng với chỉ thị *Listeria/Enterococcus* cũng được quan sát thấy trong mẫu bệnh phẩm trong đó không quan sát thấy ở mẫu chứng và được quan sát rõ ở mẫu được PCR bằng chương trình tough-up. Ở mẫu đối chứng, một số đoạn DNA khác biệt so với mẫu bệnh và với gen từ chủng chỉ thị cũng được quan sát thấy và có hàm lượng lớn. Như vậy có thể thấy đối với trẻ bị tiêu chảy, cấu trúc vi khuẩn trong phân đã có sự thay đổi khi quan sát bằng PCR-RFLP.

PCR-RFLP đã được ứng dụng trong việc xác định tác nhân gây bệnh ở bệnh nhân viêm mũi nội nhãn [6], chứng giảm bạch cầu kèm theo sốt và tiêu chảy do ký sinh trùng trên một số chủng đặc trưng phân lập hoặc nguồn gen đích có sẵn. Hiện nay chưa có nghiên cứu nào ứng dụng PCR-RFLP để xác định vi khuẩn gây bệnh trong mẫu phân. Về cơ bản, phương pháp này có các ứng dụng tương tự như DGGE chỉ khác DGGE phân

và hỗ trợ tìm tác nhân vi khuẩn gây bệnh tiêu chảy dựa trên việc khuếch đại toàn bộ metagene 16S của hệ vi khuẩn trong phân bằng chương trình tough-up và cắt bằng MboI. Phổ đa hình đoạn giới hạn được tách biệt tốt. Một số đoạn đa hình trong mẫu bệnh phẩm đã được phát hiện tương ứng với đoạn gen chỉ thị của E. coli và Salmonella. Các đoạn gen này cần được giải trình tự để xác định chính xác tác nhân gây bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Vũ Thị Thu Hà, Nguyễn Tuấn Khiêm, Tăng Chí Thượng, Trần Thị Mộng Điệp** (2016) Khảo sát đặc điểm bệnh tiêu chảy kéo dài ở trẻ em tại bệnh viện nhi đồng 2. Tạp Chí Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh 20(2): 96-102
2. **Fei P, Li L, Cai X, Zhang X, Bai HJ, Jiang YJ, Feng Z, Guo L.** Differences in the biodiversity of the fecal microbiota of infants with Rotaviral diarrhea and healthy infants. Jundishapur J Microbiol 2016; 9(4): e32356
3. **Gu Z, Eils R, Schlesner M.** Complex heatmaps reveal patterns and correlations in multidimensional genomic data. Bioinformatics 2016; 32(18): 2847-2849
4. **Mai V, Braden CR, Heckendorf J, Pironis B, Hirshon JM.** Monitoring of stool microbiota in subjects with diarrhea indicates distortions in composition. J Clin Microbiol 2006; 44(12): 4550-4552
5. **Nguyen TQ, Ngoc TT, Do TH.** A comparison of five methods for effective extraction of bacterial metagenomic DNA from stools of children suffer from diarrhea with unknown cause. Acad J Biol 2023; Under review
6. **Okhravi N, Adamson P, Matheson MM, Towler HMA, Lightman S.** PCR-RFLP-Mediated detection and speciation of bacterial species causing endophthalmitis. Invest Ophthalmol Vis Sci 2000; 41(6): 1438-1447
7. **Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T** (2001). Molecular cloning: a laboratory manual. 11. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

XÁC ĐỊNH CÁC YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN NỒNG ĐỘ TSH TRONG MẪU NGOẠI KIỂM TUYẾN GIÁP

Nguyễn Thị Hồng Phương^{1,2}, Trần Hữu Tâm^{2,3},
Lê Thị Trúc Linh¹, Võ Ngọc Nguyễn²

TÓM TẮT

Chỉ số TSH là một trong những thông số chẩn đoán các bệnh liên quan đến chức năng tuyến giáp. Do đó, để đảm bảo kết quả xét nghiệm TSH đáng tin cậy cần phải có các biện pháp kiểm soát chất lượng xét nghiệm. Nội kiểm và ngoại kiểm là 2 công cụ bắt buộc dùng trong kiểm soát chất lượng xét nghiệm. Để triển khai công tác ngoại kiểm cần phải tạo ra các mẫu kiểm chuẩn với thông số chưa biết trước. Mục tiêu nghiên cứu này nhằm tìm ra các yếu tố tác động đến nồng độ TSH trong qua trình chế tạo mẫu ngoại kiểm dạng đông khô dùng trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm. Thí nghiệm đa yếu tố bằng ma trận Plackett-Bruman để sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng nhất đến nồng độ của TSH trong huyết thanh. Kết quả thí nghiệm được phân tích trên phần mềm “Design expert®7.0” (p-value < 0,05) và chọn ra 3 yếu tố có ảnh hưởng nhất đến nồng độ TSH. Kết quả nghiên cứu xác định được 3 yếu tố là ethylene glycol và meso-erythritol, thời gian sấy tác động mạnh nhất. Nghiên cứu là bước đầu cho việc kiểm soát nồng độ của các thông số tuyến giáp khác như FT3,

FT4,... nhằm tạo ra một mẫu ngoại kiểm đa thông số, đáp ứng được nhu cầu của các phòng xét nghiệm.

Từ khóa: tuyến giáp, ngoại kiểm, miễn dịch, TSH, Plackett- Bruman....

SUMMARY

FACTORS AFFECTING THE TSH CONCENTRATION IN THE MANUFACTURE OF THYROID EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT SAMPLES

TSH is one of the indicators for diseases related to thyroid function. Therefore, it is essential to monitor test quality to ensure reliable TSH test results. External quality assessment (EQA) and internal quality control (IQC) are mandatory tools for quality assurance. To execute EQA, samples with unknown parameters must be created. The research's objective is to determine the variables that influence the TSH concentration during the production of lyophilized samples used in EQA schemes. The Plackett-Bruman matrix was used in a multifactorial experiment to identify the variables that significantly affect TSH levels. The results of the experiment were analyzed using the program "Design Expert®7.0" (p-value 0.05) to identify three variables that have the strongest impact on the concentration of TSH. The study's results identified three factors: ethylene glycol, meso-erythritol, and drying time with strongest impact. This research is the first step in the development of multiparameter EQA

¹Đại học Mở TP.HCM

²Trung tâm Kiểm chuẩn Xét nghiệm Thành phố

³Đại học Y Khoa Phạm Ngọc Thạch

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Hồng Phương
SĐT: 0904434440

Email: nthphuong3101@gmail.com

Ngày nhận bài: 4.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Hoàng Văn Sơn

Ngày duyệt bài: 6.7.2023

samples that meet the needs of laboratories by controlling the concentration of other thyroid parameters, such as FT3 and FT4,...

Keywords: thyroid, external assessment, immunology, TSH, Plackett-Burman...

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Để đảm bảo chất lượng xét nghiệm cần phải thực hiện việc kiểm tra chất lượng xét nghiệm định kỳ. Hai công cụ được sử dụng phổ biến trong kiểm tra chất lượng là ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm (EQA – External Quality Assessment) và nội kiểm tra chất lượng xét nghiệm (IQC - Internal Quality Control) [1]. Công cụ đánh giá ngoại kiểm tra là các mẫu kiểm chuẩn. Các cơ quan kiểm chuẩn muốn triển khai được kiểm tra chất lượng xét nghiệm cần phải có mẫu ngoại kiểm, đây là một dạng vật liệu - mẫu chuẩn đảm bảo đầy đủ các yêu cầu kỹ thuật để có thể tiến hành triển khai ngoại kiểm, đánh giá chất lượng các phòng xét nghiệm một cách khách quan. Hiện nay tỉ lệ mắc bệnh tuyến giáp ngày càng được quan tâm, tỉ lệ mắc bệnh ở nữ cao hơn 5-10 lần so với nam và tần suất mắc bệnh tăng theo độ tuổi. Do đó tầm soát nhanh trong bệnh tuyến giáp là điều quan trọng trong công tác chăm sóc sức khỏe, giúp tầm soát chính xác và phát hiện sớm khả năng mắc bệnh và giảm nguy cơ tử vong. Thông số TSH là một trong những chỉ số thường được sử dụng để theo dõi các bệnh nhân đang điều trị thay thế hoặc ức chế hormone tuyến giáp. TSH là thông số rất nhạy trong việc xác định rối loạn chức năng tuyến giáp và tiên đoán những biểu hiện thay đổi ác tính của khối u [6]. Đối với mẫu ngoại kiểm đạt yêu cầu về chất lượng và ổn định cần phải tối ưu quy trình chế tạo vì chỉ số TSH dễ bị ảnh hưởng bởi các yếu tố hóa học và vật lý cũng như sự thay đổi sinh học khác

nhau. Nên mẫu được chế tạo dạng đông khô để kéo dài tuổi thọ của mẫu. Bước đầu của quá trình tối ưu hóa là phải sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng chính từ hàng loạt các yếu tố ban đầu. Nghiên cứu sử dụng ma trận Plackett-Burman được thiết kế chuyên biệt cho thí nghiệm từ 2 – 31 yếu tố, mà mỗi yếu tố khác nhau ở hai mức nồng độ thấp (-1) và cao (+1) [7].

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Mẫu nghiên cứu là mẫu huyết tương/huyết thanh của người gồm có các chỉ số tuyến giáp (TSH) ở ngưỡng giá trị bất thường và bình thường theo khoảng giá trị tham chiếu của thông số đó, được thu thập từ các phòng xét nghiệm, bệnh viện. Các mẫu huyết tương hoặc huyết thanh sau khi thu thập được bảo quản ở nhiệt độ -30°C khi chưa sử dụng. Các mẫu huyết tương bị đục hoặc tán huyết sẽ bị loại bỏ.

2.2. Phương pháp

2.1.1. Phương pháp chuẩn bị mẫu:

Các mẫu huyết tương hoặc huyết thanh được rã đông ở nhiệt độ phòng. Sau đó, sử dụng hỗn hợp Thrombin 1kU và CaCl_2 1M để chuyển huyết tương thành huyết thanh nhằm loại bỏ các sợi tơ huyết có thể làm ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm TSH. Các mẫu huyết thanh có cùng mức nồng độ bệnh lý sẽ được trộn chung với nhau thành hỗn hợp stock [2].

2.1.2. Phương pháp đông khô:

Mẫu trước khi đông khô bổ sung các chất độn (meso-erythritol) để giúp cho quá trình tạo bánh và đảm bảo sự kết tinh của mẫu. Sau đó thực hiện đông khô qua 2 giai đoạn: Tiên đông ở nhiệt độ (-30°C), đông khô trên máy Alpha 2,4-LD plus ở nhiệt độ -86°C và áp suất 4,58 mmHg trong 24 giờ. Mẫu sau

khi đông khô được hoàn nguyên bằng 1ml nước cất 2 lần hoặc nước cất pha tiêm để đo nồng độ của TSH. (đề tài sinh hóa cấp thành phố)

2.1.3. Thiết kế ma trận Plackett-Burman:

Khảo sát các yếu tố ảnh hưởng bao gồm chất ổn định (ethylene glycol), chất bảo quản

(sodium azide) [5], các chất hỗ trợ tạo bánh đông khô (meso-erythritol) [4], nhiệt độ đông lạnh, thời gian sấy đông khô [3].

Thí nghiệm được thiết kế với 12 nghiệm thức với 5 yếu tố ở mức nồng độ thấp (-1) và cao (+1)

Bảng 1. Các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ TSH được sử dụng trong ma trận Plackett-Burman

STT	Tên yếu tố	Mức dưới (-1)	Mức trên (+1)
1	Ethylene glycol (% v/v)	15	30
2	Sodium azide (g/ml)	0,01	0,02
3	Meso-erythritol (g/ml)	0,1	0,15
4	Nhiệt độ lạnh đông (°C)	-40	-30
5	Thời gian sấy (giờ)	12	24

Các yếu tố có giá trị ảnh hưởng dương lớn sẽ ảnh hưởng tới nồng độ TSH với độ tin cậy 95%

2.1.4. Phân tích thống kê

Tính toán số liệu dựa trên phần mềm Design expert®7.0, one way Anova (p <0.05).

nghiên cứu về đông khô trước đó của chúng tôi và các nghiên cứu về đông khô, nhóm nghiên cứu đã xác định được 5 yếu tố X₁: ethylene glycol (% v/v), X₂: Sodium azide (g/ml), X₃: Meso-erythritol (g/ml), X₄: Nhiệt độ lạnh đông (°C), X₅: Thời gian sấy (giờ) để đưa vào thiết kế ma trận Plackett Burman. Ma trận đưa ra 12 nghiệm thức cần phải thực hiện và kết quả thực nghiệm được thể hiện qua Bảng 2.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả thí nghiệm sàng lọc

Dựa trên các tài liệu hướng dẫn của WHO về ổn định mẫu huyết thanh, các

Bảng 2. Kết quả thí nghiệm sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ TSH bằng ma trận Plackett-Burman

Thí nghiệm	Các biến					Nồng độ TSH (µU/ml)	
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄	X ₅	Mô hình	Thực nghiệm
1	1	-1	-1	-1	-1	7,9	8,1
2	1	1	-1	-1	1	7,8	7,5
3	1	1	1	-1	-1	7,4	7,2
4	-1	1	1	1	-1	8,3	8,2
5	1	-1	1	1	-1	7,8	8,0
6	1	1	-1	1	1	8,3	8,5
7	-1	1	1	-1	1	7,9	7,3

8	1	-1	1	1	1	7,9	8,2
9	-1	1	-1	1	-1	7,4	7,2
10	-1	-1	1	1	1	7,8	7,7
11	-1	-1	-1	-1	1	7,4	8,0
12	-1	-1	-1	-1	-1	8,3	8,5

3.2. Kết quả phân tích ảnh hưởng của yếu tố

Kết quả được xử lý bằng phần mềm Design expert @7.0, One way Anova (p value <0,05). Kết quả nghiên cứu cho thấy 3 yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ TSH là ethylene glycol và meso-erythritol, thời gian sấy với p- value < 0,05.

Bảng 3. Kết quả phân tích thống kê mức ảnh hưởng của 5 yếu tố sàng lọc

STT	Tên yếu tố	Hệ số ảnh hưởng	Độ tin cậy
1	Ethylene glycol (% v/v)	3,75	0,045
2	Sodium azide (g/ml)	2,98	0,358
3	Meso-erythritol (g/ml)	6,66	0,029
4	Nhiệt độ lạnh đông (°C)	2,11	0,985
5	Thời gian sấy (giờ)	3,12	0,039

Nếu hệ số ảnh hưởng của một yếu tố là dương thì yếu tố đó ảnh hưởng nhiều ở mức cao và nếu hệ số ảnh hưởng là âm thì yếu tố đó ảnh hưởng nhiều ở mức thấp đến kết quả khảo sát. Dựa vào hệ số ảnh hưởng nhóm nghiên cứu đã xác định 3 yếu tố tác động nhiều nhất đến nồng độ của thông số TSH với độ tin cậy p- value < 0,05 với ethylene glycol là 3,75; meso-erythritol là 6,66; thời gian sấy là 3,12. Đây là ba yếu tố ảnh hưởng mạnh đến thông số TSH là cơ sở cho các nghiên cứu tối ưu hóa tiếp theo.

IV. BÀN LUẬN

Thời gian tồn tại của TSH trong huyết thanh ở nhiệt độ phòng là 30 ngày và 36 ngày ở nhiệt độ -20 °C và 4 °C [8]. Để kéo dài tuổi thọ của mẫu thì cần phải bổ sung các chất ổn định và tạo mẫu ở dạng đông khô.

Kết quả sàng lọc các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ TSH cho thấy ethylene glycol,

meso-erythritol và thời gian sấy có ảnh hưởng nhiều nhất. Điều này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đó. Ethylene glycol được biết đến là chất ổn định cho các mẫu có nguồn gốc sinh học và thường được dùng trong điều chế huyết thanh kiểm tra chất lượng nhờ đặc tính chống đông và kháng khuẩn giúp ổn định các phân tử hữu cơ trong huyết thanh. Trong quá trình đông khô thì meso-erythritol ngoài khả năng hỗ trợ tạo bánh đông khô, nó còn có tác dụng bảo vệ protein khỏi sự biến tính, cũng như ngăn chặn những thay đổi do các tác nhân vật lý và hóa học trong quá trình bảo quản mẫu, khả năng hòa tan cao của nó trong nước cũng góp phần cho quá trình hoàn nguyên mẫu. Thời gian sấy thăng hoa cũng là yếu tố ảnh hưởng đến chất lượng sản phẩm. Khi thời gian sấy ngắn, độ ẩm sẽ không đạt, ảnh hưởng đến chất lượng của mẫu.

V. KẾT LUẬN

Nhóm nghiên cứu lựa chọn và đã tiến hành sàng lọc từ 5 yếu tố ban đầu ảnh hưởng đến nồng độ TSH trong đó tìm ra được 3 yếu tố ảnh hưởng nhất là ethylene glycol, meso-erythritol, thời gian sấy khi sử dụng ma trận Plakett Burman thiết kế trên mô hình 12 nghiệm thức. Kết quả các nghiệm thức phù hợp và đạt độ tin cậy cao tìm ra các yếu tố ảnh hưởng giúp cho việc tạo ra loại mẫu miễn dịch chứa thông số TSH thích hợp trong các điều kiện bảo quản và ổn định theo thời gian triển khai chương trình ngoại kiểm.

VI. KIẾN NGHỊ

Sử dụng kết quả sàng lọc để thực hiện tối ưu hóa các yếu tố ảnh hưởng đến thông số TSH. Từ đó đánh giá độ ổn định và đồng nhất của mẫu.

Nghiên cứu này là tiền đề cho việc nghiên cứu các thông số tuyến giáp khác như FT3, FT4,...

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Hữu Tâm và cộng sự** (2012), Ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm, Tp.HCM, Nhà xuất bản y học.
2. **Frank C. Hay, Olwyn M.R. Westwood**, 2002, Practical Immunology, 4th edition, Blackwell Science Ltd.
3. **Franks, F.** (1998). Freeze-drying of bioproducts: putting principles into practice. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Official Journal of Arbeitsgemeinschaft Fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V.*, 45(3), 221–229.
4. **Fujii, K., Izutsu, K. I., Kume, M., Yoshino, T., Yoshihashi, Y., Sugano, K., & Terada, K.** (2015). Physical Characterization of Meso-Erythritol as a Crystalline Bulking Agent for Freeze-Dried Formulations. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 63(5), 311–317.
5. **Kulkarni, S., Pierre, S. A., & Kaliaperumal, R.** (2020). Efficacy of Pooled Serum Internal Quality Control in Comparison with Commercial Internal Quality Control in Clinical Biochemistry Laboratory. *Journal of Laboratory Physicians*, 12(3), 191–195. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721151>.
6. **Matyjaszek-Matuszek, B., Pyzik, A., Nowakowski, A., & Jarosz, M. J.** (2013). Diagnostic methods of TSH in thyroid screening tests. In *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, Vol. 20, Issue 4, pp. 731–735.
7. **Plackett & Burman**, 1946; Tambse, 2015.
8. **Waite, K. v, Maberly, G. F., & Eastman, C. J.** (1987). Storage conditions and stability of thyrotropin and thyroid hormones on filter paper. 3, 853–855.

SO SÁNH ĐỘ TƯƠNG ĐỒNG KẾT QUẢ ĐỊNH LƯỢNG ĐỒNG TRONG HUYẾT TƯƠNG BẰNG PHƯƠNG PHÁP QUANG PHỔ HẤP THỤ NGUYÊN TỬ VỚI PHƯƠNG PHÁP ĐO MÀU

Phạm Thu Hiền², Trần Thị Chi Mai^{1,2}, Nguyễn Thị Huệ²,
Vũ Thị Hoa², Trần Ngọc Thắng², Lê Kim Dung², Vũ Hà Đức²

TÓM TẮT

Mục tiêu: So sánh độ tương đồng kết quả định lượng đồng trong huyết tương của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử với phương pháp đo màu. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 40 mẫu bệnh phẩm được tiến hành phân tích song song bằng phương pháp quang phổ hấp thụ trên máy AA-7000 và phương pháp đo màu trên máy AU-5800. Số liệu được phân tích theo phương pháp đồ thị khác biệt của Altman- Bland và hồi quy Passing-Bablok. **Kết quả:** Phân tích bằng biểu đồ khác biệt cho thấy kết quả sự khác biệt trung bình là 0,5 $\mu\text{mol/L}$ và 95% khoảng tin cậy của sự khác biệt là (-0,777 đến -0,222). Giá trị tuyệt đối của trung bình sự khác biệt hai phương pháp định lượng đồng huyết tương nhỏ hơn độ lệch cho phép tại nồng độ 22,25 $\mu\text{mol/L}$, tuy nhiên lớn hơn độ lệch cho phép tại nồng độ 2,35 $\mu\text{mol/L}$. Phân tích hồi quy Passing-Bablok: đồ thị có độ dốc 0,947 (95% CI là 0,925- 0,994) và giao điểm 0,046 (95% CI là -0,048- 0,201), hệ số tương quan r là 0,996. **Kết luận:** Kết quả xét nghiệm định lượng đồng huyết

tương của hai phương pháp là không tương đồng, nhưng tương quan chặt.

Từ khóa: Đồng huyết tương, biểu đồ khác biệt Altman- Bland, mô hình hồi quy Passing-Bablok, so sánh phương pháp

SUMMARY

COMPARISON OF RESULTS OF PLASMA COPPER MEASUREMENTS BETWEEN THE ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY AND COLORIMETRIC METHODS

Objective: To compare the similarity of the results of plasma copper measurement between atomic absorption spectrometry and colorimetric methods. **Materials & methods:** 40 patient plasma samples were analyzed in parallel by absorption spectrometry method on AA-7000 and colorimetric method on the automatic chemistry analyzer AU-5800. The data were analyzed by Bland-Altman difference plot and Passing-Bablok regression. **Results:** Using difference plot, the mean difference between two methods was 0.5 $\mu\text{mol/L}$ and the 95% confidence interval of difference was -0.777 to -0.222 $\mu\text{mol/L}$. The absolute value of the mean difference between two methods of plasma copper quantification was smaller than the allowable deviation at the concentration of 22.25 $\mu\text{mol/L}$, but it was larger than the allowable deviation at the concentration of 2.35 $\mu\text{mol/L}$. Using Passing-Bablok regression analysis: the graph had a slope of 0.947 (95% CI was 0.925-

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Nhi Trung Ương

Chịu trách nhiệm chính: Phạm Thu Hiền

SĐT: 0988101660

Email: hienvienni1983@gmail.com

Ngày nhận bài: 29.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS. Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 2.7.2023

0,994) and an intercept was 0.046 (95% CI was 0,048- 0,201), the correlation coefficient r was 0.996. **Conclusion:** The results of plasma copper measurements between the two methods were not compatible, but closely correlated.

Keywords: Plasma Copper concentration, Bland-Altman difference plot, Passing-Bablok regression, Method comparison.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đồng là một nguyên tố vi lượng cần thiết cho hoạt động của các cơ quan và quá trình trao đổi chất ở người. Trong cơ thể, đồng tồn tại chủ yếu ở gan, phần ít hơn ở thận, mắt, não và một số cơ quan khác. Trong máu phần lớn đồng tồn tại dưới dạng ceruloplasmin và phần còn lại được gắn với protein trong máu, một phần rất nhỏ đồng tồn tại ở trạng thái tự do (1). Định lượng đồng trong huyết tương là xét nghiệm hỗ trợ chẩn đoán thiếu hụt đồng, ngộ độc đồng, các bệnh lý di truyền liên quan đến rối loạn chuyển hóa đồng. Để định lượng đồng trong mẫu dịch sinh học, có nhiều phương pháp được áp dụng như: phương pháp đo màu, phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS), phương pháp khối phổ cảm ứng plasma (ICP-MS), phương pháp quang phổ phát xạ cảm ứng plasma (ICP-OES). Giá trị sử dụng và tính chính xác của từng phương pháp khác nhau, trong đó phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS) là phương pháp hay dùng nhất trong phòng xét nghiệm lâm sàng trên thế giới (1). Tuy nhiên ở Việt Nam phương pháp này ít được sử dụng tại các phòng xét nghiệm ở bệnh viện do hệ thống quang phổ hấp thụ nguyên tử ứng dụng chủ yếu trong phân tích kim loại- những xét nghiệm không được làm thường quy tại các phòng xét nghiệm thông thường. Hơn nữa, các phương pháp phân tích kim loại trên máy

quang phổ hấp thụ nguyên tử không phải là phương pháp thương mại trên thị trường, đòi hỏi phòng xét nghiệm phải tự phát triển phương pháp, do vậy yêu cầu về nhân lực cần được đào tạo chuyên sâu. Theo hiểu biết của chúng tôi, hiện nay tại Việt Nam chưa có phòng xét nghiệm lâm sàng nào thực hiện xét nghiệm định lượng đồng trong huyết tương bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử.

Hiện tại, khoa Hóa sinh- Bệnh viện Nhi Trung ương đang định lượng đồng trong huyết tương bằng phương pháp đo màu trên máy hóa sinh tự động. Phương pháp này có ưu điểm là đơn giản, tự động hóa hoàn toàn, thời gian trả kết quả nhanh; tuy nhiên hạn chế là độ lặp lại không tốt, đôi khi gây ra các trường hợp kết quả cao giả tạo. Do vậy chúng tôi đã xây dựng và thẩm định quy trình định lượng đồng trong huyết tương bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (2). Nghiên cứu này được thực hiện nhằm so sánh độ tương đồng kết quả định lượng đồng trong huyết tương của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử với phương pháp đo màu tại Khoa Hóa sinh, Bệnh viện Nhi Trung Ương.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu

40 mẫu huyết tương thừa của bệnh nhân được chỉ định định lượng đồng bằng phương pháp đo màu tại phòng xét nghiệm, có nồng độ trải khắp khoảng đo của hai phương pháp.

Nghiên cứu được thực hiện tại Khoa Hóa sinh Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 12/2021 – 10/2022.

Phương pháp nghiên cứu

Nguyên lý kỹ thuật của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử sử dụng lò điện

Một lượng nhỏ mẫu được hóa hơi và nguyên tử hóa ở nhiệt độ cao trong ống graphit. Các nguyên tử đồng tự do sinh ra trong ống graphit hấp thụ tia sáng đơn sắc từ đèn catot rỗng tạo thành phổ hấp thụ nguyên tử và được xác định bởi detector nhân quang điện. Việc định lượng đồng trong mẫu được thực hiện với một đường chuẩn xây dựng từ một dãy dung dịch chuẩn được chuẩn bị song song với mỗi mẻ mẫu.

Nguyên lý kỹ thuật của phương pháp đo màu

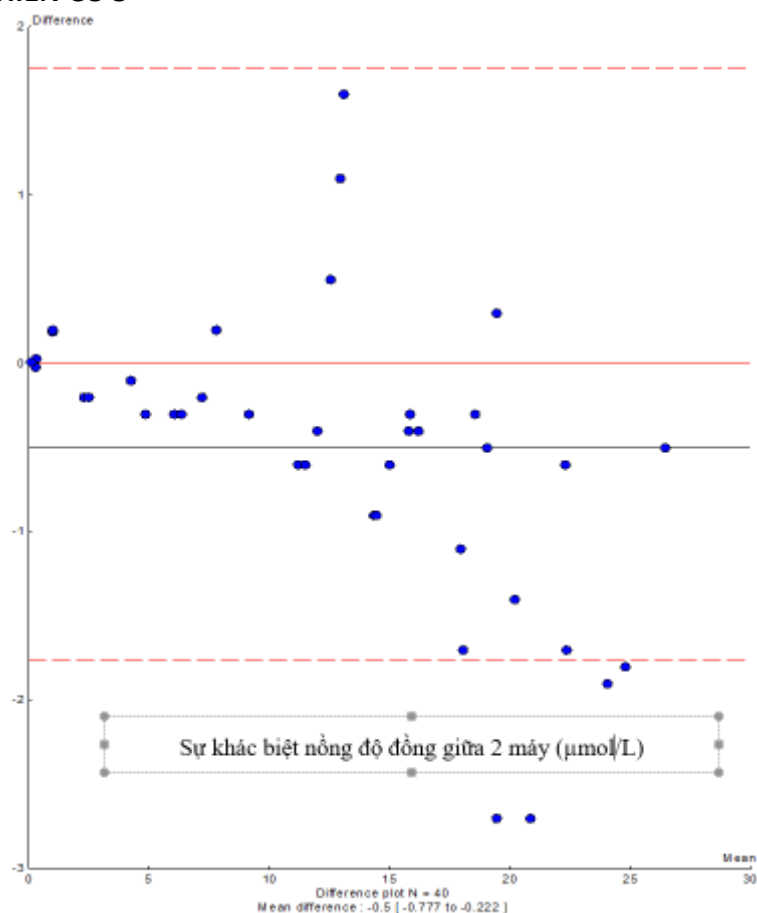
Đồng tạo phản ứng với 4- (3,5 dibromopyridylazo)-N-sulfopropylamine tạo thành

phức hợp màu. Sự tăng mật độ quang của phức hợp này được đo ở bước sóng 580 nm và tỷ lệ thuận với nồng độ Đồng trong mẫu bệnh phẩm.

Quy trình nghiên cứu

Thực hiện phân tích đồng trên hai máy quang phổ hấp thụ nguyên tử AA-7000 và Beckman Coulter AU 5800. Thực nghiệm so sánh tương đồng kết quả xét nghiệm được tiến hành theo hướng dẫn EP09A của CLSI. So sánh sự tương đồng kết quả xét nghiệm bằng phân tích hồi quy Passing – Bablock và bằng đồ thị khác biệt Bland- Altman (3-5).

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU



Hình 1. Biểu đồ khác biệt trong so sánh kết quả định lượng đồng trong huyết tương giữa hai phương pháp

40 mẫu bệnh phẩm được tiến hành phân tích song song bằng phương pháp quang phổ hấp thụ trên máy AA-7000 và phương pháp đo màu trên máy AU 5800 theo quy trình tại phòng xét nghiệm. Có 4 trên 40 mẫu có kết quả khác biệt nằm ngoài khoảng giới hạn chấp nhận.

Bảng 1. Kết quả ước tính độ lệch từ biểu đồ khác biệt có sai số hệ thống hằng định

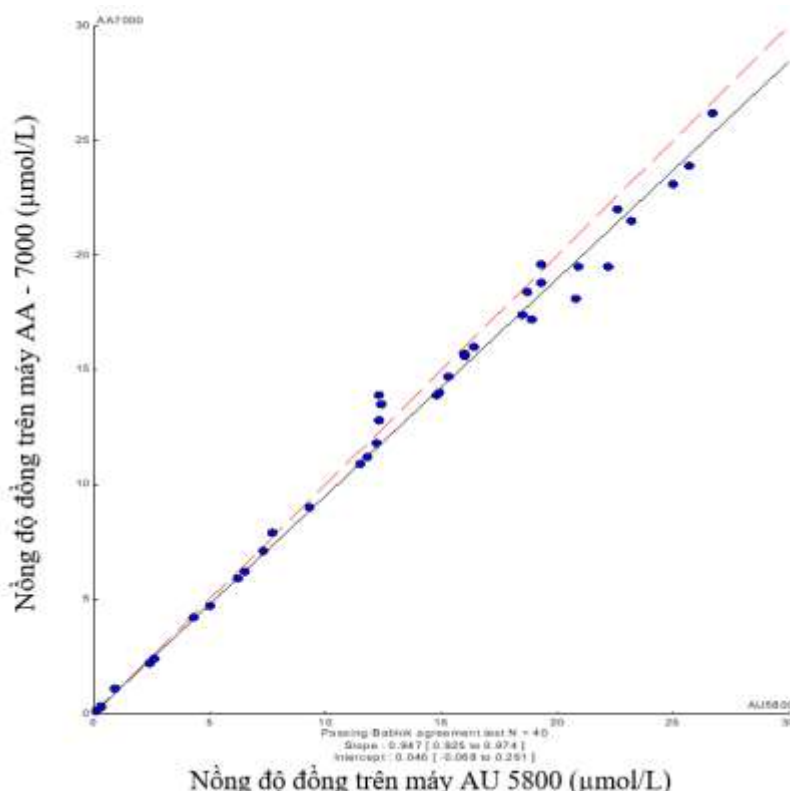
Xét nghiệm	Kiểm định phân phối chuẩn	Trung bình sự khác biệt hai máy(d) ($\mu\text{mol/L}$)	95% CI của độ lệch trung bình ($\mu\text{mol/L}$)	Độ lệch cho phép* (%)	Nồng độ có tính quyết định y khoa ($\mu\text{mol/L}$)**	Độ lệch tuyệt đối tại nồng độ có tính quyết định y khoa ($\mu\text{mol/L}$)
Đồng (n=40)	Phân phối không chuẩn	-0,5	-0,777 đến -0,222	5,2 %	2,35 22,25	0,12 1,16

Kết quả sự khác biệt trung bình là 0,5 $\mu\text{mol/L}$ và 95% khoảng tin cậy của sự khác biệt là (-0,777 đến -0,222). Khoảng khác biệt trung bình $\pm 2\text{SD}$ bao gồm 0. Giá trị tuyệt đối của trung bình sự khác biệt hai máy của xét nghiệm định lượng đồng huyết tương nhỏ hơn độ lệch cho phép tại nồng độ 22,25

$\mu\text{mol/L}$, tuy nhiên lớn hơn độ lệch cho phép tại nồng độ 2,35 $\mu\text{mol/L}$.

* Độ lệch cho phép được lấy từ trang web của Westgard <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>

** Nồng độ quyết định y khoa là các giới hạn trên và giới hạn dưới của khoảng tham chiếu của đồng trong huyết tương.



Hình 2. Biểu đồ Passing- Bablock so sánh kết quả định lượng đồng trong huyết tương giữa hai phương pháp

40 mẫu bệnh phẩm được tiến hành phân tích song song trên hai máy AA-7000 và AU5800 theo quy trình tại phòng xét nghiệm. Đồ thị có độ dốc 0,947 (95% khoảng tin cậy của độ dốc là 0,925- 0,994); và giao điểm 0,046 (95% khoảng tin cậy của giao điểm là -0,048- 0,201). Hệ số tương quan r là 0,996, lớn hơn 0,99. 95% CI của độ dốc không bao gồm 1. 95% CI của giao điểm bao gồm 0.

IV. BÀN LUẬN

Phương pháp đo màu định lượng đồng trong huyết tương có ưu điểm là đơn giản, tự động hóa hoàn toàn, thời gian trả kết quả nhanh; tuy nhiên hạn chế là độ lặp lại không tốt, đôi khi gây ra các trường hợp kết quả cao giả tạo. Nghiên cứu của Beckett và cộng sự năm 2009 đánh giá phương pháp định lượng đồng trong huyết tương bằng phương pháp đo màu cho thấy so với phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử, kết quả cho thấy phương pháp đo màu kém ổn định hơn (6). Do vậy chúng tôi đã xây dựng quy trình định lượng đồng trong huyết tương bằng phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử (2) và tiến hành so sánh độ tương đồng kết quả với phương pháp đo màu. Trong nghiên cứu này, 40 mẫu bệnh phẩm khác nhau được sử dụng để so sánh độ tương đồng giữa phương pháp quang phổ hấp thụ (thực hiện trên máy AA – 7000) và phương pháp đo màu trên máy hóa sinh tự động AU 5800. So sánh kết quả mẫu bệnh phẩm được phân tích bằng biểu đồ khác biệt Altman- Bland và hồi quy tuyến tính Passing-Bablok. Biểu đồ khác biệt cho thấy kết quả sự khác biệt của các xét nghiệm trên hai máy hóa sinh và 95% khoảng tin cậy của sự khác biệt đó. Tiêu chuẩn chấp nhận của phương pháp là kết quả sự khác biệt luôn nhỏ hơn độ lệch tối đa cho phép ở các nồng độ

quyết định y khoa. Kết quả sự khác biệt trung bình là 0,5 $\mu\text{mol/L}$ và 95% khoảng tin cậy của sự khác biệt là (-0,777 đến -0,222). Khoảng khác biệt trung bình $\pm 2\text{SD}$ bao gồm 0. Giá trị tuyệt đối của trung bình sự khác biệt hai máy của xét nghiệm định lượng đồng huyết tương nhỏ hơn độ lệch cho phép tại nồng độ 22,25 $\mu\text{mol/L}$, tuy nhiên lớn hơn độ lệch cho phép tại nồng độ 2,35 $\mu\text{mol/L}$. Như vậy, khi sử dụng đồ thị khác biệt để đánh giá sự tương đồng giữa 2 phương pháp thì sự khác biệt là chấp nhận được ở mức nồng độ cao, không chấp nhận được ở mức nồng độ thấp.

Kết quả định lượng đồng của các mẫu bệnh phẩm giữa hai phương pháp còn được so sánh bằng phương pháp hồi quy Passing-Bablok. Hình 2 cho thấy xét nghiệm định lượng đồng huyết tương có khoảng tin cậy 95% của độ dốc không bao gồm 1, khoảng tin cậy 95% của giao điểm bao gồm 0. Như vậy có thể xem như kết quả định lượng đồng của hai phương pháp này là khác biệt, mặc dù không có sự khác biệt về sai số hệ thống hằng định nhưng có sự khác biệt đáng kể về sai số tỷ lệ giữa kết quả xét nghiệm của hai phương pháp. Phương trình tương quan là $y=0,947 x+ 0,046$, trong đó y là kết quả phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử, x là kết quả phương pháp đo màu. Sự khác biệt về kết quả của mẫu bệnh nhân giữa các thiết bị là do khác nhau về nguyên lý xét nghiệm, quá trình hiệu chuẩn, hoá chất, thuốc thử. Mặc dù hai phương pháp là không tương đồng do tồn tại sai số hệ thống tỷ lệ, tuy nhiên kết quả hệ số tương quan r lớn hơn 0,99 cho thấy hai phương pháp có tương quan chặt.

Thực nghiệm đánh giá độ tương đồng chúng tôi lựa chọn thực hiện theo hướng dẫn EP09-A3 của CLSI, đây là hướng dẫn cụ thể

giúp các phòng xét nghiệm thực hiện các bước tiến hành so sánh phương pháp một cách chi tiết, có hiệu quả và khả năng áp dụng toàn cầu, được các phòng xét nghiệm ưu tiên lựa chọn(3). Trên thực tế khi thực hiện nghiên cứu theo hướng dẫn EP09-A3 của CLSI có ưu điểm là dùng mẫu huyết tương của bệnh nhân phủ kín khoảng tuyến tính sẽ đánh giá chính xác độ chệch giữa 2 thiết bị ở các mức nồng độ khác nhau thay vì sử dụng mẫu QC chỉ có thể đánh giá độ chệch ở một số giá trị nồng độ nhất định. Ngoài ra theo một số khuyến cáo việc sử dụng các mẫu QC mặc dù đơn giản, tiện lợi, dễ sử dụng, nhưng chỉ thích hợp áp dụng khi hai thiết bị xét nghiệm giống nhau sử dụng cùng lô thuốc thử, thì khả năng mối quan hệ giữa các kết quả QC của hai máy là tương tự như mối quan hệ giữa các mẫu bệnh phẩm giữa 2 máy. Tuy nhiên khi nghiên cứu so sánh phương pháp được thực hiện trên hai hệ thống khác nhau, thuốc thử được sử dụng khác nhau thì khả năng phản ánh mối quan hệ về kết quả khi phân tích mẫu bệnh nhân thông qua kết quả của mẫu QC là hạn chế và có thể dẫn đến những kết luận sai lầm về khả năng so sánh của mẫu bệnh nhân. Vì vậy, các mẫu bệnh phẩm là lựa chọn tối ưu khi sử dụng để so sánh độ lệch giữa hai phương pháp trên các hệ thống máy xét nghiệm khác nhau(3). Mẫu nghiên cứu lựa chọn từ chính các mẫu bệnh phẩm thừa được sử dụng cho phân tích tại phòng xét nghiệm là nguồn vật liệu lý tưởng cho thực nghiệm so sánh phương pháp, vì đây là các mẫu thực tế được phân tích bằng hệ thống đo lường. Mẫu huyết thanh thừa có những sai số và yếu tố ảnh hưởng y hệt như kết quả phân tích thực tế, do đó sự khác biệt đo lường được có độ tin cậy cao.

V. KẾT LUẬN

Kết quả xét nghiệm định lượng đồng huyết tương của phương pháp quang phổ hấp thụ nguyên tử và phương pháp đo màu là không tương đồng, nhưng tương quan chặt. Phòng xét nghiệm chỉ nên sử dụng một trong hai phương pháp để theo dõi nồng độ đồng huyết tương cho bệnh nhân.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **K. Raja, R. Swaminathan** (2009). Copper in "Method in Clinical Chemistry." 5th edition. Published by Pesce Kaplan Publishers.
2. **Phạm Thu Hiền, Trần Thị Chi Mai, Bùi Thị Ngọc Hà, Nguyễn Thị Huệ.** Thẩm định Phương pháp định lượng đồng trong huyết tương bằng kỹ thuật quang phổ hấp thụ nguyên tử. Tạp chí Y học Việt Nam:521(2): 115-119
3. **Budd JR, Durham AP, Gwise TE, et al** (2010). Measurement procedure comparison and bias estimation using patient samples; Approved guideline. 3rd edition, CLSI document EP09-A3, Vol.33 No.11. Philadelphia, PA: Clinical Laboratory Standard Institute.
4. **Najib Aziz, Micheal R. Irwin, Sally S. Dickerson, Anthony W. Butch** (2004). Interpreting method comparison studies by use of the Bland- Altman plot: Reflecting the importance of sample size by incorporating confidence limits and predefined error limits in the graphic. Clin Chem. 50(11):2216-2218.
5. **Lidija Bili-Zulle** (2011). Comparison of methods: Passing and Bablok regression. Biochem Medica. 21(12):49-52.
6. **Jeffrey M Beckett, Thomas F Hartley, and Madeleine J Bal** (2009). Evaluation of the Randox colorimetric serum copper and zinc assays against atomic absorption spectroscopy. Ann Clin Biochem.46(4): 322- 326.

ÁP DỤNG HƯỚNG DẪN EP15A3 CỦA CLSI XÁC NHẬN PHƯƠNG PHÁP ĐỊNH LƯỢNG G6PD TRONG MẪU MÁU THẤM KHÔ TRÊN HỆ THỐNG VICTOR 2D CỦA PERKIN ELMER

Nguyễn Văn Thuởng^{1,2}, Trần Tín Nghĩa^{2,3}, Đặng Thị Ngọc Dung²

TÓM TẮT

Xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp (method verification) là kiểm tra lại khả năng thực hiện của các phương pháp đã được công bố, nhằm chứng minh rằng phương pháp đó thực hiện được và cho kết quả phù hợp với các yêu cầu kỹ thuật mà nhà sản xuất đã công bố, tại một phòng xét nghiệm cụ thể. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu xác nhận phương pháp định lượng G6PD trong mẫu máu thấm khô trên hệ thống VICTOR 2D của Perkin Elmer. Nghiên cứu sử dụng vật liệu bộ nội kiểm Neonatal G6PD QC hai mức và hóa chất Neonatal G6PD kit để tiến hành thực nghiệm đánh giá độ đúng, độ chụm của xét nghiệm G6PD trên hệ thống VICTOR 2D của Perkin Elmer theo hướng dẫn EP15A3 của CLSI. CV của phòng xét nghiệm với QC (normal) và QC (Abnormal) lần lượt là 1,14%, 2,42% nhỏ hơn giá trị CV nhà sản xuất công bố cho giá trị bình thường là 5,3% và giá trị bệnh lý là 13,8%. Giá trị trung bình quan sát của hai mức QC nằm trong khoảng xác nhận. Độ chụm và độ đúng của xét nghiệm sàng lọc G6PD được xác nhận, xét nghiệm có thể thực hiện để

cung cấp dịch vụ cho bệnh nhân tại phòng xét nghiệm.

Từ khóa: Thiếu enzyme G6PD, sàng lọc sơ sinh, xác nhận phương pháp, EP15A3.

SUMMARY

APPLICATION OF CLSI EP15A3 GUIDELINE FOR VERIFICATION OF G6PD MEASUREMENT METHOD IN DRY BLOOD SAMPLES ON PERKIN ELMER'S VICTOR 2D SYSTEM

Analytical method verification is crucial for laboratories before proceeding to the testing of patients' samples. The purpose of this study was to verify the performance of G6PD measurement in dry blood samples on Perkin Elmer's VICTOR 2D system for newborn screening of G6PD deficiency. The verification of precision and trueness was conducted on the Perkin Elmer analyzer using the Perkin Elmer's Neonatal G6PD kit and quality control materials in accordance with CLSI EP15-A3 guidelines. The laboratory CVs of two QC levels were observed to be 1.14% and 2.42% respectively, lower than the manufacturer's CVs of normal value 5.3% and Abnormal value 13.8%. The observed mean value of two QC levels were within the verification intervals. As a result, the precision and trueness of this G6PD assay were verified, allowing it to be used for neonatal screening.

Keywords: G6PD deficiency, newborn screening, method verification, EP15A3

¹Bệnh Viện Sản Nhi tỉnh Quảng Ninh

²Trường Đại Học Y Hà Nội

³Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Văn Thuởng
SĐT: 0977652662

Email: nguyenvanthuongbs@gmail.com

Ngày nhận bài: 29.6.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 4.7.2023

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhà sản xuất đã đánh giá một cách kỹ lưỡng trước khi đưa một phương pháp ứng dụng vào lâm sàng, tuy nhiên ở từng phòng xét nghiệm có rất nhiều yếu tố có thể tác động, ảnh hưởng đến các chỉ tiêu chất lượng của phương pháp như: Môi trường thực hiện phương pháp, điều kiện vận chuyển, bảo quản (hóa chất, thuốc thử, vật tư), kỹ năng thực hiện của nhân viên,... Vì vậy, trước khi sử dụng phương pháp mới, phòng xét nghiệm cần thực hiện xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp để chứng minh phương pháp này khi được áp dụng thực tế tại phòng xét nghiệm có sự tương đương với các thông số chất lượng được đưa ra bởi nhà sản xuất [2, 3]. Có nhiều hướng dẫn đánh giá phương pháp được chấp nhận trên thế giới như tiêu chuẩn của tổ chức CLSI, ISO, ASTM, AOAC... Trong đó, hướng dẫn EP15A3 của CLSI về xác nhận phương pháp được công nhận và áp dụng rộng rãi với mô hình thực nghiệm tối thiểu là “5 lần x5 ngày” để đánh giá độ chụm, độ đúng của phương pháp. Hướng dẫn này đã giúp phòng xét nghiệm tiết kiệm thời gian, nguồn lực và có thể tại các phòng xét nghiệm khác nhau về trang thiết bị, kỹ thuật, nhân lực mà vẫn đảm bảo tính tin cậy [4, 5].

Bệnh thiếu enzyme G6PD (Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase) là tình trạng thiếu enzyme G6PD trên màng tế bào hồng cầu, là sự thiếu hụt enzyme phổ biến nhất liên quan đến hơn 400 triệu người trên toàn thế giới. Các tế bào hồng cầu phụ thuộc vào hoạt động G6PD để tạo NADPH bảo vệ, khi thiếu enzyme G6PD trên màng tế bào hồng cầu các tế bào hồng cầu dễ bị stress oxy hóa hơn

các tế bào khác. Ở những trẻ bị thiếu enzyme G6PD, stress oxy hóa có thể làm biến tính huyết sắc tố, gây tan máu nội mạch. Hồng cầu bị vỡ kéo theo hemoglobin bị phân hủy, vận chuyển tới thận để đào thải ra ngoài, nhưng lượng hemoglobin biến tính nhiều có thể bị tích tụ tại thận gây suy thận. Từ năm 1965, giáo sư Wong Hock Boon đã khởi xướng sàng lọc bệnh thiếu enzyme G6PD ở máu cuống rốn tại Singarpore [6]. Tại Việt Nam, chương trình sàng lọc sơ sinh bắt đầu có từ năm 1998, với dự án khu vực có tên gọi là RAS/6/032. Từ năm 2007 đến 2010, có 38.437 trẻ được hưởng lợi từ sàng lọc trước sinh và sàng lọc sơ sinh. Từ những trẻ sàng lọc này, đã xác định được một số lượng lớn nghi ngờ, từ đó tiến hành chẩn đoán xác định sớm được 2767 trẻ mắc bệnh thiếu enzyme G6PD [7]. Tại bệnh viện Sản Nhi tỉnh Quảng Ninh mỗi năm đã tiến hành sàng lọc cho hơn 5000 trẻ sơ sinh, sàng lọc G6PD đã góp phần chuẩn đoán sớm nguyên nhân thiếu máu do thiếu enzyme G6PD.

Để đảm bảo chất lượng xét nghiệm cũng như độ tin cậy của thiết bị khi thực hiện xét nghiệm sàng lọc cho bệnh nhân, phòng xét nghiệm cần xác nhận phương pháp trước khi đưa vào sử dụng. Vì vậy, đề tài này được thực hiện với mục tiêu: Áp dụng hướng dẫn EP15A3 của CLSI xác nhận phương pháp định lượng G6PD trong mẫu máu thấm khô trên hệ thống VICTOR 2D của Perkin Elmer.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu nghiên cứu

Chất liệu nghiên cứu:

- Hóa chất thực hiện.

Tên hóa chất	Lot	Hạn sử dụng
Neonatal G6PD kit	741697	05/2024
Neonatal G6PD QC	740310	04/2024

- Loại mẫu thực hiện đánh giá độ chụm, độ đúng: Mẫu nội kiểm (QC).

- Chọn mẫu: Chọn các mẫu QC ứng với 2 mức nồng độ khác nhau của nhà sản xuất.

Thiết bị: Hệ thống thiết bị sàng lọc sơ sinh bằng máu gót chân của Perkin Elmer gồm 05 thiết bị: (1) Máy đục lỗ, (2) Máy lắc ủ đĩa vi tâm, (3) Máy lắc, (4) Máy rửa, loại bỏ đĩa giấy, (5) Máy đọc huỳnh quang sử dụng chất đánh dấu huỳnh quang là phức Lanthanide.

Địa điểm và thời gian: Khoa Sinh hóa bệnh viện Sản Nhi tỉnh Quảng Ninh, từ tháng 5 năm 2022 đến tháng 8 năm 2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu thực nghiệm trong phòng xét nghiệm. Nghiên cứu này sử dụng cùng 1 thực nghiệm để đánh giá độ chụm và độ đúng của xét nghiệm sàng lọc thiếu enzyme G6PD theo hướng dẫn EP15A3. Phân tích lặp lại 5 lần/1 ngày đối với mỗi mức QC và thực nghiệm được tiến hành trong 5 ngày liên tiếp.

2.2.2. Thực nghiệm đánh giá độ chụm (Precision)

Độ chụm (còn gọi là độ tập trung) là mức độ gần đúng giữa các kết quả thực hiện độc lập trên cùng một mẫu và trong cùng một điều kiện thực hiện. Độ chụm tương ứng với khoảng cách giữa kết quả xét nghiệm riêng lẻ với trị số trung bình [8].

- Phương pháp xử lý số liệu đánh giá độ chụm (theo hướng dẫn EP15A3) gồm 4 bước

Bước 1: Test Grubbs tìm giá trị ngoại lai

Một kết quả được coi là ngoại lai khi nó nằm ngoài giới hạn của Grubbs': $Grubbs'limit = Mean \pm G \times SD$ với Mean là giá trị trung bình của số liệu thu được bao gồm cả giá trị ngoại lai, G là hệ số Grubbs tra từ bảng Grubbs table B4 trang 73 trong EP15A3, SD là độ lệch chuẩn của số liệu bao gồm cả giá trị ngoại lai.

Bước 2: Ước tính độ chụm sử dụng phân tích phương sai một chiều (ANOVA)

+ Tính tổng các bình phương (Sum of squares - SS), bậc tự do (Degrees of freedom - DF), bình phương của trung bình (Mean squares - MS) giữa các lần chạy (SS_1, DF_1, MS_1) và trong lần chạy (SS_2, DF_2, MS_2).

+ Tính phương sai giữa các lần chạy V_w và phương sai trong lần chạy V_B :

$V_w = MS_2; V_B = (MS_1 - MS_2)/n_0$ (n_0 là số lần chạy: $n_0=5$)

Bước 3: Tính độ lệch chuẩn trong lần chạy S_R , độ lệch chuẩn giữa các lần chạy S_B , độ lệch chuẩn của phòng xét nghiệm S_{WL}

$$S_R = \sqrt{V_w}, S_B = \sqrt{V_B}, S_{WL} = \sqrt{V_w + V_B}$$

+ Chuyển SD sang CV%: $CV_R = (S_R \times 100)/\text{Trung bình}$, $CV_B = (S_B \times 100)/\text{Trung bình}$, $CV_{wl} = (S_{WL} \times 100)/\text{Trung bình}$.

Bước 4: Đánh giá kết quả

+ Độ chụm ước tính của phòng xét nghiệm nhỏ hơn hoặc bằng độ chụm của nhà sản xuất công bố thì độ chụm của phòng xét nghiệm được xác nhận.

+ Độ chụm của phòng xét nghiệm lớn hơn độ chụm của nhà sản xuất công bố thì cần tính giới hạn xác nhận trên UVL (Upper verification limit).

Tính UVL gồm:

Xác định bậc tự do df cho độ lặp lại và độ chụm (df_R và df_{WL})

- $df_R = N - k$ (trong đó: N : số lần lặp lại, $k = n_0$: số lần chạy).

Hệ số F của UVL_R cho độ lặp lại được tính toán theo df_R dựa trên bảng 7 trang 29 trong EP15A3.

Với độ chụm của PXN cần tính p của NSX:

- $p = SD_{WL(NSX)} / SD_R(NSX) = \%CV_{WL} / \%CV_R$

Tra hệ số df_{WL} dựa trên bảng 6 trang 27 trong EP15A3 (dựa vào p và số lần chạy)

Hệ số F của UVL cho độ tái lặp được tính toán theo df_{WL} dựa trên bảng 7 trong EP15A3.

Giới hạn xác nhận trên $UVL = F \times SD_{WL(NSX)}$ hoặc $UVL_{wl} = F \times \%CV_{wl}(NSX)$

Nếu độ lặp lại và độ chụm của PXN nhỏ hơn hoặc bằng UVL thì độ chụm của NSX công bố được xác nhận trong điều kiện của PXN.

Độ chụm thực nghiệm lớn hơn giới hạn xác nhận trên UVL thì PXN cần tiến hành hành động khắc phục tiến hành thực nghiệm phân tích lại hoặc có thể tiến hành thực nghiệm lớn hơn theo EP05.

2.3. Thực nghiệm đánh giá độ đúng (Trueness)

Độ đúng là khái niệm chỉ mức độ gần nhau giữa kết quả đo và giá trị thực của phép đo [4][8]. Mỗi mẫu bệnh phẩm đều có giá trị thực của nó, tuy nhiên việc xác định được giá trị thực này là không thể, chỉ có thể quy ước một giá trị trung bình được lặp lại nhiều nhất là giá trị thực hay còn gọi là giá trị quy chiếu.

- Xử lý số liệu (Thực nghiệm đánh giá độ đúng được tiến hành theo hướng dẫn theo EP15A3) gồm 7 bước.

+ Tính giá trị trung bình, SD của kết quả thực nghiệm thu được.

+ Xác định standard error của giá trị đích (TV) và trung bình quan sát.

Bước 1: Tính sai số chuẩn của trung bình (se_x)

$$se_x = \sqrt{1/nRun \times (S_{wl}^2 - (nRep - 1)/nRep \times S_r^2)}$$

Trong đó: $nRun$ là số lần chạy: $nRun = 5$.

$nRep$ là số lần chạy lặp lại trên một mẫu: $nRep = 5$

Bước 2: Sai số chuẩn của giá trị đích (se_{RM}) giả định là 0 khi vật liệu sử dụng là QC.

Bước 3: Tính sai số chuẩn kết hợp (se_c):

$$se_c = \sqrt{se_x^2 + se_{RM}^2}$$

Do $se_{RM} = 0$ nên $se_c = se_x$

Bước 4: Tính bậc tự do kết hợp (df_c):

$$df_x = nRun - 1 = 5 - 1 = 4$$

$$df_c = df_x = 4 \text{ (vì } se_c = se_x)$$

Bước 5: Cài đặt hệ số nhân m với $\alpha = 0,05$ và 4 bậc tự do

$$m = t1 - \alpha/2, nSam, df_c$$

Bước 6: Tính khoảng xác nhận (VI – Verification interval)

$$VI = TV \pm m \times se_c$$

Bước 7 (Đánh giá): Nếu trung bình số liệu thực nghiệm nằm trong khoảng xác nhận của giá trị đích thì độ đúng được xác nhận phù hợp với nhà sản xuất.

Trong trường hợp trung bình số liệu thực nghiệm nằm ngoài khoảng xác nhận, độ lệch nhỏ hơn độ lệch cho phép mà PXN đã lựa chọn, độ đúng được xác nhận, nếu độ lệch lớn hơn độ lệch cho phép mà PXN đã lựa chọn, PXN cần liên hệ với nhà sản xuất.

2.4. Xử lý số liệu

Sử dụng phần mềm SPSS 20.0 để xử lý và phân tích số liệu.

2.5. Đạo đức nghiên cứu

- Nghiên cứu không có sự can thiệp trên người bệnh.

- Số liệu thu thập được trong nghiên cứu chỉ dùng trong việc đánh giá chất lượng thiết

bị sàng lọc tại khoa Sinh hóa, Bệnh viện Sản Nhi tỉnh Quảng Ninh.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định độ chụm theo hướng dẫn EP15A3

Bảng 1. Kết quả thực nghiệm xác nhận phương pháp đo hoạt độ G6PD

QC1 (Normal) Mean NSX 6,2 U/gHb	Hoạt độ G6PD (U/gHb)					Mean	SD
	Lần chạy 1	Lần chạy 2	Lần chạy 3	Lần chạy 4	Lần chạy 5		
Ngày 1	6,33	6,21	6,18	6,34	6,25	6,25	0,071
Ngày 2	6,17	6,21	6,35	6,20	6,30	6,21	0,075
Ngày 3	6,19	6,24	6,30	6,26	6,21	6,24	0,043
Ngày 4	6,32	6,39	6,15	6,29	6,27	6,29	0,083
Ngày 5	6,13	6,21	6,16	6,22	6,15	6,11	0,039
Mean, SD						6,24	0,070
QC2 (Abnormal) Mean NSX 1,3 U/gHb	Lần chạy 1	Lần chạy 2	Lần chạy 3	Lần chạy 4	Lần chạy 5	Mean	SD
	Lần chạy 1	Lần chạy 2	Lần chạy 3	Lần chạy 4	Lần chạy 5		
Ngày 1	1,33	1,30	1,29	1,31	1,35	1,31	0,024
Ngày 2	1,28	1,32	1,37	1,29	1,32	1,32	0,035
Ngày 3	1,29	1,34	1,36	1,39	1,31	1,34	0,039
Ngày 4	1,34	1,36	1,28	1,29	1,33	1,33	0,033
Ngày 5	1,27	1,32	1,32	1,36	1,30	1,32	0,032
Mean, SD						1,32	0,031

Nhận xét: Trong kết quả thực nghiệm xác định độ chụm không có giá trị QC G6PD nào nằm ngoài dải của Grubbs' limit vì vậy không có giá trị nào bị loại bỏ.

Bảng 2. Kết quả phân tích phương sai một chiều - ANOVA

	Nguồn biến thiên	SS	σ^2	SD	CV	DF	MS
QC1	Giữa các lần chạy	0,035	0,004	0,063	0,51%	4	0,009 (MS ₁)
	Trong lần chạy	0,085	0,001	0,032	1,01%	20	0,004 (MS ₂)
	Toàn phần	0,120		0,071	1,14%	24	
QC2	Giữa các lần chạy	0,002	0	0	0%	4	0,000 (MS ₁)
	Trong lần chạy	0,022	0,001	0,032	2,42%	20	0,001 (MS ₂)
	Toàn phần	0,024		0,032	2,42%	24	

SS (Sum of squares): Tính tổng các bình phương; σ^2 (Variance): Phương Sai; SD (Standard deviation): độ lệch chuẩn; CV (Coefficient of variation): hệ số biến thiên; DF (Degrees of freedom): bậc tự do; MS (Mean squares): bình phương của trung bình.

Nhận xét: Kết quả phân tích phương sai một chiều cho QC1 và QC2 có MS (giữa các lần chạy) lần lượt là 0,009 và 0,000, MS (trong các lần chạy) lần lượt là 0,004 và 0,001.

Bảng 3. Kết quả so sánh độ chụm với công bố của nhà sản xuất

QC	Mean NSX (U/gHb)	Mean thực nghiệm (U/gHb)	N	Độ chụm phòng xét nghiệm			
				CV ước tính	CV công bố NSX	Giới hạn xác nhận	Đánh giá
QC1	6,2	6,24	25	1,14%	5,3%	6,94%	Đạt
QC2	1,3	1,32	25	2,42%	13,8%	18,08%	Đạt

Nhận xét: Độ chụm ước tính của PXN với 2 mức QC lần lượt là QC1 ($CV_{WL}=1,14\%$), QC2 ($CV_{WL}=2,42\%$) thấp hơn so với công bố của nhà sản xuất với QC1 (Normal) là 5,3% và QC2 (Abnormal)

là 13,8% (Bảng 3). Do vậy độ chụm được xác nhận mà không cần tính giới hạn xác nhận cho độ chụm ở thực nghiệm này.

3.2. Xác định độ đúng của xét nghiệm sàng lọc G6PD

Bảng 4. Kết quả xác nhận độ đúng xét nghiệm G6PD theo hướng dẫn EP15A3

Giá trị thu được	QC1	QC2
Sai số chuẩn của TB (se_X)	0,019	0,006
Sai số chuẩn của giá trị đích (se_{RM})	0	0
Sai số chuẩn kết hợp (se_C)	0,019	0,006
Hệ số nhân	4	4
Khoảng xác nhận (U/gHb)	6,153 – 6,286	1,299 - 1,341
Mean số liệu thực nghiệm (U/gHb)	6,24	1,32
Đánh giá	Đạt	Đạt

Nhận xét: Giá trị Mean thực nghiệm đối với QC1 (Normal) là 6,24 U/gHb nằm trong khoảng xác nhận tính toán theo hướng dẫn EP15A3 (6,153 – 6,286 U/gHb), độ đúng của phương pháp xét nghiệm G6PD được xác nhận với giá trị QC1 (Normal). Giá trị Mean thực nghiệm đối với QC2 (Abnormal) là 1,32 U/gHb nằm trong khoảng xác nhận tính toán theo hướng dẫn EP15A3 (1,299 - 1,341 U/gHb), độ đúng của phương pháp xét nghiệm G6PD được xác nhận với giá trị QC2 (Abnormal)

IV. BÀN LUẬN

Thực hành chất lượng tốt đòi hỏi các phòng xét nghiệm phải có các quy trình thẩm định hoặc xác nhận phương pháp có thể truy nguyên theo hướng dẫn quốc gia hoặc quốc tế. Có nhiều tài liệu hướng dẫn xác nhận giá trị sử dụng của phương pháp. Thực tế cho thấy, các phòng xét nghiệm ở Việt Nam hiện đang sử dụng các tài liệu khác nhau và gặp rất nhiều khó khăn trong việc xác nhận

phương pháp xét nghiệm. Nhiều phòng xét nghiệm trên thế giới đã áp dụng các hướng dẫn của CLSI cho việc xác nhận hiệu năng phương pháp. Nghiên cứu này áp dụng các hướng dẫn EP15A3 của CLSI để tiến hành đánh giá độ chụm, độ đúng đối với xét nghiệm G6PD trên hệ thống sàng lọc của Perkin Elmer [4, 5].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, kết quả hệ số biến thiên độ chụm của hệ thống xét nghiệm được chấp nhận. CV độ chụm ước tính QC1 (Normal) và QC2 (Abnormal) của xét nghiệm G6PD tại phòng xét nghiệm chúng tôi lần lượt là 1,14%, 2,42%, độ chụm tốt hơn so với thiết bị của nghiên cứu Nguyễn Thị Phương Cúc và cộng sự, nhỏ hơn CV độ chụm nhà sản xuất công bố đối với QC1 (Normal) và QC2 (Abnormal) lần lượt là 5,3% và 13,8% [1]. Độ chụm của phương pháp được xác nhận.

Tuy nhiên khi thực nghiệm nếu CV thực nghiệm lớn hơn CV nhà sản xuất công bố thì PXN cần tính giới hạn xác nhận trên UVL

(Upper verification limit) của phương pháp theo hướng dẫn EP15A3. Nếu CV thực nghiệm nhỏ hơn giới hạn xác nhận thì độ chụm của phương pháp được chấp nhận. Áp dụng hướng dẫn EP15A3 ước lượng xác nhận giới hạn trên UVL%, với QC1 và QC2 trong nghiên cứu của chúng tôi lần lượt là 6,94% và 18,08% (Bảng 3). Với kết quả ước lượng này, khi so sánh giá trị CV thực nghiệm của QC1, QC2 trong nghiên cứu, chúng tôi thấy giá trị CV thực nghiệm nhỏ hơn giá trị CV nhà sản xuất đã công bố đồng thời nhỏ hơn rất nhiều giới hạn xác nhận UVL ước lượng được theo hướng dẫn EP15A3. Do vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi không cần tính giới hạn xác nhận độ chụm (UVL). Nếu CV độ chụm thực nghiệm lớn hơn CV của giới hạn xác nhận ước tính (UVL) thì PXN cần tiến hành hành động khắc phục và tiến hành thực nghiệm phân tích lại hoặc có thể tiến hành thực nghiệm lớn hơn theo EP05 hoặc liên hệ với nhà cung cấp để hỗ trợ.

Độ đúng là khái niệm chỉ mức độ gần nhau giữa kết quả đo và giá trị thực của phép đo. Thực nghiệm đánh giá độ đúng sử dụng cùng giá trị thu được từ đánh giá độ chụm. Với phân tích 2 nồng độ QC theo công thức (5 lần chạy lặp lại x5 ngày). Độ đúng được đánh giá qua giá trị trung bình quan sát, khoảng xác nhận theo hướng dẫn EP15A3. Nếu giá trị trung bình quan sát nằm trong khoảng xác nhận thì độ đúng của phương pháp được xác nhận. Trong nghiên cứu của chúng tôi giá trị trung bình quan sát của 2 mức QC nằm trong khoảng xác nhận (Bảng 4). Như vậy kỹ thuật định lượng thiếu enzyme G6PD bằng mẫu máu thấm khô được xác nhận về độ đúng.

V. KẾT LUẬN

Xác nhận phương pháp định lượng thiếu enzyme G6PD máu thấm khô bằng Neonatal G6PD kit trên thiết bị VICTOR 2D của

Perkin Elmer tại khoa Sinh hóa Bệnh viện Sản Nhi tỉnh Quảng Ninh đáp ứng độ chụm, độ đúng của nhà sản xuất.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Mai Trần Thị Chi, Cúc Nguyễn Thị Phương.** Xác định giá trị sàng lọc thiếu Glucose-6-phosphate dehydrogenase của phương pháp đo hoạt động enzyme trên mẫu máu thấm khô. Tạp Chí Nghiên Cứu Học. 2021; 143(7):1-7. doi: 10.52852/tencyh.v143i7.646.
2. **International Organization for Standardization.** Medical laboratories: Particular requirements for quality and competence. ISO 15189. International Organization for Standardization (ISO), Geneva; 2012.
3. **James O. Westgard, PhD.** Basic Method Validation, 3rd Edition. Westgard QC, Inc., Copyright ©2008; 19: 221 – 240.
4. **Clinical and Laboratory Standards Institute.** User verification of precision and estimation of bias; approved guideline – 3rd (ed). CLSI document EP15 – A3. Wayne, PA, USA: CLSI; 2014.
5. **Chakravarthy SN, Ramanathan S, S S, Nallathambi T, S M.** EP15A3 Based Precision and Trueness Verification of VITROS HbA1C Immunoassay. Indian J Clin Biochem IJCB. 2019;34(1):89-94. doi:10.1007/s12291-017-0712-z.
6. **Padilla CD, Therrell BL.** Newborn screening in the Asia Pacific region. J Inherit Metab Dis. 2007;30(4):490-506. doi:10.1007/s10545-007-0687-7.
7. **181,865 Vietnamese Kids Benefit Newborn Screening Programs | VUFO - NGO Resource Centre Vietnam.** Accessed May 21, 2023. <https://www.ngocentre.org.vn/news/181865-vietnamese-kids-benefit-newborn-screening-programs>.
8. **Álvarez SI, Andreu FAB.** Procedures for Validation of Diagnostic Methods in Clinical Laboratory Accredited by ISO 15189. Mod Approaches Qual Control. Published online November 9, 2011. doi:10.5772/19762

ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH BỘ MẪU HUYẾT THANH ĐÔNG KHÔ DÙNG TRONG NGOẠI KIỂM VIÊM GAN B VÀ C

Nguyễn Văn Chinh¹, Nguyễn Thị Tú Anh², Nguyễn Thị Kiều Oanh³,
Văn Hy Triết¹, Nguyễn Văn Hoàng Sơn⁴, Lâm Hà Văn Tùng¹,
Đặng Hùng Linh², Bùi Thị Lệ Xuân², Đậu Thị Xuyên², Lê Văn Chương²

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá đặc tính gồm tính đồng nhất của toàn bộ mẫu, độ ổn định bảo quản, ổn định vận chuyển của mẫu huyết thanh đông khô dùng trong chương trình ngoại kiểm viêm gan B và C.

Đối tượng – phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trên bộ mẫu dương tính với viêm gan B và C từ huyết thanh sau quá trình chuyển đổi huyết tương. Đánh giá tính đồng nhất và độ ổn định mẫu trong quá trình bảo quản, vận chuyển của bộ mẫu sau khi đông khô bằng kiểm định oneway ANOVA và t-test.

Kết quả: Bộ mẫu gồm 3 lô. L1: Anti-HBs (+), Anti-HCV (+). L2: HBsAg (+), Anti-HBc total (+), Anti-HBe (+). L3: HBsAg (+), Anti-HBc total (+), HBeAg (+). Cả 3 lô đều đạt tính đồng nhất theo phép kiểm định oneway ANOVA p value lần lượt là L1 (0,23; 0,11); L2 (0,66; 0,50; 0,50); L3 (0,18; 0,50; 0,92) (95%). Độ ổn định bảo quản và vận chuyển theo phép kiểm

định t-test đều cho p value > 0,05. Mẫu đạt ổn định bảo quản ổn định bảo quản trong 3 tháng tại 2 mức nhiệt độ -20°C và 2-8°C, đạt độ ổn định vận chuyển đến 6 ngày ở cả điều kiện lạnh có đá gel và điều kiện không có đá gel.

Kết luận: Từ kết quả nghiên cứu cho thấy đặc tính mẫu huyết thanh đông khô viêm gan B và C đạt tính đồng nhất và độ ổn định trong điều kiện bảo quản và vận chuyển. Kết quả bộ mẫu sau đánh giá là nền tảng để tiếp tục xây dựng quy trình và ứng dụng vào chương trình ngoại kiểm theo tiêu chuẩn ISO 17043:2010.

Từ khóa: Huyết thanh đông khô, Viêm gan B và C, Ngoại kiểm.

SUMMARY

EVALUATION OF CHARACTERISTICS OF LYOPHILIZED SERUM SAMPLES FOR EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT OF HEPATITIS B AND C

Objectives: The evaluation of lyophilized serum samples used in the external quality assessment (EQA) program for hepatitis B and C is crucial to ensure accurate and reliable laboratory testing. This study aimed to assess the homogeneity, storage stability, and transport stability of these samples.

Subjects and research methods: An experimental study was conducted using positive serum samples with hepatitis B and C markers after plasma conversion. The homogeneity, storage stability and transport stability of the

¹Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

²Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - Đại học Y Dược TP.HCM

³Bệnh viện Đa khoa Đồng Nai

⁴Trung tâm Xét nghiệm Y khoa iLab

Chịu trách nhiệm chính: Lê Văn Chương
SĐT: 0989981145

Email: chuongmedtech@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

samples were evaluated using one-way ANOVA and t-tests.

Results: The lyophilized serum sample set consisted of three lots, each with different hepatitis B and C markers. L1: Anti-HBs (+), Anti-HCV (+). L2: HBsAg (+), Anti-HBc total (+), Anti-HBe (+). L3: HBsAg (+), Anti-HBc total (+), HBeAg (+). The homogeneity analysis revealed consistent results within each lot according to One-way ANOVA p values is as follows: L1 (0,23; 0,11); L2 (0,66; 0,50; 0,50); L3 (0,18; 0,50; 0,92) (95%). The storage stability and transport stability according to t-test both yielded p values > 0,05. Storage stability and transport stability tests indicated that the samples remained stable over a three-month storage period at temperatures of -20°C and 2-8°C. Additionally, the samples demonstrated transport stability for up to six days under both cold conditions with ice packs and cold conditions without ice packs.

Conclusion: The evaluated lyophilized serum samples used in the external quality assessment program for hepatitis B and C exhibited characteristics of homogeneity, storage stability, and transport stability. These findings support their suitability for use in EQA programs according to ISO 17043:2010 standards. The results of this study provide a foundation for further development and application of these samples in proficiency testing for hepatitis B and C diagnostics.

Keywords: Lyophilized serum, Hepatitis B and C, External Quality Assessment.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ước tính có khoảng 354 triệu người trên toàn thế giới sống chung với viêm gan B hoặc C [8]. Viêm gan B và C là vấn đề y tế mang tính chất toàn cầu nhưng chỉ 10% trong tổng số những người bị nhiễm vi rút

viêm gan B mãn tính được chẩn đoán, 22% trong số họ được điều trị. Đối với nhiễm viêm gan C, tỷ lệ này tương ứng lần lượt là 21%, 62%. Từ tỷ lệ trên, cho thấy việc chẩn đoán phát hiện bệnh còn khá thấp so với tiến bộ khoa học công nghệ ngày nay [6]. Vì vậy để hỗ trợ chẩn đoán và điều trị thì nâng cao chất lượng xét nghiệm là một việc cần thiết, đồng thời cũng là quy định bắt buộc theo Thông tư 01/2013/TT-BYT ngày 11/01/2013 của Bộ trưởng Bộ Y tế về “Hướng dẫn thực hiện quản lý chất lượng xét nghiệm tại cơ sở khám bệnh, chữa bệnh”.

Ngoại kiểm là một công cụ hữu hiệu trong việc kiểm soát chất lượng xét nghiệm, giúp đánh giá một cách khách quan, xem xét và khắc phục các sai số kịp thời, đồng thời là yêu cầu bắt buộc đối với cơ sở khám chữa bệnh có phòng xét nghiệm. Ở nước ta hiện nay, tuy đã cung cấp các chương trình ngoại kiểm viêm gan B và C ở dạng lỏng đông lạnh nhưng gặp nhiều khó khăn trong quá trình vận chuyển, tăng chi phí bảo quản và vận chuyển mẫu, kèm nguy cơ mất an toàn sinh học cao gây khó khăn cho các đơn vị tham gia. Để đánh giá tốt chất lượng các xét nghiệm và giải quyết những khó khăn trên việc sản xuất mẫu huyết thanh học đông khô là cần thiết, nhằm đáp ứng được nhu cầu ngoại kiểm trong nước, tạo điều kiện thuận lợi các đơn vị tham gia chương trình, góp phần nâng cao chất lượng xét nghiệm. Với những lý do trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Đánh giá đặc tính bộ mẫu huyết thanh đông khô dùng trong ngoại kiểm Viêm gan B và C.”

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu: Các mẫu huyết tương dương tính với một hoặc nhiều thông số: HBsAg, Anti-HBs, HBeAg, Anti-HBe,

Anti-HBc total, Anti-HCV sau khi được sàng lọc theo quy định Thông tư 26/2013/TT-BYT thu thập từ ngân hàng máu và được lưu trữ -80 °C tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học – Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh từ tháng 10/2022 đến tháng 6/2023.

Y đức của nghiên cứu: Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh theo quyết định số 797/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 26 tháng 10 năm 2022

Phương pháp nghiên cứu:

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm.

Tạo bộ mẫu

Mẫu huyết tương thu thập từ ngân hàng máu sau đó được rã đông tự nhiên ở nhiệt độ phòng. Huyết tương sẽ được chuyển đổi thành huyết thanh bằng cách sử dụng Calcium chloride và Kaolin [7]. Sau đó đánh giá các thông số HBsAg, Anti-HBs, HBeAg, Anti-HBe, Anti-HBc total, Anti-HCV bằng hệ thống máy xét nghiệm miễn dịch tự động Roche Cobas 6000

Bộ mẫu huyết thanh được chọn theo mô hình bệnh tật và bổ sung thêm chất ổn định đông khô trehalose, albumin với đặc điểm như sau: [1] [3].

Lô 1 (Chủng ngừa VG B chủ động và VG C): Anti-HBs (+), Anti-HCV (+).

Lô 2 (VG B mạn giai đoạn không hoạt động): HBsAg (+), Anti-HBc total (+), Anti-HBe (+).

Lô 3 (VG B mạn giai đoạn hoạt động): HBsAg (+), Anti-HBc total (+), HBeAg (+).

Đông lạnh mẫu: Các lô mẫu được trộn đều bằng máy khuấy từ, sau đó chia nhỏ 1000 µL vào mỗi lọ thủy tinh, đóng nắp cao su, dán nhãn. Lọ mẫu được đông lạnh ở nhiệt độ -80°C.

Đông khô mẫu: Mẫu đông lạnh sẽ được chuyển vào máy đông khô Freezone Console model FreeZone 6 Liter (Labconco – Mỹ), cài đặt chương trình đông khô với 2 giai đoạn:

- Giai đoạn sấy sơ cấp: áp suất trong buồng sấy giảm và nhiệt được cung cấp để thúc đẩy sự thăng hoa của nước chứa trong sản phẩm.

- Giai đoạn thứ cấp: nhiệt độ được nâng lên và áp suất được giảm hơn nữa nhằm thăng hoa hết lượng hơi nước còn sót lại ở giai đoạn sấy sơ cấp.

Tiêu chuẩn chất lượng: Về mặt cảm quan, mẫu tạo thành khối tròn đều, không ẩm, toàn vẹn cấu trúc, hình dạng tương đồng khi ở trạng thái cấp đông, dung dịch sau hoàn nguyên không có sợi tơ huyết, không vẩn đục.

Đóng nắp và bảo quản: Tiến hành đóng nắp các lọ mẫu đã đông khô và bảo quản theo các nhiệt độ cần nghiên cứu.

Đánh giá đặc tính

Bộ mẫu sau khi sản xuất được đánh giá tính đồng nhất bằng cách lấy 10 mẫu ngẫu nhiên từ mỗi lô. Độ ổn định được đánh giá bằng cách lấy 3 mẫu ngẫu nhiên từ mỗi lô. Độ ổn định được đánh giá trong 2 trường hợp, ổn định bảo quản ở nhiệt độ (-20 °C và 2-8 °C) thời điểm 1, 2, 3 tháng và ổn định vận chuyển mẫu được đóng gói ở điều kiện (có và không có đá gel) gửi từ Trung tâm tới Đơn vị ở các vùng địa lý khác nhau theo hợp đồng với đơn vị vận chuyển Viettel. Đơn vị nhận được mẫu sẽ chuyển hoàn lại Trung tâm. Trung tâm nhận lại mẫu và thực hiện đánh giá độ ổn định vận chuyển theo thời gian là thời điểm 2, 4, 6 ngày. Tất cả các mẫu được đánh giá lặp lại 2 lần bằng phương pháp điện hóa phát quang trên máy Roche Cobas 6000 để đánh giá độ lặp xét nghiệm.

Cỡ mẫu: Theo hướng dẫn của tiêu chuẩn ISO 13528:2015 và ISO guide 35:2006

- Đánh giá tính đồng nhất 10 mẫu/lô: $10 \times 03 \text{ (lô)} = 30 \text{ mẫu (a)}$

- Đánh giá độ ổn định vận chuyển: 03 mẫu/lô/thời điểm, (lựa chọn 6 thời điểm bằng cách đánh giá mẫu ở 2 điều kiện vận chuyển có đá gel và không có đá gel và tiến hành đánh giá nồng độ ở 3 mốc thời gian 2 ngày, 4 ngày, 6 ngày: $03 \text{ (mẫu)} \times 03 \text{ (lô)} \times 06 \text{ (thời điểm)} = 54 \text{ mẫu (b)}$.

- Đánh giá độ ổn định bảo quản: 3 mẫu/lô/thời điểm (lựa chọn 6 thời điểm bằng cách đánh giá mẫu ở 2 mức nhiệt độ bảo

quản -200C, 2-8 oC và tiến hành đánh giá nồng độ ở 3 mốc thời gian 1 tháng, 2 tháng và 3 tháng): $03 \text{ (mẫu)} \times 03 \text{ (lô)} \times 6 \text{ (thời điểm)} = 54 \text{ mẫu (c)}$.

Như vậy, cỡ mẫu trong suốt quá trình nghiên cứu: $[(a) + (b) + (c) \times 105\% \approx 145 \text{ mẫu}]$ (lựa chọn xác suất thất lạc, hư hỏng do vận chuyển, gửi mẫu lại là 5%).

Phân tích số liệu: Số liệu được thu thập trên cỡ mẫu cần phân tích, được ghi nhận và quản lý bằng file Excel. Sử dụng phép kiểm t-test, one-way ANOVA trên phần mềm thống kê STATA 14.2.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Sau khi hoàn tất quá trình đông khô, tiến hành đánh giá đặc tính mẫu bằng cách hoàn nguyên mỗi mẫu với 1000 mL nước cất. Kết quả đánh giá tính đồng nhất được thể hiện trong bảng 1.

Bảng 1: Kết quả đánh giá tính đồng nhất lô 1, lô 2 và lô 3

Lọ mẫu	Lô 1		Lô 2			Lô 3		
	Anti-HBs (mIU.mL)	Anti-HCV (COI)	HbsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	Anti-HBe (S/CO)	HbsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	HBeAg (S/CO)
	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB	TB
1	358,9	24,90	2230	0,0150	0,002	1808	965	1043
2	347,5	25,6	2245	0,0145	0,002	1806	1047	1118,5
3	363,9	26,51	2214	0,0150	0,002	1839	1044	1123,5
4	383,1	26,45	2276	0,0155	0,002	1798	1070	1153
5	358,3	26,75	2216	0,0150	0,002	1826	1075	1145,5
6	356,8	26,93	2260	0,0155	0,002	1812	1053	1102,5
7	352,3	26,97	2281	0,0150	0,002	1807	1090	1141
8	363,8	26,62	2259	0,0150	0,0025	1822	1084	1085
9	356,4	26,49	2264	0,0150	0,002	1830	1131	1168
10	358,8	26,73	2238	0,0155	0,002	1820	1113	1141
Mean	360,0	26,39	2248	0,0151	0,0021	1817	1067	1122
p value	p =0,23	p=0,11	p=0,66	p=0,50	p=0,50	p=0,18	p=0,50	p=0,92
Đạt đồng nhất $p>0,05$	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt	Đạt

Nhận xét: Theo Bảng 1, đánh giá tính đồng nhất được thực hiện bằng kiểm định Oneway ANOVA với kết quả lô 1, 2 và 3 đều cho $p > 0,05$ đảm bảo tính đồng nhất cả 3 lô. Bắt đầu tiến hành đánh giá độ ổn định

bảo quản và độ ổn định vận chuyển sau khi cả 3 lô đều đảm bảo tính đồng nhất. Kết quả đánh giá độ ổn định tại thời điểm đánh giá được so sánh với số liệu đánh giá tính đồng nhất được thể hiện qua bảng 2 và 3.

Bảng 2: Đánh giá độ ổn định khi bảo quản ở mức nhiệt độ và thời điểm khác nhau

Nhiệt độ		-20°C						2-8°C									
		Thời gian		Lô 1		Lô 2		Lô 3		Thời gian		Lô 1		Lô 2		Lô 3	
		Mean	p-value	Anti-HBs (mIU.mL)	Anti-HCV (COI)	HBsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	Anti-HBe (S/CO)	HBsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	HBsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	HBsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	HBsAg (S/CO)	Anti-HBc Total (S/CO)	HBsAg (S/CO)
T°		1 tháng	1 tháng	1 tháng	1 tháng	1 tháng	1 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng	2 tháng
Mean:	359,9	354,7	353,6	357,9	353,1	353,8	354,8	0,31	0,24	0,26	0,18	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
		0,31	0,21	0,70	0,18	0,24	0,31	0,24	0,26	0,18	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24	0,24
Mean:	26,39	26,41	26,00	26,20	26,92	26,53	26,24	0,68	0,67	0,58	0,13	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
		0,96	0,26	0,58	0,13	0,67	0,68	0,67	0,58	0,13	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67	0,67
Mean:	2248	2217	2219	2230	2258	2266	2275	0,18	0,27	0,43	0,59	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
		0,15	0,14	0,43	0,59	0,27	0,18	0,27	0,43	0,59	0,59	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27	0,27
Mean:	0,0151	0,148	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
		0,20	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59
Mean:	0,0021	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002	0,002
		0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60	0,60
Mean:	1817	1807	1809	1807	1810	1815	1818	0,87	0,80	0,18	0,52	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
		0,21	0,27	0,18	0,52	0,80	0,87	0,80	0,80	0,18	0,52	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80	0,80
Mean:	0,0143	0,014	0,0143	0,0145	0,0146	0,0143	0,0143	0,88	0,88	0,39	0,12	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
		0,14	0,88	0,39	0,12	0,88	0,88	0,88	0,88	0,39	0,12	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88	0,88
Mean:	11	1135	1099	1135	1114	1095	1096	0,40	0,39	0,69	0,79	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39
		0,78	0,48	0,69	0,79	0,39	0,40	0,39	0,39	0,69	0,79	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39	0,39

T°: Thời điểm đánh giá tính đồng nhất

Nhận xét: Theo Bảng 2, kết quả đánh giá độ ổn định bảo quản tại từng thời điểm lần lượt được so sánh với giá trị T° (thời điểm đánh giá tính đồng nhất) bằng kiểm định t-test đều cho kết quả $p > 0,05$. Lô 1, 2, 3 đều đạt độ ổn định khi bảo quản ở nhiệt độ (-20 °C và 2-8 °C) thời điểm 1, 2 và 3 tháng.

Bảng 3: Đánh giá độ ổn định khi vận chuyển ở mức nhiệt độ và thời điểm khác nhau

	Điều kiện						Có đá gel						Không đá gel							
	Thời gian						Lô 1		Lô 2				Lô 3		Lô 1		Lô 2		Lô 3	
	Anti-HBs (mIU.mL)		Anti-HCV (COI)		HBsAg (S/CO)		Anti-HBc Total (S/CO)		Anti-HBe (S/CO)		HBsAg (S/CO)		Anti-HBc Total (S/CO)		HBsAg (S/CO)		Anti-HBc Total (S/CO)		HBsAg (S/CO)	
T°	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value	Mean	p-value
Mean: 359,9	363,7	0,53	363,9	0,49	363,2	0,55	352,0	0,15	353,6	0,26	26,22	0,64	26,89	0,15	26,41	0,96	26,16	0,55	25,89	0,16
Mean: 26,39	2268	0,28	2240	0,65	2268	0,28	2230	0,45	2254	0,73	0,0152	0,0152	0,0183	0,20	0,0152	0,75	0,1483	0,0150	0,0150	0,67
Mean: 2248	0,002	0,59	0,002	0,59	0,002	0,59	0,002	0,002	0,002	0,002	0,59	0,59	0,002	0,59	0,002	0,59	0,002	0,002	0,002	0,59
Mean: 0,0151	1810	0,36	1831	0,13	1805	0,25	1820	0,66	1825	0,25	0,0142	0,014	0,014	0,14	0,014	0,22	0,014	0,014	0,014	0,22
Mean: 0,0021	1114	0,81	1084	0,27	1085	0,36	1164	0,19	1101	0,52	1810	0,36	1810	0,50	1810	0,59	1810	0,50	1810	0,59
Mean: 1817	0,0143	0,54	0,014	0,22	0,014	0,22	0,014	0,14	0,014	0,22	1114	0,81	1084	0,27	1085	0,36	1164	0,19	1101	0,52
Mean: 1122	0,81	0,27	0,21	0,21	0,36	0,36	0,19	0,19	0,52	0,52	1810	0,36	1810	0,50	1810	0,59	1810	0,50	1810	0,59

T° : Thời điểm đánh giá tính đồng nhất

Nhận xét: Theo Bảng 3, kết quả đánh giá độ ổn định vận chuyển tại từng thời điểm lần lượt được so sánh với giá trị T° (thời điểm đánh giá tính đồng nhất) bằng kiểm định t-test đều cho kết quả $p > 0,05$. Lô 1, 2 và 3 đều đạt độ ổn định khi bảo quản ở điều kiện (có và không có đá gel) đến 6 ngày.

IV. BÀN LUẬN

Dựa theo tiêu chuẩn ISO 13528:2015 [2], tiến hành đánh giá đồng nhất bằng việc lấy ngẫu nhiên ít nhất 10 mẫu trên mỗi lô để đánh giá, chạy lặp lại 2 lần để phân tích độ lặp của xét nghiệm. Nghiên cứu cho thấy, trung bình kết quả 2 lần chạy của 10 mẫu không có sự khác biệt (ANOVA, p-value $> 0,05$). Kết luận mẫu hoàn toàn đồng nhất sau đông khô, có thể tiến hành đánh giá ổn định.

Đánh giá độ ổn định vận chuyển cho thấy các mẫu đều đảm bảo ổn định trong thời gian 2 ngày, 4 ngày và 6 ngày ở cả điều kiện vận chuyển có đá gel và không đá gel (t-test, p-value $> 0,05$). Kết quả này phù hợp nghiên cứu của Tonnis WF và cộng sự chứng minh rằng mẫu đông khô viêm gan B ổn định ở cả nhiệt độ phòng và nhiệt độ cao 60°C [5].

Đánh giá độ ổn định bảo quản cho thấy các mẫu đều đảm bảo ổn định trong 3 tháng ở cả nhiệt độ -20°C và $2-8^{\circ}\text{C}$ (t-test, p-value $> 0,05$). So sánh với kết quả nghiên cứu của Dimisky và cộng sự HBsAg đông khô có thể ổn định lên đến 18 tháng ở các nhiệt độ khác nhau[4]. Bằng việc đánh giá độ ổn định của mẫu trong thời gian lên đến 3 tháng, với khoảng thời gian trên nhà cung cấp ngoại kiểm có thể hoàn thành việc thực hiện ngoại

kiểm từ lúc phòng xét nghiệm tham gia đến khi kết thúc việc phân tích kết quả và ghi nhận phản hồi.

V. KẾT LUẬN

Mẫu nghiên cứu đạt tính đồng nhất, đảm bảo độ ổn định trong suốt quá trình vận chuyển 6 ngày và độ ổn định bảo quản ở nhiệt độ -20°C , $2-8^{\circ}\text{C}$ trong 3 tháng. Tóm lại, nhóm nghiên cứu đánh giá thành công đặc tính mẫu ngoại kiểm huyết thanh học đông khô viêm gan B và C theo tiêu chuẩn ISO 13528:2015. Cần đánh giá mẫu đảm bảo độ ổn định dài hơn góp phần cải thiện, tích hợp gửi mẫu, giảm chi phí vận chuyển, giảm thiểu thất lạc mẫu, nâng cao chất lượng xét nghiệm.

VI. LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Đại học Y dược Thành phố Hồ Chí Minh đã tài trợ kinh phí theo hợp đồng số 158/2022/HĐ-ĐHYD ngày 15 tháng 9 năm 2022 và Trung tâm Xét nghiệm Y khoa iLab đã hỗ trợ chúng tôi thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ Y tế (2019), Về việc ban hành hướng dẫn chẩn đoán, điều trị bệnh viêm gan vi rút B, Quyết định số: 3310/QĐ-BYT ban hành ngày 29 tháng 7 năm 2019 của Bộ trưởng Bộ Y tế, Hà Nội.
2. Tiêu Chuẩn Quốc Gia, ISO/IEC 13528:2015 (2015), Phương pháp thống kê dùng trong thử nghiệm thành thạo bằng so sánh liên phòng thí nghiệm.

3. **Brogna R, Oldenhof H, Sieme H, Figueiredo C, Kerrinnes T, Wolkers WF.** Increasing storage stability of freeze-dried plasma using trehalose. *PloS one.* 2020;15(6):e0234502.
doi:10.1371/journal.pone.0234502
4. **Diminsky D, Moav N, Gorecki M, Barenholz Y.** Physical, chemical and immunological stability of CHO-derived hepatitis B surface antigen (HBsAg) particles. *Vaccine.* Aug 20 1999;18(1-2):3-17. doi:10.1016/s0264-410x(99)00149-8
5. **Tonnis WF, Amorij JP, Vreeman MA, Frijlink HW, Kersten GF, Hinrichs WL.** Improved storage stability and immunogenicity of hepatitis B vaccine after spray-freeze drying in presence of sugars. *European journal of pharmaceutical sciences* : official journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences. May 13 2014;55:36-45.
doi:10.1016/j.ejps.2014.01.005
6. **World Health Organization** (2022), New report highlights global progress on reducing HIV, viral hepatitis and sexually transmitted infections and signals need for renewed efforts to reach 2030 targets.
7. **World Health Organization** (2004), External quality assessment of transfusion laboratory practice: guidelines on establishing an EQA Scheme in blood group serology.
8. **World Health Organization** (2022), Hepatitis.

SO SÁNH TƯƠNG ĐỒNG KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM LDL-C ĐỊNH LƯỢNG TRỰC TIẾP VÀ TÍNH TOÁN BẰNG CÔNG THỨC

Lê Hoàng Bích Nga^{1,2}, Trần Thị Thắm², Lê Thu Hằng¹,
Đỗ Thị Minh Ánh¹, Nguyễn Thị Ngọc Lan^{1,2}

TÓM TẮT

LDL-C là một xét nghiệm đo lường nồng độ cholesterol trong lipoprotein có tỷ trọng thấp (LDL-C) trong máu, được khuyến cáo sử dụng trong đánh giá nguy cơ xơ vữa động mạch và bệnh lý tim mạch (theo NCEP - ATP III)¹. LDL-C có thể được định lượng trực tiếp hoặc ước tính qua giá trị của Cholesterol toàn phần (TC), Triglycerid (TG), cholesterol trong lipoprotein có tỷ trọng cao (HDL-C); tuy nhiên cần đánh giá sự khác biệt và giá trị sử dụng của các công thức tính toán trước khi áp dụng. **Đối tượng, phương pháp nghiên cứu:** Lựa chọn 6654 bệnh nhân được thực hiện đầy đủ cả 4 chỉ số xét nghiệm lipid máu và có nồng độ Triglycerid <400mg/dL (4,5mmol/L). Đánh giá độ tương đồng kết quả giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính toán ước tính qua các công thức Friedewald (F), Hatta (H), Puavilai (P), Martin (M) và Sampson (S) qua chỉ số Diff và Delta%, phân tích tương quan Pearson, và đánh giá giá trị sử dụng của công thức theo cách phân loại nhóm nguy cơ của NCEP - ATP III. **Kết quả:** Công thức Puavilai cho kết quả LDL-C ước tính gần nhất với LDL-C định lượng trực tiếp, công thức Sampson và Martin cho kết

quả tốt hơn so với công thức Friedewald và Hatta. Sự khác biệt phần trăm Delta% giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính toán theo công thức F, H, P, M, S lần lượt là 10,93%; 17,38%; 7,15%; 8,11%; 8,18%. 4 công thức (F, P, M, S) cho kết quả ước tính LDL-C phù hợp để phân loại bệnh nhân có nguy cơ theo tiêu chuẩn NCEP - ATP III. Phân tích tương quan Pearson cho thấy có mối tương quan tốt giữa cả 5 giá trị LDL-C ước tính và giá trị LDL-C được đo trực tiếp ($r > 0,9$). Sự khác biệt kết quả xét nghiệm tăng khi nồng độ Triglycerid tăng, và tăng giảm không đều khi HDL-C tăng. Kết quả tính toán theo công thức Martin là ít ảnh hưởng nhất bởi nồng độ Triglycerid.

Từ khóa: LDL-C, so sánh tương đồng, Friedewald, Hatta, Puavilai, Martin, Sampson

SUMMARY

COMPARISON OF THE LDL-C'S RESULTS BY DIRECT QUANTIFICATION AND CALCULATION USING FORMULAS

LDL-C is a test that measures the concentration of low-density-lipoprotein cholesterol (LDL-C) in the blood, recommended for use in the assessment of the risk of atherosclerosis and cardiovascular disease (according to NCEP - ATP III)¹. LDL-C can be directly quantified or estimated through other lipid tests such as Total Cholesterol (TC), Triglyceride (TG), high-density-lipoprotein cholesterol (HDL-C), however, it is necessary to evaluate the difference and worth using of the

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thị Ngọc Lan
SĐT: 0964311285

Email: ngoclannguyen@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS.Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 11.7.2023

calculation formulas before applying. **Object and Method:** 6654 patient samples. Evaluation of the similarity of results between directly measured LDL-C and estimated calculated LDL-C through the Friedewald (F), Hatta (H), Puavilai (P), Martin (M) and Sampson (S) formulas through the Diff and Delta% index, Pearson correlation analysis, and evaluate the value of the formula according to the risk group classification of NCEP - ATP III. **Result:** The Puavilai formula gives the closest results to the direct quantitative LDL-C, the Sampson and Martin formula gives better similarity than Friedewald and Hatta. The percentage difference (Delta%) between LDL-C directly measured and LDL-C calculated by the formula F, H, P, M, S is 10.93%; 17.38%; 7.15%; 8.11%; 8.18%. Application of 4 formulas (F, P, M, S) provide appropriate LDL-C estimation results to classify patients at risk according to NCEP - ATP III criteria. Pearson correlation analysis shows good correlation between all 5 estimated LDL-C values and directly measured LDL-C values ($r > 0.9$). The difference increases as triglyceride level increases, and increases and decreases unevenly as HDL-C increases. The results calculated according to the Martin formula are least affected by the Triglyceride concentration.

Keywords: LDL-C, Method comparison, Friedewald, Hatta, Puavilai, Martin, Sampson

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lipoprotein tỷ trọng thấp (low density lipoprotein – LDL) là sản phẩm thoái hóa của VLDL trong máu. LDL có tỷ lệ Cholesterol cao và có chức năng vận chuyển phần lớn Cholesterol từ máu tới các mô để sử dụng. LDL-C trong huyết thanh cao là nguyên nhân chính của chứng xơ vữa động mạch và là yếu tố nguy cơ quan trọng đối với

bệnh tim mạch (CVD)^{1,2}. Tổ chức National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III (NCEP-ATP III) đã khuyến cáo rằng nồng độ LDL-C huyết thanh nên là yếu tố chính trong điều trị rối loạn lipid máu^{1,2}. Bệnh nhân rối loạn lipid máu nên được phân loại thành các nhóm nguy cơ theo mức độ LDL-C, do mối liên quan chặt chẽ giữa LDL-C và CVD².

Hiện nay có nhiều phương pháp để định lượng và tính toán nồng độ LDL-C. LDL-C có thể được định lượng trực tiếp bằng phương pháp so màu enzym, siêu ly tâm- β -quantification hoặc ước tính từ nồng độ các thành phần lipid khác trong máu như nồng độ cholesterol toàn phần (TC-Total Cholesterol), Triglycerid (TG) và cholesterol trên lipoprotein tỷ trọng cao (HDL-C) để làm giảm thiểu chi phí, thời gian thực hiện³. Công thức ước tính nồng độ LDL-C đầu tiên được đưa ra trên thế giới là công thức Friedewald (1972), hiện nay vẫn được sử dụng rộng rãi mặc dù còn nhiều hạn chế, đặc biệt với các mẫu có tỉ lệ VLDL cao hoặc LDL quá thấp^{2,4,5}. Nhiều nghiên cứu đã được thực hiện để đưa ra các phương trình chính xác hơn bằng cách sửa đổi công thức Friedewald ví dụ như: công thức Hatta (1986), công thức Puavilai (2009), công thức Martin (2013), công thức Sampson (2020)^{2,4,5}. Năm 2018, Đại học Tim mạch Hoa Kỳ (ACC) và Hiệp hội Tim mạch Hoa Kỳ (AHA) đã khuyến nghị công thức Martin^{2,5}. Năm 2021, Hiệp hội Hóa sinh lâm sàng Canada khuyến cáo sử dụng công thức Sampson để tính toán nồng độ LDL-C cho tất cả các bệnh nhân⁶.

Các phòng Xét nghiệm ở Việt Nam hiện

nay chủ yếu dùng phương pháp enzym để đo lường trực tiếp giá trị LDL-C, tuy nhiên phương pháp này có thể gây phát sinh thêm chi phí, thời gian cho bệnh nhân đồng thời kết quả cũng không chính xác trong trường hợp bệnh nhân mắc rối loạn lipid máu. Vì vậy, nhóm nghiên cứu khảo sát sự phù hợp các công thức tính toán khi áp dụng tính toán LDL-C, so sánh sự khác biệt nồng độ giữa LDL-C định lượng và ước tính, đánh giá tương quan, và mức độ ảnh hưởng của các chỉ số TG và HDL-C khi áp dụng công thức tính toán.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Khảo sát bệnh nhân đến khám và điều trị

tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

Thời gian: Từ tháng 04 đến hết tháng 05 năm 2023.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Bệnh nhân có chỉ định làm xét nghiệm lipid máu gồm 4 chỉ số: Cholesterol toàn phần, Triglycerid, HDL-C, LDL-C. Bệnh nhân có kết quả TG < 400 mg/dL (4,5mmol/L). Các xét nghiệm được thực hiện đồng thời trên hệ thống Cobas C702 - Roche.

2.2. Quy trình và chỉ số nghiên cứu

Bước 1: Thu thập kết quả xét nghiệm của bệnh nhân đủ tiêu chuẩn.

Bước 2: Tính toán LDL-C theo các công thức.

Thông qua các chỉ số TC, TG, HDL-C, tính được LDL-C theo từng công thức.

Bảng 1. Bảng các công thức tính toán LDL-C^{2,4,5}

Tên	Công thức	Phạm vi áp dụng
Friedewald (1972)	$LDC - C = TC - HDL - C - \frac{TG}{5} [mg/dL]$	TG < 400 mg/dL
Hatta (1986)	$LDL-C = TC - HDL-C - \frac{TG}{4} [mg/dL]$	TG < 750 mg/dL
Puavilai (2009)	$LDL-C = TC - HDL-C - \frac{TG}{6} [mg/dL]$	TG < 400 mg/dL
Martin (2013)	$LDL-C = TC - HDL-C - \frac{TG}{novel\ factor} [mg/dL]$	TG < 400 mg/dL
Sampson (2020)	$LDL - C = \frac{TG}{0.948} - \frac{HDL - C}{0.971} - \left(\frac{TG}{8.56} + \frac{TG \times nonHDL - C}{2140} - \frac{TG^2}{16100} \right) - 9.44 [mg/dL]$	TG < 800 mg/dL

Bước 3: So sánh tương đồng giữa LDL-C tính toán bằng công thức và LDL-C đo trực tiếp qua hai chỉ số Diff và Delta%. Diff là sự khác biệt tuyệt đối về giá trị LDL-C giữa phép đo trực tiếp và ước tính. Delta% là chênh lệch phần trăm giữa LDL-C đo trực tiếp và ước tính.

$$Diff = |LDL-C \text{ đo trực tiếp} - LDL-C \text{ tính toán}|$$

$$= \frac{|LDL-C \text{ đo trực tiếp} - LDL-C \text{ tính toán}| \times 100}{LDL-C \text{ đo trực tiếp}}$$

$$Delta\% = \frac{|LDL-C \text{ đo trực tiếp} - LDL-C \text{ tính toán}| \times 100}{LDL-C \text{ đo trực tiếp}}$$

Bước 4: Phân tích tương quan tuyến tính

Pearson giữa LDL-C tính toán bằng công thức và LDL-C đo trực tiếp. Kết quả được gọi là có tương quan chặt chẽ nếu $r > 0,9$.

Bước 5: Phân loại sự phù hợp của LDL-C tính theo công thức với LDL trực tiếp dựa trên tiêu chuẩn NCEP - ATP III. Dựa vào hướng dẫn phân nhóm bệnh nhân có nguy cơ theo nồng độ LDL-C của tổ chức NCEP - ATP III (các ngưỡng nồng độ 100, 130 và 160 mg/dL), nếu LDL-C ước tính và LDL-C

trực tiếp thuộc một mức phân loại thì gọi là “concordant”, nếu LDL-C ước tính được phân loại vào mức cao hơn LDL-C trực tiếp thì gọi là “overestimation”; nếu LDL-C ước tính ở mức thấp hơn LDL-C trực tiếp thì gọi là “underestimation”.

Bước 6: So sánh LDL-C tính theo công thức và LDL-C đo trực tiếp qua từng mức TG dựa trên tiêu chuẩn NCEP - ATP III. TG được phân loại theo các mức: <100 mg/dL, 100 - 149 mg/dL, 150 - 199 mg/dL, 200 - 399 mg/dL. Tính Diff và Delta% của LDL-C tính theo từng công thức ở từng mức phân loại.

Bước 7: So sánh LDL-C tính theo công thức và LDL-C đo trực tiếp qua từng mức

HDL-C dựa trên tiêu chuẩn NCEP - ATP III. HDL-C được phân loại theo các mức: < 40 mg/dL, 40 - 49 mg/dL, 50 - 59 mg/dL, ≥ 60 mg/dL. Tính Diff và Delta% của LDL-C tính theo từng công thức ở từng mức phân loại.

Bước 8: Bàn luận và kết luận

2.3. Xử lý số liệu. Số liệu được tổng hợp bằng Microsoft Excel và phân tích thống kê bằng phần mềm SPSS 26.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu thu thập 6654 mẫu bệnh nhân đạt tiêu chuẩn lựa chọn mẫu. Độ tuổi trung bình của quần thể nghiên cứu là 52.

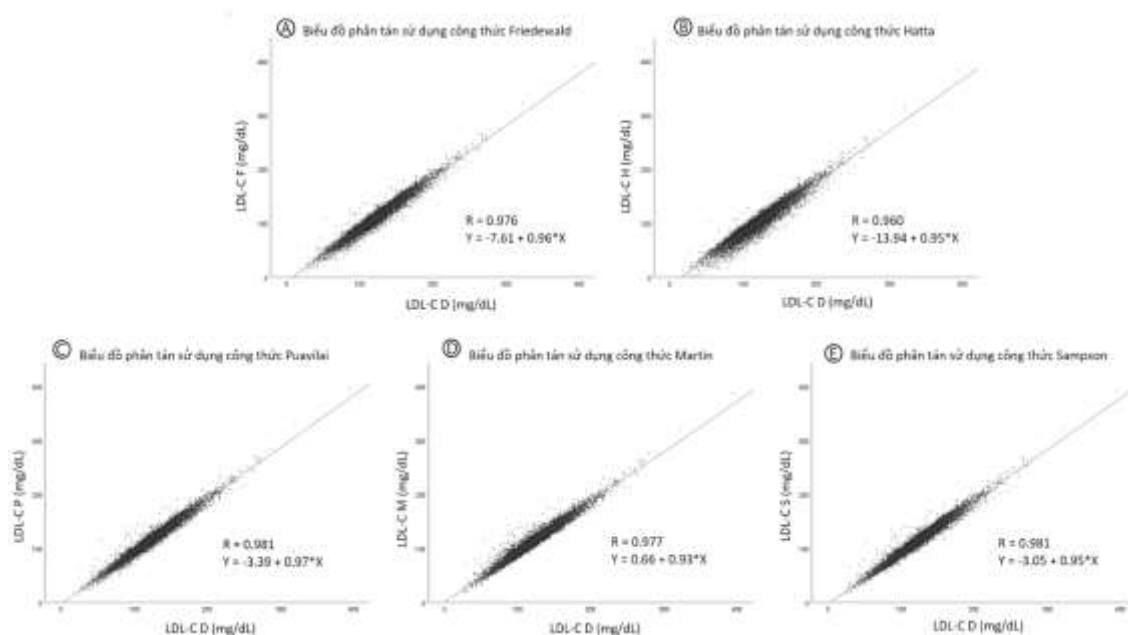
Bảng 2. Đặc điểm chung nhóm bệnh nhân nghiên cứu (n=6654)

Đặc trưng	Giá trị trung bình ± Độ lệch chuẩn
Tuổi	52,23 ± 15,02
Cholesterol toàn phần (mg/dL)	192,94 ± 40,53
Triglyceride (mg/dL)	153,24 ± 78,46
HDL-C (mg/dL)	51,26 ± 13,19
LDL-C đo trực tiếp (mg/dL) (LDL-CD)	123,18 ± 35,88

Bảng 3. Sự khác biệt giữa LDL-C tính theo từng công thức và LDL-C đo trực tiếp qua 2 chỉ số Diff và Delta %

Công thức	Giá trị LDL-C theo từng công thức	Giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn	Diff (mg/dL)	Delta% (%)
Friedewald	LDL-CF	111,04 ± 36,00	12,63 ± 7,16	10,93 ± 6,98
Hatta	LDL-CH	103,37 ± 36,18	20,03 ± 9,90	17,38 ± 10,03
Puavilai	LDL-CP	116,14 ± 36,12	8,28 ± 5,67	7,15 ± 5,58
Martin	LDL-CM	115,25 ± 34,80	9,54 ± 5,78	8,11 ± 5,67
Sampson	LDL-CS	114,50 ± 35,45	9,54 ± 5,91	8,18 ± 5,53

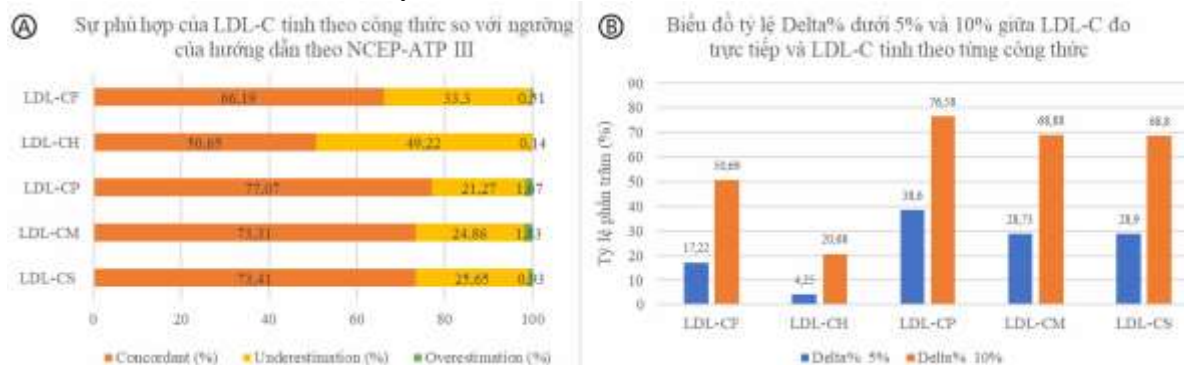
Nhận xét: Công thức Puavilai cho kết quả LDL-C ước tính gần nhất với LDL-C đo trực tiếp nhất trong 5 công thức, với Delta % là 7,15 ± 5,58 (%).



Hình 1. Môi tương quan kết quả xét nghiệm LDL-C trực tiếp và ước tính theo công thức Friedewald (A), Hatta (B), Puavilai (C), Martin (D) và Sampson (E)

Nhận xét: LDL-C trực tiếp và ước tính có mối tương quan chặt chẽ ($r > 0,9$), với phương trình tương quan lần lượt là:

- + LDL-CD và LDL-CF là : $y = -7,61 + 0,96 \cdot x$ với $r = 0,976$
- + LDL-CD và LDL-CH là: $y = -13,94 + 0,95 \cdot x$ với $r = 0,960$
- + LDL-CD và LDL-CP là: $y = -3,39 + 0,97 \cdot x$ với $r = 0,981$
- + LDL-CD và LDL-CM là: $y = 0,66 + 0,93 \cdot x$ với $r = 0,977$
- + LDL-CD và LDL-CS là: $y = -3,05 + 0,95 \cdot x$ với $r = 0,981$



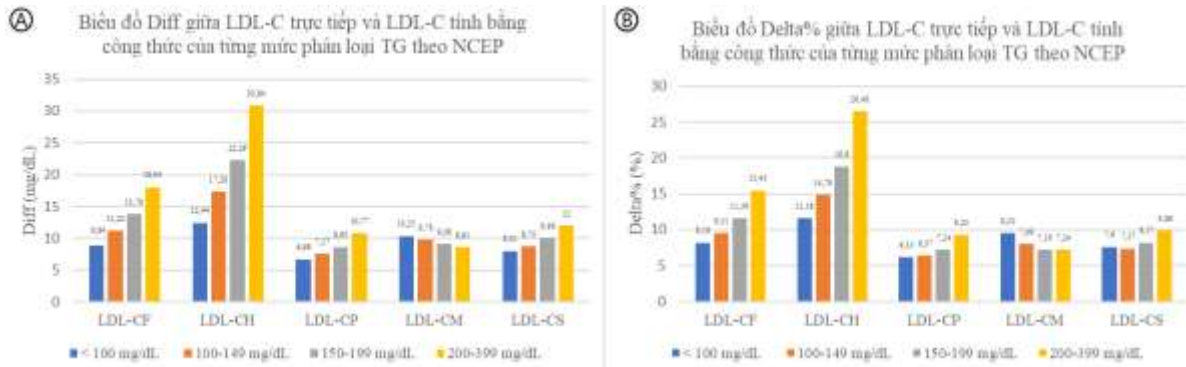
Hình 2. Biểu đồ so sánh sự khác biệt của LDL-C trực tiếp và ước tính theo hướng dẫn của NCEP và Delta%

Nhận xét:

A. LDL-CP cho kết quả phù hợp nhất so với LDL-CS và LDL-CM, LDL-CF, LDL-CH: Tỷ lệ “concordant” lần lượt là 77,07%; 73,41%; 73,31%; 66,19%; 50,65%.

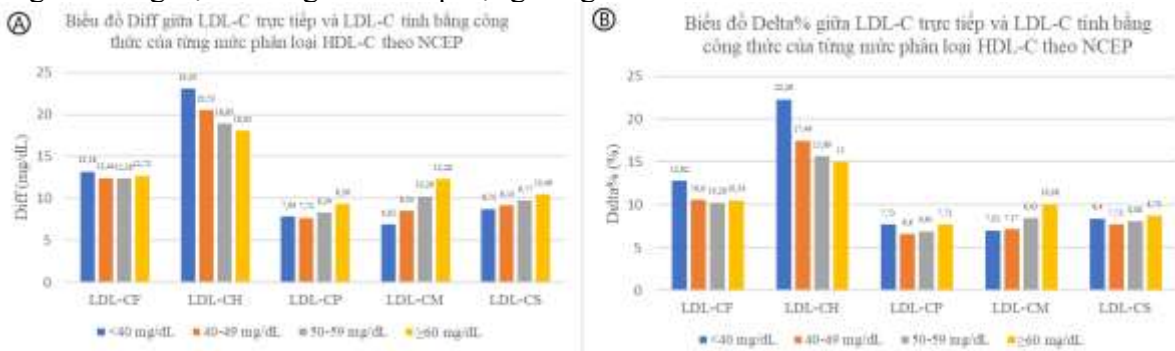
B. LDL-CP cho kết quả phù hợp nhất so

với LDL-CS và LDL-CM, LDL-CF, LDL-CH với tỉ lệ Delta <5% lần lượt là 38,6%; 28,73% và 28,9%; 17,22%; 4,45% và tỷ lệ Delta <10% lần lượt là 76,58%; 68,88% và 68,8%; 50,69%; 20,68%.



Hình 3. Biểu đồ Diff (A) và Delta% (B) giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính bằng công thức của từng mức phân loại TG theo NCEP - ATP III

Nhận xét: Khi nồng độ TG tăng, sự khác biệt Diff và Delta% của 4 công thức F, H, P, S tăng khi nồng độ TG và giảm khi áp dụng công thức M.



Hình 4. Biểu đồ Diff (A) và Delta% (B) giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính bằng công thức của từng mức phân loại HDL-C theo NCEP - ATP III

Nhận xét: Diff và Delta% của cả 5 phương trình có xu hướng tăng giảm không đều khi HDL-C tăng. Diff và Delta% của LDL-C F và LDL-CM không khác biệt đáng kể khi HDL-C cao, nhưng khác biệt đáng kể khi HDL-C dưới 400 mg/dL.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thu thập kết quả xét nghiệm bộ mỡ của 6654 bệnh nhân, được thực hiện trên trên hệ thống máy Cobas 702 tại Khoa Xét nghiệm - Bệnh viện Đại học Y Hà Nội trong thời gian từ ngày 01/04/2023 đến ngày 27/05/2023. Các xét nghiệm đã thực hiện xác nhận phương pháp, nội kiểm và ngoại kiểm định kỳ đảm bảo kết quả đo lường chính xác, đáng tin cậy.

Nghiên cứu sự khác biệt cho thấy trong năm công thức tính LDL-C, công thức của Puavilai cho kết quả gần nhất với LDL-C trực tiếp. Sự khác biệt giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính toán bằng các công thức Friedewald, Hatta, Puavilai, Martin, Sampson, theo thứ tự lần lượt Delta% là 10,93%; 17,38%; 7,15%; 8,11%; 8,18%. Tỷ lệ mẫu có khác biệt Delta <5% khi sử dụng công thức Puavilai là cao nhất (76,58%).

Đánh giá sự phù hợp của LDL-C ước tính dựa trên tiêu chuẩn phân loại NCEP - ATP III cho thấy: Công thức Puavilai cho số mẫu có sự phù hợp “concordant” là cao nhất (77,07%), Công thức Hatta cho tỷ lệ phù hợp thấp nhất (50%).

Đánh giá tương quan Pearson và xây

dựng phương trình tương quan cho thấy, kết quả LDL-C định lượng và ước tính có mối quan hệ tuyến tính dương hoàn toàn, tương quan chặt chẽ ($r > 0,9$), trong đó công thức của Puavilai và Sampson có hệ số tương quan $r = 0,981$ là cao nhất.

Đánh giá giá trị của xét nghiệm theo khoảng nồng độ TG và HDL-C cho thấy: Sự khác biệt kết quả giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính toán tăng khi nồng độ TG trong mẫu bệnh phẩm tăng. Chỉ có kết quả tính toán theo công thức Martin là ít ảnh hưởng nhất bởi nồng độ TG. Sự tương đồng kết quả xét nghiệm tăng giảm không đều khi mức HDL-C tăng.

Các công thức tính toán LDL-C hiện nay đều đang ước tính dựa trên tỉ lệ VLDL-C: TG. Công thức Friedewald dựa trên tỷ lệ giữa TG: VLDL-C là 5; tuy nhiên tỷ lệ thực tế khác nhau và công thức không sử dụng được trong một số trường hợp mẫu huyết thanh có TG tăng cao (≥ 400 mg/dL), bệnh nhân tăng lipid máu loại III, và không chính xác khi nồng độ LDL-C rất thấp (< 70 mg/dL) hoặc ở bệnh nhân đang điều trị với thuốc hạ lipid máu³. Một số nghiên cứu khác đưa ra tỷ lệ TG:VLDL-C khác nhau, nhằm giảm thiểu sai số: Hatta đề xuất tỷ lệ TG:VLDL-C tối ưu là 4, Puavilai đề xuất tỷ lệ TG:VLDL-C tối ưu là 6 thay vì 5, Martin đề xuất TG:VLDL-C có thể điều chỉnh thay vì tỷ lệ cố định.

Kết quả một nghiên cứu khác tương tự của Mijeong Kang (2017) thực hiện tại Hàn Quốc, công thức Martin là công thức cho kết quả khác biệt nhỏ nhất². Năm 2018, ACC và AHA cũng đã khuyến cáo ưu tiên sử dụng công thức Martin cho những người có LDL-C thấp^{2,5}. Trong nghiên cứu này, Martin không phải là công thức chính xác nhất, tuy nhiên, công thức Martin có một ưu điểm rất

lớn là ít bị ảnh hưởng khi nồng độ Triglyceride tăng cao, trong khi các công thức khác đều bị ảnh hưởng (Hình 3).

Bên cạnh đó, một công thức khác được đánh giá phù hợp để tính toán cho những bệnh nhân có nồng độ $400 < TG < 800$ mg/dL là công thức Sampson. Công thức được Hội Hoá Sinh lâm sàng Canada khuyến cáo sử dụng cho tất cả các bệnh nhân, gồm bệnh nhân tăng TG máu, hoặc có LDL-C thấp⁶. Barak Zafrir và cộng sự (2020) đánh giá công thức Sampson áp dụng tốt cho cả những bệnh nhân có TG cao, bệnh nhân mắc bệnh mạch vành đang được điều trị bằng PCSK9, rất phù hợp với mục đích theo dõi điều trị⁷. Tuy nhiên, công thức này cũng có nhược điểm không áp dụng cho bệnh nhân tăng lipid máu loại III^{2,5}.

Từ những kết quả trên, nhóm nghiên cứu kết luận công thức Puavilai cho kết quả khác biệt giữa LDL- C định lượng trực tiếp và LDL-C ước tính thấp nhất, tiếp đến là công thức Martin và Sampson, tốt hơn so với công thức Friedewald và Hatta. Nhóm nghiên cứu kiến nghị mở rộng cỡ mẫu nghiên cứu, bao gồm nhiều độ tuổi và đánh giá trên các mẫu có nồng độ TG cao > 400 mg/dL.

V. KẾT LUẬN

Ước tính LDL-C theo công thức Puavilai, có sự phù hợp tốt nhất với nồng độ LDL-C trực tiếp. Công thức Martin và Sampson cũng cho kết quả tốt hơn so với công thức Friedewald và Hatta:

- Sự khác biệt giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính toán bằng các công thức Friedewald, Hatta, Puavilai, Martin, Sampson (Theo thứ tự lần lượt Delta% là 10,93%; 17,38%; 7,15%; 8,11%; 8,18%). 4 công thức (F, P, M, S) vẫn phù hợp để phân loại bệnh nhân có nguy cơ theo tiêu chuẩn

NCEP - ATP III, công thức Hattat kém hiệu quả.

- Phân tích tương quan Pearson cho thấy có mối tương quan tốt giữa cả 5 giá trị LDL-C ước tính và giá trị LDL-C định lượng trực tiếp ($r > 0,9$).

- Sự khác biệt kết quả giữa LDL-C đo trực tiếp và LDL-C tính toán tăng khi TG tăng. Chỉ có kết quả tính toán theo công thức Martin là ít ảnh hưởng nhất bởi nồng độ TG. Sự tương đồng kết quả xét nghiệm tăng giảm không đều khi mức HDL-C tăng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Adults NCEP (US) EP on D Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in.** Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III): Final Report. The Program; 2002.
- 2. Kang M, Kim J, Lee SY, Kim K, Yoon J, Ki H.** Martin's Equation as the Most Suitable Method for Estimation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels in Korean Adults. *Korean J Fam Med.* 2017;38(5):263-269. doi:10.4082/kjfm.2017.38.5.263
- 3. Miller WG, Myers GL, Sakurabayashi I, et al.** Seven Direct Methods for Measuring HDL and LDL Cholesterol Compared with Ultracentrifugation Reference Measurement Procedures. *Clin Chem.* 2010;56(6):977-986. doi:10.1373/clinchem.2009.142810
- 4. Martin SS, Blaha MJ, Elshazly MB, et al.** Comparison of a Novel Method vs the Friedewald Equation for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol Levels From the Standard Lipid Profile. *JAMA.* 2013;310(19):2061-2068. doi:10.1001/jama.2013.280532
- 5. Sampson M, Ling C, Sun Q, et al.** A New Equation for Calculation of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients With Normolipidemia and/or Hypertriglyceridemia. *JAMA Cardiol.* 2020;5(5):1-9. doi:10.1001/jamacardio.2020.0013
- 6. White-Al Habeeb NMA, Higgins V, Venner AA, et al.** Canadian Society of Clinical Chemists Harmonized Clinical Laboratory Lipid Reporting Recommendations on the Basis of the 2021 Canadian Cardiovascular Society Lipid Guidelines. *Can J Cardiol.* 2022;38(8):1180-1188. doi:10.1016/j.cjca.2022.03.019
- 7. Zafrir B, Saliba W, Flugelman MY.** Comparison of Novel Equations for Estimating Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients Undergoing Coronary Angiography. *J Atheroscler Thromb.* 2020;27(12):1359-1373. doi:10.5551/jat.57133

KHẢO SÁT ĐẶC ĐIỂM CHƯƠNG TRÌNH NGOẠI KIỂM HÓA SINH RIQAS NĂM 2020

Lê Văn Chương^{1,2}, Nguyễn Thị Tú Anh^{1,2}, Nguyễn Thị Thu Thúy¹,
Nguyễn Tiến Huỳnh^{1,2}, Lê Thanh Tùng^{1,2}, Bùi Thị Lệ Xuân^{1,2}, Văn Hy Triết^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu nghiên cứu: nhằm đánh giá hiệu suất thực hiện, tần suất tham gia theo từng xét nghiệm hóa sinh và khả năng phân tích toàn diện của bộ mẫu ngoại kiểm randox international quality assessment scheme (RIQAS). **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu cắt ngang mô tả, dữ liệu cho nghiên cứu được thu thập vào năm 2020. Các giá trị tần suất tham gia (N), chỉ số độ lệch chuẩn (SDI), giá trị ấn định (Mean) được thu thập từ kết quả ngoại kiểm hàng tháng. **Kết quả:** từ 12 bảng tổng kết kết quả ngoại kiểm cho mỗi xét nghiệm hóa sinh năm 2020, có 16/56 xét nghiệm không có phòng xét nghiệm nào tham gia thực hiện ngoại kiểm và tỷ lệ trung bình phần trăm kết quả ngoại kiểm không đạt của các xét nghiệm chiếm 12,89%. Tỷ lệ các xét nghiệm có giá trị ấn định không bao phủ các giá trị quyết định lâm sàng khoảng 61% và gấp 1,5 lần so với các xét nghiệm có giá trị ấn định bao phủ các giá trị quyết định lâm sàng. **Kết luận:** Với 56 thông số của chương trình ngoại kiểm RIQAS, các đơn vị chỉ tham gia thực hiện 40/56 các xét nghiệm

này. Hiệu suất thực hiện của các phòng xét nghiệm tham gia có độ tin cậy cao với tỷ lệ phần trăm kết quả không đạt trung bình của các xét nghiệm là 12,89%. Bộ mẫu ngoại kiểm chương trình hóa sinh RIQAS cần bổ sung thêm một số nồng độ của một số xét nghiệm để bao phủ các giá trị quyết định lâm sàng, phù hợp cho việc đánh giá chất lượng phân tích được toàn diện.

Từ khóa: Ngoại kiểm, hóa sinh, hiệu suất thực hiện.

SUMMARY

SURVEY ON CHARACTERISTICS IN GENERAL CLINICAL CHEMICAL OF RIQAS IN 2020

Objectives: This study aimed to evaluate the analytical performance, frequency of participation for each biochemical test, and comprehensive analytical capability of External quality assessment (EQA) samples. **Methods:** This was a cross-sectional study conducted in 2020. The necessary data for the study was collected from the monthly EQA reports. Participation frequency values (N), standard deviation index (SDI), and assigned values (Mean) were collected from the summary tables of EQA reports for each biochemical test. **Results:** Among the 56 biochemical tests in the RIQAS external quality assessment program, 16 tests had no participants. The average percentage of unacceptable EQA results for all tests was 12,89%. Approximately 61% of tests with

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét Nghiệm Y học - Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Văn Hy Triết

SĐT: 0984881440

Email: vanhytriet@gmail.com

Ngày nhận bài: 01/7/2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Văn Trân

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

assigned values did not cover medical decision levels, which was 1.5 times higher than that of tests with assigned values covering medical decision levels. Laboratories tended to mainly perform external quality assessments for tests in the comprehensive metabolic panel, and their analytical performance was significantly reliable.

Conclusions: With 56 parameters of the RIQAS, the participants only join in 40/56 of these tests. The performance of participating laboratories is highly reliable with an average percentage of failing results of tests of 12,89%. The RIQAS general clinical chemistry program sample panel should be supplemented with some concentrations of several analytes to cover the clinical decision values, suitable for comprehensive analysis quality evaluation.

Keywords: External quality assessment, biochemistry, analytical performance.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngoại kiểm là một trong những thành tố quan trọng nhằm đảm bảo chất lượng, tiêu chuẩn hóa phương pháp, liên thông kết quả xét nghiệm, so sánh hiệu suất của các phòng xét nghiệm với nhau, đánh giá phương pháp xét nghiệm, đánh giá hiệu suất của phòng xét nghiệm[4]. EQA là một trong các yêu cầu bắt buộc để phòng xét nghiệm được công nhận theo tiêu chuẩn quốc gia TCVN ISO 15189:2014[2] cũng như đạt một số tiêu chí quan trọng (*) theo Bộ tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học ban hành kèm quyết định 2429/QĐ-BYT [3] ngày 12 tháng 6 năm 2017 của Bộ Y tế. Trong bài

báo này, nhóm nghiên cứu đưa ra các mục tiêu sau:

- Xác định số lượng các phòng xét nghiệm trung bình tham gia các thông số xét nghiệm của chương trình ngoại kiểm hóa sinh RIQAS và hiệu suất thực hiện của các phòng xét nghiệm đối với từng xét nghiệm.

- Khảo sát số lượng xét nghiệm trong các mẫu của chương trình ngoại kiểm trong một chu kỳ có nồng độ bao phủ tất cả các điểm quyết định lâm sàng.

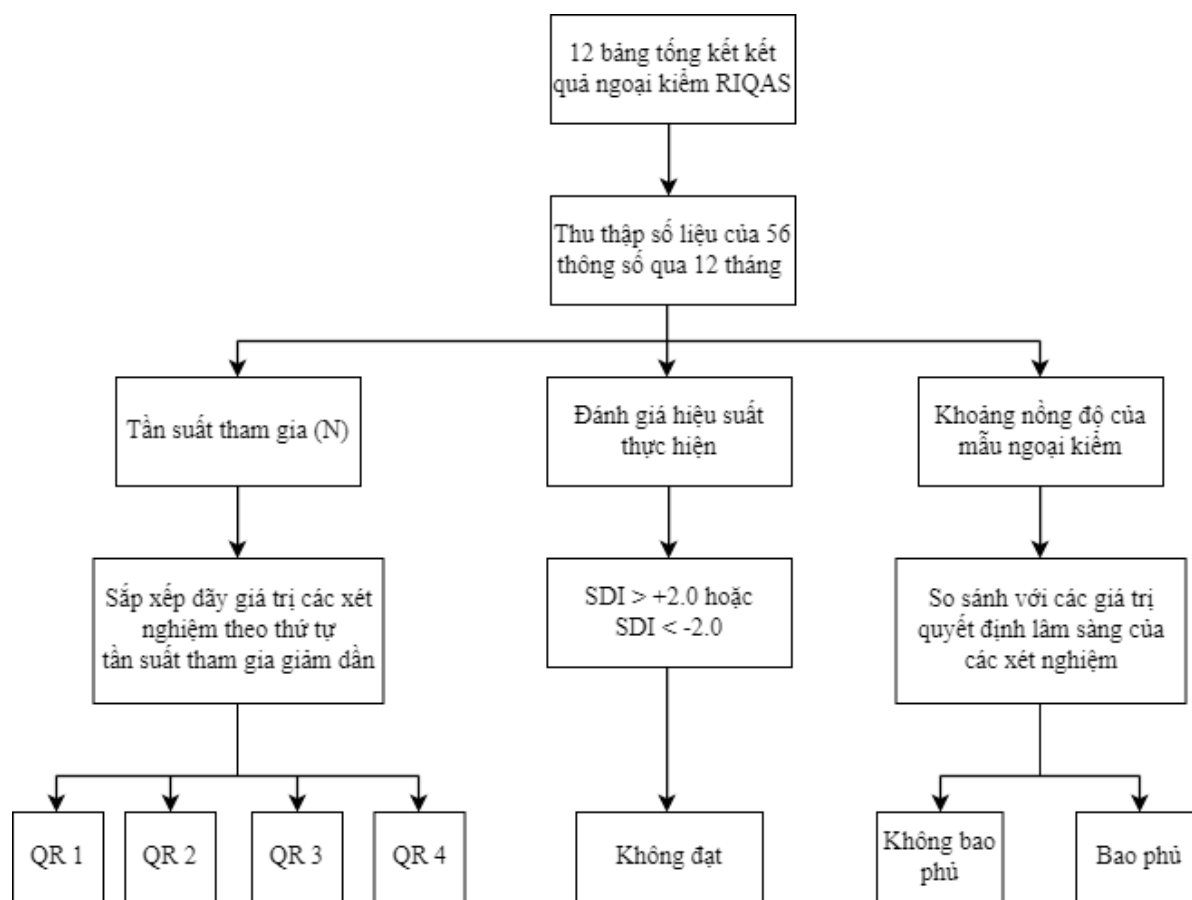
II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đề tài được thực hiện tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học - Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh từ tháng 1/2020 đến tháng 12/2020. Nghiên cứu trên 12 bảng tổng kết kết quả ngoại kiểm tương ứng 12 mẫu ngoại kiểm các đơn vị tham gia chương trình ngoại kiểm hóa sinh RIQAS do Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học-Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh quản lý trong năm 2020.

Các chỉ số và biến số nghiên cứu:

Gồm 56 thông số xét nghiệm của chương trình ngoại kiểm hóa sinh RIQAS được liệt kê trong bảng 1. Chúng tôi tính toán Tần suất tham gia trung bình (N), khoảng tứ phân vị (Quartile range - QR), độ lệch chuẩn (Standard Deviation Index – SDI), giá trị trung bình, giá trị quyết định lâm sàng (Medical Decision Level).

Phương pháp tiến hành: Quy trình tiến hành nghiên cứu theo sơ đồ sau:



Sơ đồ 1: Sơ đồ tiến hành nghiên cứu

Số liệu thu thập và phân tích bằng phần mềm MExcel 365. Tỷ lệ các xét nghiệm trung bình các xét nghiệm được các phòng thực hiện giữa các khoảng tứ phân vị liên tiếp nhau được đánh giá bằng phép kiểm t-test.

Nghiên cứu được thông qua bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh theo quyết định số 222/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 19 tháng 3 năm 2020.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1: Bảng thứ tự các xét nghiệm có số lượng đơn vị tham gia trung bình được sắp xếp từ cao đến thấp trong chương trình ngoại kiểm hóa sinh RIQAS tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm y học

STT	Xét nghiệm	N (đơn vị tham gia)	%	STT	Xét nghiệm	N (đơn vị tham gia)	%
1	Glucose	423	6,95	29	Free T4	31	0,52
2	ALT (GPT)	419	6,89	30	Phosphate, Inorganic	19	0,32
3	AST (GOT)	419	6,89	31	Free T3	18	0,30
4	Creatinine	411	6,75	32	Lipase	15	0,25

5	Cholesterol	404	6,64	33	Total T3	15	0,24
6	Urea	393	6,45	34	Cholinesterase	13	0,22
7	Trig Total	391	6,42	35	PSA, Total	11	0,17
8	Uric Acid (Urate)	383	6,29	36	Total T4	4	0,07
9	GGT	307	5,04	37	Amylase, Pancreatic	4	0,06
10	HDL-Cholesterol	273	4,49	38	Zinc	3	0,05
11	Bilirubin, Total	239	3,92	39	Osmolality	2	0,04
12	Protein, Total	234	3,84	40	EGFR (Pilot)	1	0,01
13	Bilirubin, Direct	233	3,83	41	Non-HDL Cholesterol (Pilot)	0	0
14	Amylase, Total	223	3,67	42	Fructosamine	0	0
15	Albumin	215	3,53	43	TIBC	0	0
16	Calcium	193	3,17	44	Angiotensin converting enzyme, ACE	0	0
17	Sodium	132	2,17	45	Acid phosphatase, Prostatic	0	0
18	Potassium	132	2,16	46	Acid phosphatase, total	0	0
19	Chloride	125	2,06	47	Adjusted Calcium (pilot)	0	0
20	Iron	86	1,41	48	Bicarbonate	0	0
21	LDL-Cholesterol (Pilot)	54	0,89	49	Bile acids	0	0
22	CK, Total	42	0,69	50	Copper	0	0
23	Calcium, Ionised	41	0,67	51	D-3-hydroxybutyrate	0	0
24	Alkaline Phosphatase	38	0,63	52	Glutamate dehydrogenase	0	0
25	LD (LDH)	37	0,61	53	a HBDH	0	0
26	Magnesium	36	0,58	54	Lithium	0	0
27	TSH	34	0,55	55	Unsatured Iron- Binding Capacity (UIBC)	0	0
28	Lactate	33	0,54	56	Non esterified fatty acids	0	0

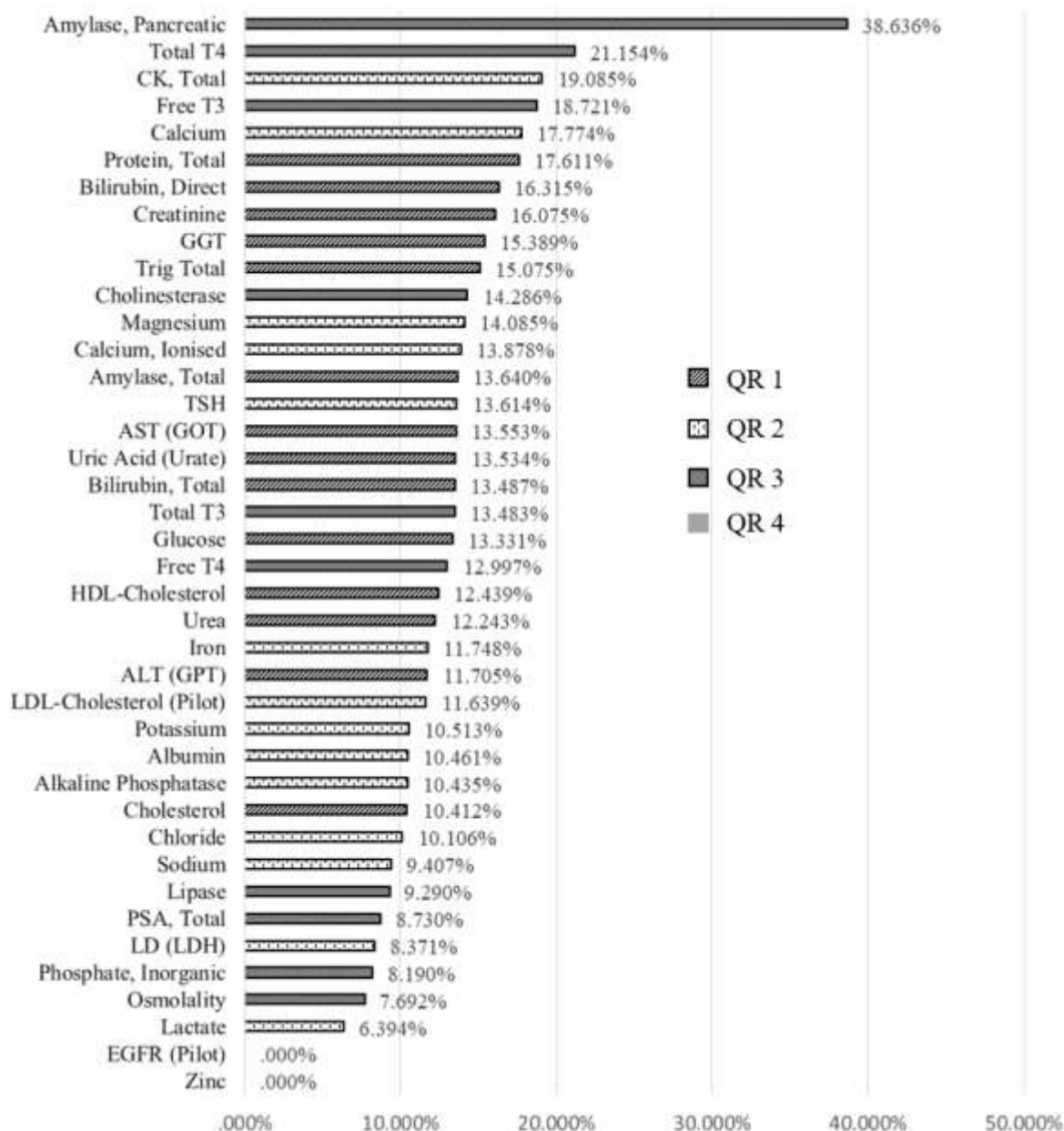
Trong bảng 1 xét nghiệm có tần suất tham gia nhiều nhất là Glucose với 423 đơn vị tham gia, tiếp đến là ALT với 419 đơn vị tham gia, AST là 419 đơn vị tham gia. Chỉ có 40 thông số xét nghiệm có đơn vị tham gia, 16 thông số xét nghiệm chiếm khoảng 30% không có đơn vị nào tham gia trong suốt năm 2020. Tỷ lệ số lượng trung bình tham gia của nhóm xét nghiệm thuộc nhóm tứ phân vị thứ nhất (QR 1) chiếm hơn $\frac{3}{4}$ trên tổng số lượt tham gia của tất cả 56 thông số, tiếp theo là nhóm tứ phân vị thứ hai (QR 2) khoảng 20%,

nhóm tứ phân vị thứ ba (QR 3) chiếm khoảng 2,25%. Bên cạnh đó nhóm xét nghiệm thuộc tứ phân vị thứ tư (QR 4) có tỷ lệ tham gia trung bình bằng không.

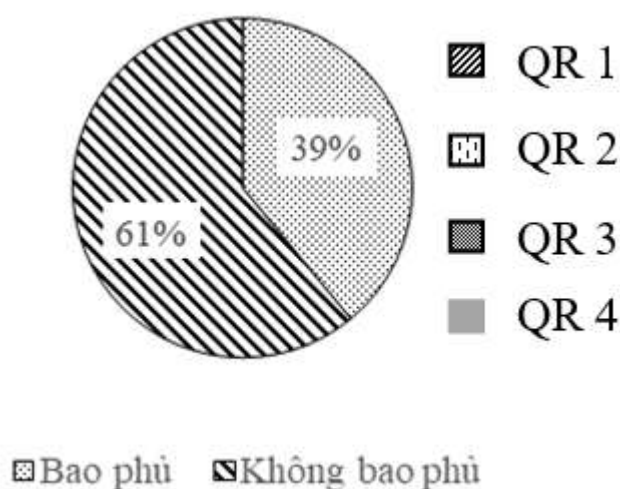
Hình 1 cho biết hiệu suất thực hiện xét nghiệm ngoại kiểm hóa sinh của tất cả các phòng tham gia, tỷ lệ % kết quả không đạt trung bình của các xét nghiệm là 12,89%. Trong đó, các xét nghiệm thuộc nhóm tứ phân vị thứ ba (QR 3) có tỷ lệ kết quả không đạt trung bình thấp nhất như Zinc và EGFR (Pilot) với 0%, Osmolality (7,69%),

Phosphate, Inorganic (8,19%)... Tuy nhiên, các xét nghiệm này có số lượng đơn vị tham gia trung bình rất thấp từ 1 đến 3 đơn vị tham gia. Nhóm tứ phân vị thứ nhất (QR 1) với tỷ lệ tham gia trung bình cao nhất có tỷ lệ kết quả không đạt trung bình gần 14%. Đáng chú

ý nhóm xét nghiệm có ít phòng xét nghiệm tham gia (QR 3) cũng có tỷ lệ kết quả trung bình không đạt khá cao như Amylase, Pancreatic (38,64%), Total T4 (21,15%), Free T3 (18,72%).



Hình 1. Tỷ lệ các xét nghiệm có kết quả không đạt trung bình được các phòng thực hiện trong chương trình ngoại kiểm hóa sinh RIQAS tại Trung tâm Kiểm chuẩn chất lượng Xét nghiệm y học



Hình 2. Biểu đồ tỷ lệ xét nghiệm được các phòng xét nghiệm thực hiện ngoại kiểm RIQAS bao phủ và không bao phủ các khoảng giá trị quyết định lâm sàng

Nhìn chung, trong 40/56 xét nghiệm được khảo sát giá trị ấn định thì tỷ lệ xét nghiệm không bao phủ hết các giá trị quyết định lâm sàng chiếm khá lớn khoảng 61% (Hình 3), gấp 1,5 lần so với nhóm xét nghiệm có giá trị ấn định bao phủ các giá trị quyết định lâm sàng.

IV. BÀN LUẬN

Từ bảng 1 thể hiện nhóm tứ phân vị thứ nhất (QR 1) chứa đa số các xét nghiệm nằm trong bảng chuyển hóa toàn diện (Comprehensive Metabolic Panel-CMP) và có tần suất tham gia nhiều nhất lên đến 78% số lượt tham gia. Tuy nhiên nhóm các xét nghiệm điện giải không có xu hướng như trên mà có tần suất tham gia thấp hơn thuộc nhóm tứ phân vị thứ 2 (QR 2). Kết quả này cũng tương đồng với kết quả khảo sát tại Colombia với các xét nghiệm thuộc nhóm CMP được thực hiện nhiều nhất, trong đó glucose chiếm tỷ lệ thực hiện cao nhất[7]. Theo công bố tại Bhutan năm 2013, các xét nghiệm glucose, urea, creatinine, AST, ALT là những xét nghiệm được thực hiện nội

kiểm và ngoại kiểm nhiều nhất [8]. Tại một cuộc khảo sát được công bố năm 2014 tại Bra-xin, các xét nghiệm glucose, cholesterol, acid uric, creatinin, AST, ALT, GGT được các phòng xét nghiệm thực hiện nhiều nhất [9]. Ngược lại, nhóm xét nghiệm chức năng tuyến giáp (Free T4; Total T4; Free T3; Total T3; TSH), xét nghiệm cấp cứu (Lipase, Amylase pancreatic) có tần suất tham gia ít hơn rất nhiều so với QR 1. Các xét nghiệm thuộc nhóm QR 4 không có phòng xét nghiệm nào tham gia, có thể là do các xét nghiệm này không hoặc ít được triển khai tại các phòng xét nghiệm tại địa bàn Trung tâm quản lý. Mẫu ngoại kiểm RIQAS cung cấp chứa nhiều thông số xét nghiệm vượt quá nhu cầu của phòng xét nghiệm hiện tại với 16/56 thông số xét nghiệm không có đơn vị nào tham gia, điều này là do các xét nghiệm này hiếm, ít được bác sĩ lâm sàng chỉ định thực hiện.

Trong hình 1, tỷ lệ % kết quả không đạt trung bình của các xét nghiệm khoảng 12,89% gần như tương đồng với nghiên cứu của Clara Morales và Ramon Giraldo công

bố năm 2020 tại Colombia [7]. Nhóm xét nghiệm có tần suất tham gia nhiều nhất - QR 1 có tỷ lệ hiệu suất thực hiện không đạt từ trung bình đến thấp (17,61%-10,41%), kết quả này cho thấy hiệu suất thực hiện của các đơn vị tham gia đối với các xét nghiệm này đáng tin cậy. Tuy nhiên nhóm xét nghiệm có tần suất tham gia thấp như các xét nghiệm chức năng tuyến giáp, và xét nghiệm cấp cứu lại có tỷ lệ hiệu suất không đạt rất cao (Amylase pancreatic-38,64%; Total T4-21,15%, Free T3-18,72%). Nghiên cứu của tác giả Trần Hữu Tâm năm 2022 [6] cũng cho thấy nhóm xét nghiệm chức năng tuyến giáp có tỷ lệ % kết quả không chấp nhận cao. Điều này có thể do các xét nghiệm miễn dịch định lượng hóa môn tuyến giáp có nồng độ thấp hơn so với các xét nghiệm hóa sinh nên sai số cao hơn. Mặc dù, xét nghiệm Amylase pancreatic có sai số cao nhất có thể là do số lượng đơn vị tham gia ít (4 đơn vị) nhưng xét nghiệm amylase total vốn được các phòng xét nghiệm thực hiện nhiều có sai số thấp hơn.

V. KẾT LUẬN

Với 56 thông số của chương trình ngoại kiểm RIQAS, các đơn vị chỉ tham gia thực hiện 40/56 các xét nghiệm này. Hiệu suất thực hiện của các phòng xét nghiệm tham gia có độ tin cậy cao với tỷ lệ phần trăm kết quả không đạt trung bình của các xét nghiệm là 12,89%.

Bộ mẫu ngoại kiểm chương trình hóa sinh RIQAS cần bổ sung thêm một số nồng độ của một số xét nghiệm để bao phủ các giá trị quyết định lâm sàng, phù hợp cho việc đánh giá chất lượng phân tích được toàn diện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bernard E. Statland** (1983) Clinical decision levels for lab tests, Medical Economics Books, Oradell, N.J,
2. **ISO 15189** (2014) ISO 15189 PHÒNG THÍ NGHIỆM Y TẾ – YÊU CẦU VỀ CHẤT LƯỢNG VÀ NĂNG LỰC, Government Document, 19,
3. **Bộ Y tế** (2017) Quyết định số 2429/QĐ-BYT ban hành ngày 12/06/2017 của Bộ Y tế ban hành Tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học, Government Document, 11,
4. **A. Haliassos** (2018) "Inter-Laboratory Comparisons and EQA in the Mediterranean Area". EJIFCC, 29 (4), 253-258.
5. **Timothy Pagana Kathleen Pagana, Theresa Pagana** (2022) Mosby's® Diagnostic and Laboratory Test Reference,
6. **Trần Hữu Tâm** (2022) "KẾT QUẢ NGOẠI KIỂM TRA CHẤT LƯỢNG CỦA CÁC XÉT NGHIỆM THUỘC NHÓM MIỄN DỊCH NĂM 2021". Tạp chí Y học Việt Nam, 514 (2)
7. **Clara Morales, Ramón Giraldo** (2020) "Reference versus consensus values in proficiency testing of clinical chemistry: a statistical comparison based on laboratories results in Colombia". Accreditation and Quality Assurance, 25 (2), 99-105.
8. **R. Jamtsho** (2013) "Stability of lyophilized human serum for use as quality control material in bhutan". Indian J Clin Biochem, 28 (4), 418-21.
9. **R. Jansen, N. Jassam, A. Thomas, C. Perich, P. Fernandez-Calle, A. P. Faria, et al.** (2014) "A category 1 EQA scheme for comparison of laboratory performance and method performance: An international pilot study in the framework of the Calibration 2000 project". Clin Chim Acta, 432, 90-8.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG GIAO HOÁN CỦA MẪU NGOẠI KIỂM SINH HÓA VỚI MẪU BỆNH NHÂN Ở MỘT SỐ XÉT NGHIỆM ENZYM GAN

Văn Hy Triết^{1,2,3}, Hà Mạnh Tuấn^{1,3}, Vũ Quang Huy⁴

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu này nhằm đánh giá giao hoán giữa mẫu huyết thanh đông khô dùng cho chương trình ngoại kiểm với mẫu huyết thanh bệnh nhân. **Phương pháp nghiên cứu:** đánh giá năm mẫu huyết thanh đông khô dùng cho chương trình ngoại kiểm với 25 mẫu huyết thanh bệnh nhân giữa hệ thống kín Beckman Coulter AU480 và hệ thống mở Teco Diagnostic TC3000 theo hướng dẫn của CLSI EP14-A3. **Kết quả:** kết quả log10 của xét nghiệm ALT, AST ở máy AU480 có hoạt độ nhỏ hơn máy TC 3000, kết quả log10 của xét nghiệm ALT, AST ở máy AU480 có hoạt độ lớn hơn máy TC 3000, 5 mẫu ngoại kiểm nằm trong khoảng dự đoán của 25 mẫu bệnh nhân. **Kết luận:** Năm mẫu huyết thanh đông khô dùng trong chương trình ngoại kiểm hóa sinh do Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học- Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh giao hoán với mẫu bệnh nhân đối với xét nghiệm ALT, AST, GGT khi được đánh giá giữa quy trình đo lường trên hệ thống kín máy sinh

hóa tự động Beckman Coulter AU480 và hệ thống mở Teco Diagnostic TC3000.

Từ khóa: mẫu ngoại kiểm, giao hoán, CLSI EP14-A3.

SUMMARY

EVALUATION OF THE COMMUTABILITY OF BIOCHEMICAL PROFICIENT TESTING SAMPLES WITH CLINICAL SAMPLES IN LIVER ENZYME ANALYTES

Objective: This study aimed to evaluate the commutation between lyophilized serum samples used for the proficiency testing program and clinical samples. **Methodology:** Evaluation commutation of five lyophilized serum samples for the proficiency testing program with 25 clinical serum samples between the homogenous system presented by Beckman Coulter AU480 and the heterogenous system presented by Teco Diagnostic TC3000 according to guidelines CLSI EP14-A3. **Results:** log10 results of ALT, AST in AU480 analyzer have weaker activity than TC 3000 analyzer, log10 result of ALT, AST in AU480 analyzer has stronger activity than TC 3000 analyzer, 5 lyophilized serum samples are within the predicted interval of 25 clinical samples. **Conclusion:** Five lyophilized serum samples in the biochemistry proficiency testing program by the Center for Quality Control of Medical Laboratory - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City commuted with clinical samples for ALT, AST, GGT analytes when evaluated between the measurement

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

²Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét Nghiệm Y học-Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

³Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh cơ sở 2.

⁴Khoa Y, trường Đại học Văn Lang

Chịu trách nhiệm chính: Văn Hy Triết

SĐT: 0984881440

Email: vanhytriet@gmail.com

Ngày nhận bài: 01/7/2023

Người phản biện khoa học: PGS.TS Phạm Văn Trân

Ngày duyệt bài: 10.7.2023

procedure on the homogenous system Beckman Coulter AU480 and heterogenous Teco Diagnostic TC3000.

Keywords: Proficiency testing samples, commutation, CLSI EP14-A3.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Xét nghiệm ALT, AST, GGT được thực hiện thường quy đồng thời nằm trong danh mục xét nghiệm liên thông, công nhận kết quả xét nghiệm và được các đơn vị tham gia thực hiện nhiều nhất trong chương trình ngoại kiểm [1]. Theo quyết định 316/QĐ-TTg ngày 27 tháng 2 năm 2016 của Thủ tướng Chính phủ về tăng cường liên thông các xét nghiệm có quy định các xét nghiệm tại các cơ sở phải so sánh được với nhau. Trong chương trình ngoại kiểm, nhiều trường hợp đánh giá hiệu suất phòng xét nghiệm tham gia sai sót có nguyên nhân không đến từ phòng xét nghiệm, mà đến từ mẫu ngoại kiểm không giống tính chất của mẫu bệnh nhân nên kết quả bị ảnh hưởng dẫn đến đánh giá sai hiệu suất phòng xét nghiệm.

Để so sánh chung nhóm xét nghiệm, mẫu ngoại kiểm phải được đánh giá tính giao hoán với mẫu bệnh nhân. Bên cạnh đó, tiêu chuẩn ISO 17511:2003 đề cập đến khả năng truy nguyên nguồn gốc đo lường của các giá trị được ấn định cho vật liệu hiệu chuẩn và vật liệu kiểm soát và quy định rằng các vật liệu hiệu chuẩn phải có thể giao hoán được ở mỗi bước trong chuỗi truy xuất nguồn gốc[2]. Tài liệu CLSI EP14-A3 hướng dẫn đánh giá mẫu huyết thanh đã qua xử lý với mẫu bệnh nhân giữa các quy trình nhằm đánh giá tính giao hoán.

Quá trình đông khô mẫu ngoại kiểm có thể ảnh hưởng đến các xét nghiệm có trong mẫu đông khô. Vì vậy, Nghiên cứu này nhằm mục tiêu đánh giá tính giao hoán mẫu

ngoại kiểm của chương trình sinh hóa với mẫu bệnh nhân trên hệ thống Beckman Coulter AU480 và TC3000.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Thời gian và địa điểm: nghiên cứu thực nghiệm được thực hiện từ tháng 09/2021 đến tháng 12/2021 tại Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học - Bộ môn Xét nghiệm, Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh. Mẫu huyết thanh bệnh nhân được thu thập tại Khoa Xét nghiệm, Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh cơ sở 2.

Đối tượng nghiên cứu và tiêu chuẩn lựa chọn: Theo hướng dẫn của hướng dẫn CLSI EP14-A3 thì cần khảo sát ít nhất 20 mẫu huyết thanh để đánh giá giao hoán với mẫu ngoại kiểm

- Hai mươi lăm mẫu huyết thanh bệnh nhân cho mỗi xét nghiệm liên quan sau khi xác định hoạt độ ALT, AST, GGT được bảo quản ở nhiệt độ -80°C cho đến khi tiến hành thử nghiệm. Các mẫu máu đã được sàng lọc âm tính với HBsAg, HCV Ab, HIV và khoảng hoạt độ bao phủ nồng độ mẫu ngoại kiểm đối với các xét nghiệm ALT, AST, GGT.

- Năm mẫu huyết thanh đông khô a, b, c, d, e dùng cho chương trình ngoại kiểm còn trong hạn sử dụng. Mẫu ngoại kiểm được điều chế từ huyết thanh từ 1 đến 2 người hiến âm tính với các xét nghiệm HBsAg, HCV Ab, HIV 1/2, sốt rét, giang mai. Các mẫu huyết thanh này được điều chỉnh hoạt độ các chất cho phù hợp với bảng mẫu đã thiết kế từ trước, hoạt độ được cân chỉnh bằng các sinh phẩm của Sigma gồm glutamic-pyruvic transaminase từ tim lợn (200 UN); glutamic oxaloacetic transaminase từ tim lợn (1 KU);

glutamyltranspeptidase từ thận ngựa (100 UN). Không có chất bảo quản nào được thêm vào, quá trình thao tác cân chỉnh hoạt độ được thực hiện trong phòng sạch.

Thiết bị và hóa chất:

Thiết bị máy sinh hóa tự động AU 480 và hóa chất của hãng Beckman Coulter được sản xuất tại Nhật Bản. Máy sinh hóa bán tự động TC 3000 của hãng Teco Diagnostic sản xuất tại Mỹ. Hóa chất xét nghiệm sử dụng cho TC3000 của hãng Cormay Diagnostic xuất xứ Ba Lan.

Quy trình cụ thể được tiến hành như sau:

- Mẫu bệnh nhân sau khi rã đông để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút, trộn đều, chia 2 phần, mỗi phần được thực hiện trên máy AU 480 và TC3000.

- Mẫu ngoại kiểm được hoàn nguyên với 2 ml nước cất, để 15 phút ở nhiệt độ phòng

xét nghiệm, trộn đều tránh tạo bọt trong 2 phút, chia ra 2 phần, p mỗi phần được thực hiện trên máy AU 480 và TC3000.

- Mỗi mẫu chạy lặp lại 3 lần.

- Kết quả được phân tích theo hướng dẫn của CLSI EP14-A3 để đánh giá tính giao hoán của mẫu ngoại kiểm với mẫu bệnh nhân.

Phần mềm tính toán: sử dụng phần mềm Excel 365 để tính toán Deming regression và vẽ các đồ thị giao hoán giữa 2 quy trình đo lường. Do hiệu số hoạt độ ALT, AST, GGT giữa hai quy trình đo lệch nhau tỷ lệ theo hoạt độ nên hoạt độ sẽ chuyển sang log₁₀ trước khi vẽ biểu đồ.

Y đức nghiên cứu: nghiên cứu này đã được chấp thuận thông qua bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học đại học y dược thành phố Hồ Chí Minh số 222/HĐĐĐ-ĐHYD.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

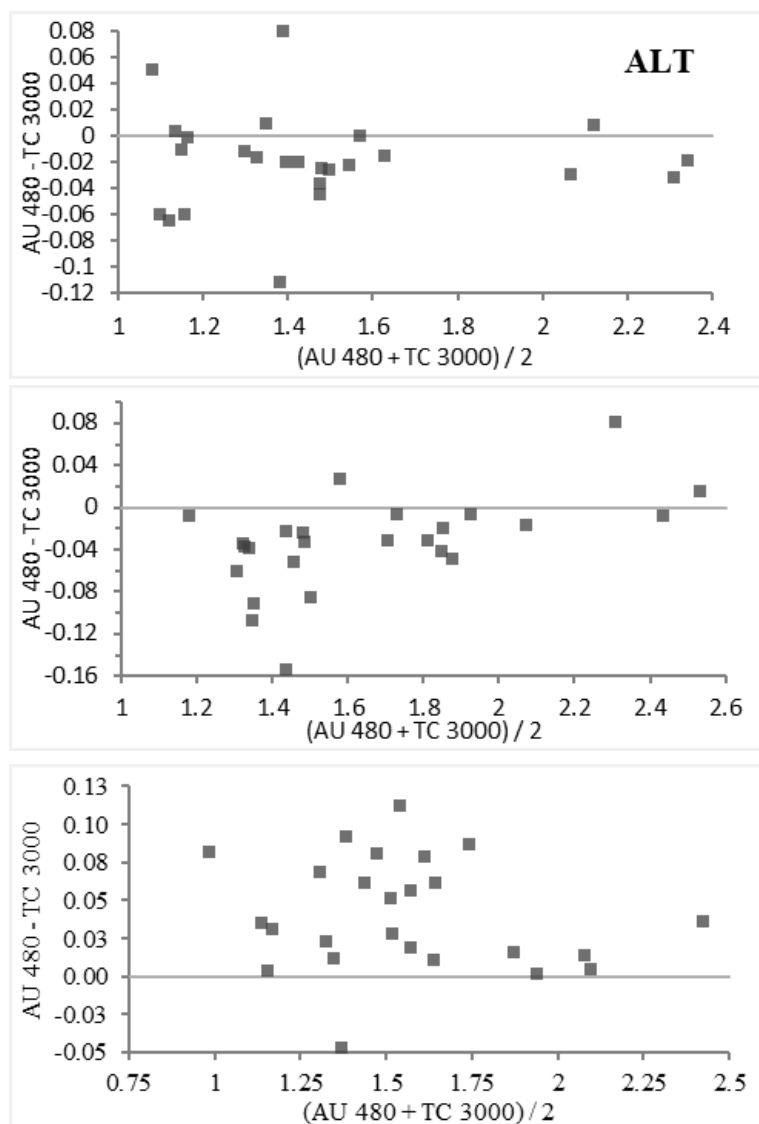
Bảng 1: Đặc điểm hoạt độ mẫu bệnh nhân và mẫu ngoại kiểm đánh giá tính giao hoán trên máy AU480 và TC3000

Xét nghiệm	Mẫu bệnh nhân (n=25)				Mẫu ngoại kiểm (n=5)			
	AU480		TC3000		AU480		TC3000	
	Trung vị	(min-max)	Trung vị	(min-max)	Trung vị	(min-max)	Trung vị	(min-max)
ALT (U/L)	26	12 – 219	21	13 - 140	27	11 - 227	23	13 - 150
AST (U/L)	30	15 -348	35	14 -340	44	20-351	48	22 -326
GGT (U/L)	35	10 -279	31	8 - 261	30	12-181	28	10 -173

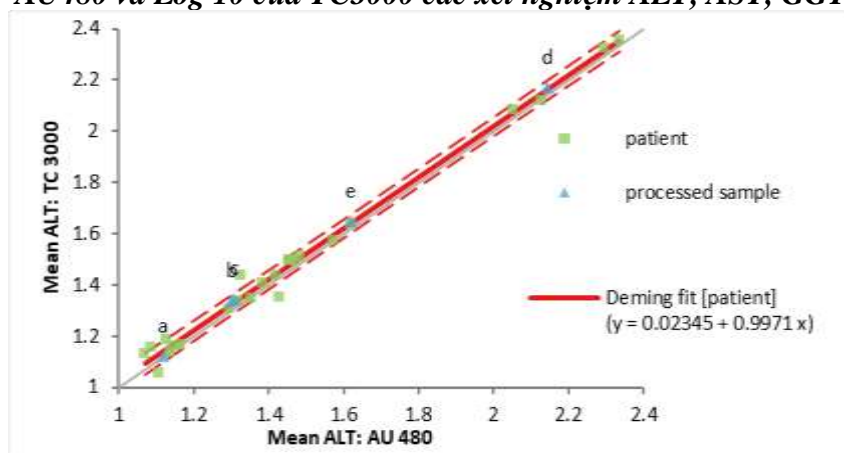
Các khoảng hoạt độ ALT, AST, GGT của mẫu bệnh nhân bao phủ các điểm quyết định lâm sàng từ giá trị bình thường tới giá trị bệnh lý bao phủ nồng độ năm mẫu ngoại kiểm thể hiện trong Bảng 1.

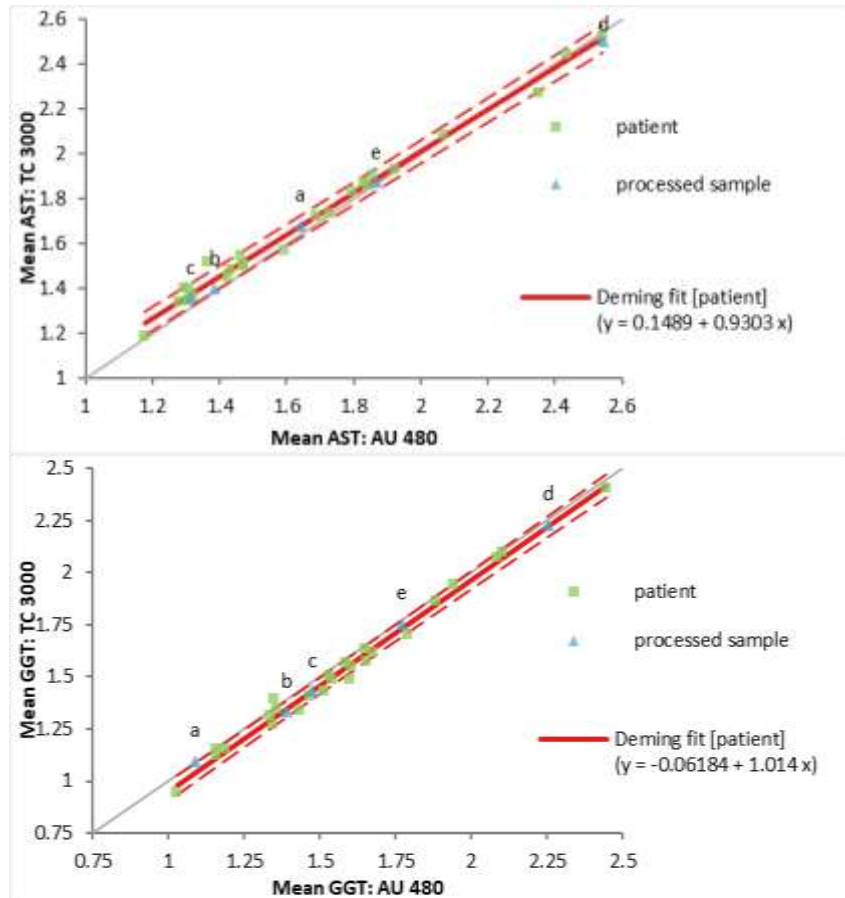
Trong Hình 1, trên cùng một mẫu, kết quả log₁₀ của xét nghiệm ALT, AST ở máy

AU480 có hoạt độ nhỏ hơn máy TC 3000, trên đồ thị ALT, AST lệch âm đặc biệt là đối với các log₁₀ của các mẫu bệnh nhân dưới 1,8, xét nghiệm GGT ở máy AU480 có hoạt độ lớn hơn máy TC 3000, trên đồ thị lệch dương.



Hình 1: Biểu đồ khác biệt: Log_{10} của AU480 – Log_{10} của TC3000 so với Log_{10} của AU480 và Log_{10} của TC3000 các xét nghiệm ALT, AST, GGT





Hình 2: Hồi quy Deming cho các kết quả trung bình đã chuyển log₁₀ của xét nghiệm ALT, AST, GGT

Xét nghiệm ALT, AST, GGT có mối tương quan chặt chẽ giữa AU480 và TC3000 ($r > 0,98$, dữ liệu này không đề cập trong bài báo này). Cả ba xét nghiệm ở năm mẫu ngoại kiểm đều cho kết quả giao hoán với mẫu bệnh nhân trong Hình 2. Phương trình Deming fit đối với mẫu bệnh nhân của xét nghiệm ALT: $y = 0,02345 + 0,9971x$; AST: $y = 0,1489 + 0,9303x$; GGT: $y = -0,06184 + 1,014x$.

IV. BÀN LUẬN

Máy tự động hệ thống đóng và máy bán tự động hệ thống mở, đại diện cho đặc tính các phòng xét nghiệm tham gia chương trình

ngoại kiểm. Cả hai quy trình đối với từng xét nghiệm đều sử dụng mẫu chuẩn cùng hãng với hóa chất sử dụng, liên kết chuẩn của các xét nghiệm ALT, AST, GGT đều từ các quy trình tham chiếu của IFCC nằm trong danh sách các quy trình tham chiếu, vật liệu tham chiếu của tổ chức JCTLM. Các chất chuẩn của cả hai hãng đều có traceability theo tiêu chuẩn quốc tế. Khoảng nồng độ các chất khảo sát của các mẫu trong nghiên cứu bao phủ các nồng độ của năm mẫu ngoại kiểm như cách tiếp cận trong hướng dẫn của CLSI EP14-A3[3]. Trong hướng dẫn này, tối thiểu mỗi quy trình cần thực hiện 20 mẫu bệnh nhân, nghiên cứu này đã tiến hành trên 25

mẫu bệnh nhân đối với mẫu xét nghiệm, do đó cỡ mẫu bệnh nhân phù hợp để đánh giá đặc tính giao hoán. Trong quá trình thu thập các mẫu khảo sát, nhóm nghiên cứu không tăng nồng độ các mẫu bằng cách thêm vào các hóa chất tinh khiết tương ứng nhằm tránh thay đổi đặc tính chất nền trong mẫu bệnh nhân ảnh hưởng đến việc đánh giá tính giao hoán. Theo kết quả làm việc của IFCC, đối với mẫu ngoại kiểm muốn so sánh kết quả với nhau, thì tất cả các quy trình đo lường của các đơn vị tham gia đều phải được đánh giá tính giao hoán từng đôi một hoặc tất cả các quy trình đều phải được đánh giá với quy trình đo lường tham chiếu[4].

Các kết quả khảo sát đối với năm mẫu ngoại kiểm được đánh giá tính giao hoán đều nằm trong khoảng cho phép của khoảng dự đoán thiết lập từ mẫu bệnh nhân. Một nghiên cứu đánh giá tính giao hoán giữa 10 mẫu huyết thanh trộn của bệnh nhân có hoạt độ từ 20-200 U/L với hai mẫu huyết thanh đông khô của hãng Biorad giữa quy trình đo lường tham chiếu của IFCC với bốn quy trình đo lường thương mại (Abbott, IL, Siemens, Roche) cho thấy giao hoán ở hoạt độ thấp (62,4 U/L), ở hoạt độ cao (163,1 U/L) không có tính giao hoán với Abbott và Roche, có thể được bổ sung hoạt độ GGT có nguồn từ thận bò [5]. Trong nghiên cứu này mẫu ngoại kiểm giao hoán hoàn toàn với mẫu bệnh nhân có thể là do mẫu ngoại kiểm của TTKC nâng hoạt độ GGT có nguồn gốc từ thận ngựa thay vì thận bò. Theo tác giả Graham việc sử dụng các vật liệu ngoại kiểm có tính giao hoán trở nên rất quan trọng đối với các vùng không có các nhà sản xuất sinh phẩm tin cậy, với các phương pháp tự phát

triển, thiếu hiệu chỉnh hệ thống đo lường của nhà sản xuất, hoặc thiếu dữ liệu so sánh dựa trên các hệ thống đo lường của nhà sản xuất [6]. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với nghiên cứu của tác giả Carlo so sánh đặc tính của huyết thanh kiểm tra và huyết thanh đông khô tại vùng Lombardy của Ý, cho thấy huyết thanh đông khô có vấn đề về tính giao hoán đối với xét nghiệm GGT chủ yếu là đối với kỹ thuật sinh hóa khô, nếu loại bỏ phương pháp sinh hóa khô thì mẫu huyết thanh đông khô có đặc tính tương tự như mẫu huyết thanh đông lạnh[7]. Do đó đối với các xét nghiệm ALT, AST, GGT trong mẫu đông khô vẫn thể hiện được đặc tính giao hoán như mẫu huyết thanh bệnh nhân.

Có nhiều cách tiếp cận trong đánh giá đặc tính giao hoán của mẫu. Từ so sánh CV từ các kết quả của mẫu huyết thanh trộn đông lạnh của bệnh nhân và mẫu huyết thanh đông khô trong các thực nghiệm ở các nồng độ xét nghiệm khác nhau [7]. Cho đến hướng dẫn CLSI EP14-A3 tiến hành đánh giá tính giao hoán dựa vào độ chệch so với mẫu bệnh nhân [3]. Theo IFCC về các yêu cầu độ chệch liên quan hằng định trong khoảng nồng độ của các mẫu bệnh nhân trong lâm sàng, do đó, mỗi nồng độ của mẫu ngoại kiểm phải được đánh giá bằng độ chệch trung bình của các mẫu bệnh nhân để đánh giá[8].

V. KẾT LUẬN

Năm mẫu huyết thanh đông khô dùng trong chương trình ngoại kiểm hóa sinh do Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học- Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh giao hoán với mẫu bệnh nhân đối với

xét nghiệm ALT, AST, GGT khi được đánh giá giữa quy trình đo lường trên hệ thống kín máy sinh hóa tự động Beckman Coulter AU480 và hệ thống mở Teco Diagnostic TC3000.

VI. LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn Ban điều hành, phòng đào tạo và nghiên cứu khoa học, Khoa Xét nghiệm Bệnh viện Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh cơ sở 2 đã tạo điều kiện cho việc lấy mẫu bệnh nhân và cảm ơn Ban Giám đốc Trung tâm Kiểm chuẩn Chất lượng Xét nghiệm Y học- Ban Chủ nhiệm Bộ môn Xét nghiệm- Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh đã tạo điều kiện về mẫu ngoại kiểm, cơ sở vật chất cho nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Việt Tiên, Quyết định 3148/QĐ-BYT, Ban hành danh mục xét nghiệm áp dụng để liên thông, công nhận kết quả xét nghiệm. 2017, Bộ Y tế: Hà Nội.
2. **Organization, T.I.S., ISO 17511.** In vitro diagnostic medical devices – measurement of quantities in biological samples – metrological traceability of values assigned to calibrators and control materials. 2003, ISO: Geneva, Switzerland.
3. **CLSI, Evaluation of Commutability of processed samples: Approved Guideline - Third Edition.** 2014, Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
4. **Budd, J.R., et al.,** IFCC Working Group Recommendations for Assessing Commutability Part 3: Using the Calibration Effectiveness of a Reference Material. Clin Chem, 2018. 64(3): p. 465-474.
5. **Carobene, A., E. Guerra, and F. Ceriotti,** A mechanism-based way to evaluate commutability of control materials for enzymatic measurements. The example of gamma-glutamyltransferase. Clin Chim Acta, 2013. 424: p. 153-8.
6. **Jones, G.R.D., V. Delatour, and T. Badrick,** Metrological traceability and clinical traceability of laboratory results - the role of commutability in External Quality Assurance. Clin Chem Lab Med, 2022. 60(5): p. 669-674.
7. **Ferrero, C.A., et al.,** Behavior of frozen serum pools and lyophilized sera in an external quality-assessment scheme. Clin Chem, 1995. 41(4): p. 575-80.
8. **Miller, W.G., et al.,** IFCC Working Group Recommendations for Assessing Commutability Part 1: General Experimental Design. Clin Chem, 2018. 64(3): p. 447-454.

XÁC ĐỊNH ĐỘ KHÔNG ĐẢM BẢO ĐO MỘT SỐ CHỈ SỐ HÓA SINH TRÊN MÁY ARCHITECT CI4100 TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA HOÀN MỸ MINH HẢI NĂM 2022

Lê Trung Hiếu¹, Châu Thùy Linh¹,
Trần Như Quỳnh¹, Nguyễn Hồng Hạt¹

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Theo yêu cầu ISO 15189:2014, phòng xét nghiệm phải sẵn sàng đưa ra các ước lượng về độ không đảm bảo đo cho người sử dụng. **Mục tiêu nghiên cứu:** 1) Xác nhận giá trị sử dụng một số chỉ số hóa sinh trên máy Architect CI4100 2) Xác định độ không đảm bảo đo một số chỉ số hóa sinh trên máy Architect CI4100 tại bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu thực nghiệm các chỉ số glucose, HbA1c, cholesterol, triglycerid, HDL-C, AST, ALT, urea, creatinin và albumin trên mẫu nội kiểm và mẫu ngoại kiểm từ 1/2022 đến 12/2022. Xác nhận giá trị sử dụng để chứng minh quy trình được thực hiện trong phòng xét nghiệm hiện tại phù hợp. Sau đó, xác định độ không đảm bảo đo tổng hợp và mở rộng. **Kết quả:** Các chỉ số hóa sinh đều đạt xác nhận giá trị sử dụng khi so sánh với công bố NSX và EFLM. Độ không đảm bảo đo mở rộng của glucose là 6,88% và 3,26%, HbA1c là 7,21% và 4,42%, cholesterol là 6,81% và 4,6%, triglycerid là 7,12% và 4,46%, HDL-C là 9,18% và 5,62%, AST là 8,61% và 4,59%, ALT là 9,77% và 5,64%, urea là 6,34%

và 4,48%, creatinin là 9,33% và 4,93% và albumin là 4,53% và 3,83%. **Kết luận:** Các chỉ số hóa sinh đều đạt xác nhận giá trị sử dụng. Xác định được độ không đảm bảo đo một số chỉ số hóa sinh.

Từ khóa: độ không đảm bảo đo, xác nhận giá trị sử dụng, ISO 15189.

SUMMARY

DETERMINATION OF MEASUREMENT UNCERTAINTY SOME BIOCHEMICAL INDICES ON THE ARCHITECT CI4100 MACHINE AT HOAN MY MINH HAI GENERAL HOSPITAL IN 2022

Background: In accordance with the requirements of ISO 15189:2014, the laboratory must be willing to provide estimates of measurement uncertainty to the users. **Objectives:** 1) Verifying the use of some biochemical indices on the Architect CI4100 machine 2) Determining the measurement uncertainty of some biochemical indices on the Architect CI4100 machine at Hoan My Minh Hai general hospital. **Materials and methods:** Experimental study on glucose, HbA1c, cholesterol, triglyceride, HDL-C, AST, ALT, urea, creatinine, albumin on internal control samples and external control samples from 1/2022 to 12/2022. Verification to demonstrate that a procedure performed in a current laboratory is appropriate. Then, determine the combined standard uncertainty and expanded

¹Bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải

Chịu trách nhiệm chính: Lê Trung Hiếu

SĐT: 0949643673

Email: lehiu.lab@gmail.com

Ngày nhận bài: 3.7.2023

Người phản biện khoa học: PGS. Nguyễn Gia Bình

Ngày duyệt bài: 5.7.2023

uncertainty. **Results:** All biochemical indices are verified when compared with published MFG standards and EFLM. The extended uncertainty for glucose are 6,88% and 3,26%, HbA1c are 7,21% and 4,42%, cholesterol are 6,81% and 4,6%, triglycerid are 7,12% and 4,46%, HDL-C are 9,18% and 5,62%, AST are 8,61% and 4,59%, ALT are 9,77% and 5,64%, urea are 6,34% and 4,48%, creatinin are 9,33% and 4,93% and albumin are 4,53% and 3,83%. **Conclusion:** The biochemical indices were verified. Determine the measurement uncertainty of some biochemical indices.

Keywords: measurement uncertainty, verification, ISO 15189.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong quản lý chất lượng xét nghiệm độ không đảm bảo đo rất quan trọng. Vì độ không đảm bảo đo được gắn với kết quả xét nghiệm sẽ cho thấy khoảng giá trị mà trong đó có chứa trị số thực với mức tin cậy p quy định. Nó là một ước tính định lượng cho sự phân tán và thể hiện độ tin cậy với kết quả xét nghiệm [3]. Theo yêu cầu ISO 15189:2014, phòng xét nghiệm phải sẵn sàng đưa ra các ước lượng về độ không đảm bảo đo cho người sử dụng. Dựa vào độ không đảm bảo đo, phòng xét nghiệm cải tiến hệ thống đo lường và nâng cao chất lượng xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm được báo cáo cùng với độ không đảm bảo đo cho phép bác sĩ phân biệt được sự thay đổi lâm sàng của người bệnh hay là do sai số của phương pháp đo. Từ đó, bác sĩ so sánh kết quả xét nghiệm với khoảng tham chiếu để có thể chẩn đoán chính xác. Đồng thời, độ không đảm bảo đo cho phép so sánh các phòng xét nghiệm và các quy trình với nhau. Xác nhận giá trị sử dụng là một hoạt động của phòng xét nghiệm nhằm đánh giá sai số có thể xảy ra trong

phòng xét nghiệm. Xác nhận giá trị sử dụng để chứng minh rằng trước khi trả kết quả cho người bệnh quy trình xét nghiệm đã được đánh giá. Việc lựa chọn các thông số xác nhận giá trị sử dụng tùy thuộc vào quy trình áp dụng, điều kiện và nguồn lực của phòng xét nghiệm. Xác nhận giá trị sử dụng thường bao gồm các thông số là độ chụm, độ đúng. Trước khi tiến hành xác định độ không đảm bảo đo, phòng xét nghiệm cần xác nhận giá trị sử dụng trước để việc cung cấp bằng chứng khách quan rằng quy trình và hệ thống đo lường đáp ứng các yêu cầu về tính năng của nhà sản xuất.

Trên thế giới, nghiên cứu tác giả Chen H [5] tại Trung Quốc, chỉ số glucose có độ không đảm bảo đo mở rộng là 13,58%. Tại Việt Nam, nghiên cứu của tác giả Trần Thị Chi Mai [5], các chỉ số glucose, creatinin, AST và ALT có độ không đảm bảo đo mở rộng lần lượt là 10,46%, 11,88%, 14,12% và 10,28%. Các kết quả nghiên cứu cho thấy có độ không đảm bảo đo khác nhau giữa các nghiên cứu. Tại Cà Mau, chúng tôi chưa ghi nhận có nghiên cứu về việc xác định độ không đảm bảo đo trước đây. Câu hỏi mà chúng tôi đặt ra là độ không đảm bảo đo các chỉ số hóa sinh tại bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải là bao nhiêu? Vì thế chúng tôi đi đến thực hiện nghiên cứu:

“Xác định độ không đảm bảo đo một số chỉ số hóa sinh trên máy Architect CI4100 tại bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải năm 2022” với mục tiêu sau:

1. Xác nhận giá trị sử dụng một số chỉ số hóa sinh trên máy Architect CI4100
2. Xác định độ không đảm bảo đo một số chỉ số hóa sinh trên máy Architect CI4100 tại bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Mẫu nội kiểm và ngoại kiểm từ 1/2022 đến 12/2022.

- Tiêu chuẩn chọn mẫu:

- Mẫu nội kiểm còn hạn sử dụng, bảo quản ở nhiệt độ < âm 20°C, hoàn nguyên đúng 5mL. Mẫu ngoại kiểm được bảo quản ở nhiệt độ 2-8°C.

- Tiêu chuẩn loại trừ: mẫu nội kiểm và ngoại kiểm có dấu hiệu bị nấm mốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu thực nghiệm.

- Cỡ mẫu: theo quyết định số 2429/QĐ-BYT ngày 12 tháng 6 năm 2017 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học [1], nghiên cứu trên mẫu nội kiểm ở mỗi mức nồng độ với số lần phân tích là $n=20$ và mẫu ngoại kiểm là $n=12$ cho mỗi chỉ số. Bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải cần xác định 10 chỉ số hóa sinh. Tổng số mẫu nội kiểm nghiên cứu ở 2 mức nồng độ (trung bình và cao) là $10 \times 40 = 400$ mẫu và mẫu ngoại kiểm là $10 \times 12 = 120$ mẫu.

- Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu có chủ đích.

- Nội dung nghiên cứu:

2.2.1. Chuẩn bị mẫu nghiên cứu

- Mẫu nội kiểm Technopath multichem S plus 2,3 của Abbott được chuẩn bị và phân tích như sau:

Mẫu nội kiểm được bảo quản ở nhiệt độ < âm 20°C và hoàn nguyên ở nhiệt độ từ 18°C đến 25°C trong 30 phút. Xoay nhẹ lọ mẫu nội kiểm để trộn đều mẫu trong 15 phút. Hút mẫu nội kiểm từ lọ sang cốc chứa mẫu và thực hiện phân tích.

- Mẫu ngoại kiểm của Randox được chuẩn bị và phân tích như sau:

Hoàn nguyên mẫu ngoại kiểm với 5mL nước cất ở nhiệt độ từ 20°C đến 25°C. Trộn đều và để yên trong 60 phút ở nơi tránh ánh sáng trước khi sử dụng. Hút mẫu ngoại kiểm từ lọ sang cốc chứa mẫu và thực hiện phân tích.

2.2.2. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu

- Mẫu nội kiểm: các chỉ số glucose, HbA1c, cholesterol, triglycerid, HDL-C, AST, ALT, urea, creatinin và albumin xác định giá trị trung bình (mean_{KXN}), độ lệch chuẩn (SD_{KXN}).

- Mẫu ngoại kiểm: các chỉ số glucose, HbA1c, cholesterol, triglycerid, HDL-C, AST, ALT, urea, creatinin và albumin xác định giá trị kết quả ngoại kiểm của khoa xét nghiệm (x), giá trị ấn định của trung tâm kiểm chuẩn xét nghiệm thành phố Hồ Chí Minh (X).

2.2.3. Xác nhận giá trị sử dụng các chỉ số hóa sinh

- Độ chụm: được thể hiện bằng độ lặp lại và độ tái lặp

+ Độ lặp lại: tính SD_{KXN} ($\text{SD}_{\text{lặp lại}}$) và mean_{KXN} , từ đó tính hệ số biến thiên $\text{CV}_{KXN} = (\text{SD}_{KXN} / \text{mean}_{KXN}) \times 100$ [4] của 4 lần phân tích mẫu nội kiểm cùng 1 ngày.

+ Độ tái lặp: tính SD_{KXN} ($\text{SD}_{\text{tái lặp}}$) và mean_{KXN} , từ đó tính hệ số biến thiên $\text{CV}_{KXN} = (\text{SD}_{KXN} / \text{mean}_{KXN}) \times 100$ [4] của 20 lần phân tích mẫu nội kiểm trong 5 ngày.

+ Tiêu chuẩn đạt xác nhận độ chụm [1]:

. Độ lặp lại: nếu $\text{CV}_{KXN} \leq \text{CV}_{NSX}$ thì đạt,

. Độ tái lặp nếu $\text{CV}_{KXN} \leq \text{CV}_{NSX}$ thì đạt,

- Độ đúng: được thể hiện bằng độ chệch

+ Tính độ chệch: từ công thức tính độ chệch (bias-D): $D = x - X$ [4], khoa xét nghiệm tính độ chệch trung bình trong 12 tháng thực hiện ngoại kiểm, trong đó:

. x: kết quả ngoại kiểm của khoa xét nghiệm, 12 giá trị x tương ứng từng tháng.

. X: giá trị ấn định của trung tâm kiểm chuẩn xét nghiệm thành phố Hồ Chí Minh, 2 giá trị X tương ứng từng tháng.

+ Từ công thức tính độ chệch theo tỷ lệ %: $D\% = \left(\frac{x-X}{X}\right) \times 100$ [4], khoa xét nghiệm tính độ chệch theo tỷ lệ % trong 12 tháng:

+ So sánh với giá trị bias ở mức mong muốn tính từ các nghiên cứu biến động sinh học của hiệp hội các phòng xét nghiệm y học và sinh hóa lâm sàng Châu Âu (EFLM: european federation of clinical chemistry and laboratory medicine).

+ Tiêu chuẩn đạt xác nhận độ đúng: $bias_{SKXN}(\%) < bias_{SEFLM}(\%)$.

2.2.4. Áp dụng phương pháp top-down từ nguồn dữ liệu thu thập thực hiện xác nhận giá trị sử dụng:

+ Xác định độ không đảm bảo đo tổng hợp (U_c) bằng công thức tính:

$$U_c = \sqrt{SD_{\text{lặp lại}}^2 + SD_{\text{tái lặp}}^2 + bias_{KXN}^2}$$

+ Xác định độ không đảm bảo đo mở rộng (U) theo công thức [3]

$U = k \times U_c$, trong đó:

. k: hệ số phủ $k = 2$ với mức tin cậy $p = 95\%$ [3].

+ Xác định độ không đảm bảo đo mở rộng theo đơn vị (%):

$$U(\%) = (U/\text{mean}_{KXN}) \times 100.$$

- Phương pháp xử lý, phân tích số liệu

Số liệu sau khi thu thập được xử lý và phân tích bằng chương trình Microsoft Excel 2019. Tính trung bình dùng hàm average, độ lệch chuẩn dùng hàm stdev.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Đặc điểm mẫu nội kiểm Technopath multichem S plus 2, 3

Chỉ số	n	Đơn vị	Nồng độ 2		Nồng độ 3	
			mean	SD	mean	SD
Glucose	20	mmol/L	6,21	0,1	16,9	0,1
HbA1c	20	%	5,3	0,01	10,05	0,1
Cholesterol	20	mmol/L	4,13	0,03	6,3	0,04
Triglycerid	20	mmol/L	1,8	0,02	2,3	0,02
HDL-C	20	mmol/L	1,46	0,01	2,2	0,02
AST	20	IU/L	107,8	0,8	278,8	2,7
ALT	20	IU/L	75,6	1,4	191,7	2,6
Urea	20	mmol/L	13,27	0,2	21,24	0,3
Creatinin	20	$\mu\text{mol/L}$	171,91	4,7	566,5	11,2
Albumin	20	g/L	39,1	0,3	51,3	0,4

Nhận xét: Chỉ số HbA1c có giá trị trung bình (nồng độ 2 và 3) là $5,3 \pm 0,01\%$ và $10,05 \pm 0,1\%$.

Bảng 3.2. Đặc điểm mẫu ngoại kiểm hóa sinh của Randox từ tháng 1 đến tháng 6

Chỉ số	Tháng 1	Tháng 2	Tháng 3	Tháng 4	Tháng 5	Tháng 6
	x ₁ -X ₁	x ₂ -X ₂	x ₃ -X ₃	x ₄ -X ₄	x ₅ -X ₅	x ₆ -X ₆
Glucose	5,93-6,07	1,97-1,99	15,8-15,57	5,8-5,84	19,14-19,73	5,88-5,89
HbA1c	4,6-5,29	10,5-10,3	5,3-5,22	10,6-10,19	5,3-5,19	10,6-10,15
Cholesterol	5-4,1	3,11-3,08	7,56-7,49	4,11-4,16	7,3-7,66	4,15-4,14
Triglycerid	0,87-1,08	0,23-0,23	2,77-2,86	0,99-1	4,45-4,57	0,99-0,98
HDL	1,56-1,47	1,1-1,14	2,64-2,6	1,47-1,53	2,55-2,68	1,47-1,45
AST	28-30,11	7-8,03	139-142,35	31-31,57	157-169,78	32-32,13
ALT	40-39,58	12-11,84	136-134,03	39-38,76	131-142,67	39-37,11
Urea	7,5-7,38	2,2-2,26	20,2-20,33	7,2-7,07	25,9-25,18	8,1-7,19
Creatinin	136-138	62-65	454-436	131-130	617-618	139-136
Albumin	40-40,48	21-21,41	29-29,55	41-41,48	51-54,02	41-40,58

Nhận xét: Tháng 4, glucose có giá trị x là 5,84 mmol/L và X là 5,84 mmol/L

Bảng 3.3. Đặc điểm mẫu ngoại kiểm hóa sinh của Randox từ tháng 7 đến tháng 12

Chỉ số	Tháng 7	Tháng 8	Tháng 9	Tháng 10	Tháng 11	Tháng 12
	x ₇ -X ₇	x ₈ -X ₈	x ₉ -X ₉	x ₁₀ -X ₁₀	x ₁₁ -X ₁₁	x ₁₂ -X ₁₂
Glucose	5,7-5,96	15,66-15,59	5,89-6,07	15,4-15,61	1,95-1,97	15,35-15,55
HbA1c	13,1-13,2	4,7-4,63	7,9-7,89	11,1-11,03	5,2-5,13	10,8-10,81
Cholesterol	3,91-3,98	7,61-7,58	4,09-4,13	7,69-7,72	3,06-3,09	7,46-7,46
Triglycerid	1,04-1,02	2,88-2,87	1,05-1,06	2,86-2,82	0,25-0,28	2,81-2,83
HDL	1,42-1,36	2,53-2,63	1,37-1,42	2,6-2,53	1,18-1,17	2,69-2,62
AST	30-31,39	130-131,41	37-32,45	147-128,98	9-7,99	159-166,16
ALT	44-40,6	145-141,86	33-36,12	130-132,58	12-11,51	120-125
Urea	8,7-7,8	20,7-20,29	7,6-7,51	20,5-20,88	2,6-2,31	20,2-20,32
Creatinin	124-133	368-388	142-141	373-380	73-65	434-432
Albumin	43-42,46	29-28,83	40-40,87	30-30	22-21,53	30-29,4

Nhận xét: Tháng 12, cholesterol có giá trị x là 7,46 mmol/L và X là 7,46 mmol/L

Bảng 3.4: Xác nhận giá trị sử dụng một số chỉ số hóa sinh

Chỉ số	Nồng độ	Độ chụm				Độ đúng	
		Độ lặp lại (%)		Độ tái lặp (%)		bias KXN (%)	bias EFLM (%)
		CV KXN	CV NSX	CV KXN	CV NSX		
Glucose	2	1,05	5	1,61	5	1,66	2,4
	3	1,4		0,59			
HbA1c	2	0,19	3	0,19	3	2,31	1,8
	3	0,6	5	1	5		
Cholesterol	2	0,58	3	0,73	3	2,52	4,4
	3	0,5		0,6			

Triglycerid	2	2,22	5	1,11	5	2,57	10,6
	3	0,6		0,87			
HDL-C	2	1	4	0,68	4	3,35	6,2
	3	1,05		0,91			
AST	2	0,89	4,6	0,74	4,6	5,86	5,7
	3	1,31		0,97			
ALT	2	2,54	5,2	1,85	5,2	3,82	7,7
	3	2		1,36			
Urea	2	0,88	4,5	1,51	4,5	2,88	6,3
	3	0,7		1,41			
Creatinin	2	1,46	6	2,73	6	2,35	3,7
	3	1,04		1,98			
Albumin	2	1,3	3,3	0,77	3,3	1,9	1,4
	3	1,1		0,78			

Nhận xét: các chỉ số hóa sinh có độ chụm và độ đúng nhỏ hơn công bố nhà sản xuất và EFLM.

Bảng 3.5: Độ không đảm bảo đo một số chỉ số hóa sinh

Chỉ số	Nồng độ 2		Nồng độ 3	
	Uc	U (%)	Uc	U (%)
Glucose	0,21	6,88	0,28	3,26
HbA1c	0,19	7,21	0,22	4,42
Cholesterol	0,14	6,81	0,14	4,60
Triglycerid	0,06	7,14	0,05	4,46
HDL-C	0,07	9,18	0,11	5,62
AST	4,64	8,61	6,39	4,59
ALT	3,69	9,77	5,41	5,64
Urea	0,42	6,34	0,48	4,48
Creatinin	8,02	9,33	13,97	4,93
Albumin	0,89	4,53	0,98	3,83

Nhận xét: chỉ số glucose có độ không đảm bảo đo mở rộng (nồng độ 3) là 3,26% thấp nhất so với các chỉ số ở các mức nồng độ còn lại. ALT có độ không đảm bảo đo mở rộng (nồng độ 2) là 9,77% cao nhất so với các chỉ số ở các mức nồng độ còn lại.

IV. BÀN LUẬN

Với mẫu nội kiểm Technopath multichem S plus 2, 3 các chỉ số hóa sinh có giá trị trung bình được tính từ 20 lần phân

tích mẫu nội kiểm cho mỗi mức nồng độ. Kết quả phân tích nằm trong giới hạn kiểm soát $\pm 2SD$ phù hợp để thực hiện xác nhận giá trị sử dụng và xác định độ không đảm bảo đo. Trong đó, giá trị trung bình (nồng độ 2) chỉ số cholesterol là $4,13 \pm 0,03$ mmol/L, chỉ số creatinin là $171,91 \pm 4,7$ μ mol/L. So sánh với nghiên cứu tác giả Trịnh Phương Dung [2], chỉ số cholesterol có giá trị trung bình là $4,07 \pm 0,05$ mmol/L, chỉ số creatinin có giá trị trung bình là $121,52 \pm 3,9$ μ mol/L. Nhận thấy,

nghiên cứu của tác giả Trịnh Phương Dung [2], giá trị trung bình chỉ số cholesterol và creatinin có kết quả nhỏ hơn. Mẫu nghiên cứu nội kiểm của Abbott và ngoại kiểm của Randox có giá trị phù hợp theo yêu cầu ISO 15189:2014 khi xác định độ không đảm bảo đo ở mức nồng độ liên quan ngưỡng quyết định lâm sàng.

Trong kết quả xác nhận giá trị sử dụng các chỉ số hóa sinh, độ chụm và độ đúng các chỉ số glucose, HbA1c, cholesterol, triglycerid, HDL-C, AST, ALT, urea, creatinin và albumin có CV_{KXN} nhỏ hơn công bố NSX và $bias_{KXN}$ nhỏ hơn giá trị $bias_{EFLM}$ tính từ các nghiên cứu biến động sinh học của hiệp hội các phòng xét nghiệm y học và sinh hóa lâm sàng Châu Âu (EFLM). Ngoại trừ 2 chỉ số HbA1c và albumin có giá trị $bias_{KXN}$ là 2,31% và 1,9% lớn hơn $bias_{EFLM}$ ở mức mong muốn là 1,8% và 1,4% nhưng vẫn nhỏ hơn giá trị $bias_{EFLM}$ ở mức tối thiểu là 2,7% và 2,1%. Trong đó, độ tái lập (nồng độ 2) các chỉ số cholesterol, triglycerid, urea và creatinin có kết quả CV_{KXN} lần lượt là 0,73%, 1,11%, 1,51%, và 2,73%. So sánh với nghiên cứu của tác giả Trịnh Phương Dung [2], độ tái lập các chỉ số cholesterol, triglycerid, urea, và creatinin có kết quả CV_{KXN} là 1,57%, 2,08%, 3,86% và 3,84%. Nhận thấy, nghiên cứu của tác giả Trịnh Phương Dung [2] độ tái lập có kết quả CV_{KXN} lớn hơn ở tất cả các chỉ số trên. Về tổng thể, các chỉ số hóa sinh được thực hiện nghiên cứu đều đạt xác nhận giá trị sử dụng khi so sánh với công bố NSX. Do đó, chúng tôi tiến hành xác định độ không đảm bảo đo theo mục tiêu ban đầu đặt ra.

Trong kết quả xác định độ không đảm bảo đo các chỉ số hóa sinh, nghiên cứu đã

xác định chỉ số glucose có độ không đảm bảo đo mỡ rộng (nồng độ 3) là 3,26% thấp nhất so với các chỉ số ở các mức nồng độ còn lại. Chỉ số ALT có độ không đảm bảo đo mỡ rộng (nồng độ 2) là 9,77% cao nhất so với các chỉ số ở các mức nồng độ còn lại. Trong đó, các chỉ số glucose, creatinin, AST và ALT có độ không đảm bảo đo mỡ rộng (nồng độ 2) lần lượt là 6,88%, 9,33%, 8,61% và 9,77% so sánh với nghiên cứu tác giả Martinello Flávia [7], chỉ số creatinin có độ không đảm bảo đo mỡ rộng là 12,4%. Nghiên cứu tác giả Chen H [5], chỉ số glucose có độ không đảm bảo đo mỡ rộng là 13,58%. Nhận thấy, nghiên cứu tác giả Martinello Flávia [7] và Chen H [5] chỉ số creatinin và glucose đều có kết quả độ không đảm bảo đo lớn hơn nghiên cứu chúng tôi. Ngoài ra, chỉ số HbA1c có độ không đảm bảo đo mỡ rộng (nồng độ 2) là 7,21% so sánh với nghiên cứu của tác giả Galindo-Mendez M [6], chỉ số HbA1c có độ không đảm bảo đo được xác định từ kết quả mẫu nội kiểm là 0,19% và kết quả mẫu ngoại kiểm là 0,43%. Nhận thấy, nghiên cứu của tác giả Galindo-Mendez M [6] có kết quả nhỏ hơn. So sánh với nghiên cứu của tác giả Trần Thị Chi Mai [3], các chỉ số glucose, creatinin, AST và ALT có độ không đảm bảo đo mỡ rộng là 10,46%, 11,88%, 14,12% và 10,28%. Nhận thấy, nghiên cứu của tác giả Trần Thị Chi Mai [3] có kết quả lớn hơn ở tất cả các chỉ số trên. Khi so sánh với nghiên cứu của tác giả Trần Thị Chi Mai [3] với chúng tôi có thể do khác nhau đối tượng nghiên cứu. nghiên cứu của chúng tôi sử dụng mẫu nội kiểm Technopath của Abbott. Trong khi đó, nghiên cứu của tác giả Trần Thị Chi Mai [3] sử dụng cả mẫu nội kiểm ITA để xác định độ không đảm bảo đo. Khi so sánh với tác giả Chen H [5] với chúng tôi

có thể do khác nhau về trang thiết bị và hóa chất. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng hóa chất và thiết bị Architect CI4100 của Abbott. Trong khi đó, nghiên cứu của tác giả Chen H [5] sử dụng hóa chất và trang thiết bị của Roche. Các chỉ số cholesterol, triglycerid, HDL-C, urea và albumin có kết quả độ không đảm bảo đo mở rộng (nồng độ 2) lần lượt là 6,81%, 7,14%, 9,18%, 6,34% và 4,53% so sánh với nghiên cứu tác giả Gu H [8], các chỉ số cholesterol, triglycerid, HDL-C, urea và albumin có kết quả độ không đảm bảo đo mở rộng là 3,56%, 2,59%, 4,66%, 4,37% và 2,94%. Nhận thấy, nghiên cứu tác giả Gu H [8] có kết quả nhỏ hơn. Khi so sánh với tác giả Gu H [8] với chúng tôi có thể do khác nhau về số lượng lô hóa chất sử dụng trong nghiên cứu. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng một lô duy nhất trong suốt quá trình thu thập mẫu. Nghiên cứu của tác giả Gu H [8] sử dụng nhiều lô hóa chất trong suốt quá trình thu thập mẫu. Do độ không đảm bảo đo có thể khác nhau phụ thuộc vào thiết bị và số lượng lô hóa chất sử dụng, chúng tôi kiến nghị bệnh viện nên tiếp tục bảo trì trang thiết bị và nên sử dụng hóa chất cùng lô để nâng cao chất lượng xét nghiệm.

V. KẾT LUẬN

Các chỉ số hóa sinh trên máy máy Architect CI4100 đạt giá trị sử dụng khi so sánh với công bố nhà sản xuất và EFLM. Xác định được độ không đảm bảo đo mở rộng một số chỉ số hóa sinh trên máy Architect CI4100 tại bệnh viện Đa khoa Hoàn Mỹ Minh Hải.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Sổ tay hướng dẫn đánh giá việc thực hiện tiêu chí đánh giá mức chất lượng phòng xét nghiệm y học: Bộ y tế, Nhà xuất bản Y học**, 2018, tr. 41-50.
2. **Trịnh Thị Phương Dung**, "Áp dụng hướng dẫn EP15 của CLSI trong xác nhận phương pháp cho một số chỉ hóa sinh trên máy AU5800", Nhà xuất bản Y học TP Hồ Chí Minh, 2018, tr. 211-216.
3. **Trần Thị Chi Mai**, "Đánh giá độ không đảm bảo đo của một số xét nghiệm hóa sinh", Tạp chí nghiên cứu Y học, 2016, tr. 53-59.
4. **Ngoại kiểm tra chất lượng xét nghiệm: Trần Hữu Tâm**, Nhà xuất bản Y học, 2015, tr. 35-37.
5. **Chen H, Zhang L, Bi X**, "Two evaluation budgets for the measurement uncertainty of glucose in clinical chemistry", Korean J Lab Med, 2011, pp. 167-71.
6. **Galindo-Mendez M, Sanchez-Lopez A, Cruz-Fuentes L**, "The estimation of uncertainty of measurement of glycosylated hemoglobin as an analytical performance specification and in the interpretation of its results", Clin Biochem, 2019, pp. 92-96.
7. **Martinello Flávia, Snoj Nada, Skitek Milan**, "The top-down approach to measurement uncertainty: which formula should we use in laboratory medicine?", Biochimica Medica, 2020, pp. 187-195.
8. **Gu H, et al**, "Practical Considerations for Clinical Laboratories in Top-down Approach for Assessing the Measurement Uncertainty of Clinical Chemistry Analytes", Ann Lab Med, 2022, pp. 630-637.