

- Peyronie's disease: a critical analysis. *Eur Urol.* 2006;50(2):235-248. doi:10.1016/j.eururo.2006.04.030
- Ralph D, Gonzalez-Cadavid N, Mirone V, et al.** The management of Peyronie's disease: evidence-based 2010 guidelines. *J Sex Med.* 2010;7(7): 2359-2374. doi: 10. 1111/j.1743-6109.2010. 01850.x
 - Yachia D.** Text Atlas of Penile Surgery. 0 ed. CRC Press; 2007. doi:10.3109/9780203007198
 - Awwad Z, Abu-Hijleh M, Basri S, Shegam N, Murshidi M, Ajlouni K.** Penile measurements in normal adult Jordanians and in patients with erectile dysfunction. *Int J Impot Res.* 2005;17(2):191-195. doi:10.1038/sj.ijir.3901272
 - Hatzichristodoulou G.** Grafting techniques for Peyronie's disease. *Transl Androl Urol.* 2016;5(3):334-341. doi:10.21037/tau.2016.03.16
 - Kozacioglu Z, Degirmenci T, Gunlusoy B, et al.** Effect of tunical defect size after Peyronie's plaque excision on postoperative erectile function: do centimeters matter? *Urology.* 2012;80(5): 1051-1055. doi:10.1016/j.urology.2012.07.037
 - Pryor JP, Ralph DJ.** Clinical presentations of Peyronie's disease. *Int J Impot Res.* 2002;14(5):414-417. doi:10.1038/sj.ijir.3900877
 - Kadioglu A, Sanli O, Akman T, Ersay A, Guven S, Mammadov F.** Graft materials in Peyronie's disease surgery: a comprehensive review. *J Sex Med.* 2007;4(3):581-595. doi:10.1111/j.1743-6109.2007.00461.x

ỨNG DỤNG KỸ THUẬT MULTIPLEX LIGATION - DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA) KHẢO SÁT ĐỘT BIẾN MẤT ĐOẠN GEN CYP21A2 GÂY BỆNH TĂNG SẢN THƯỢNG THẬN BẨM SINH

Nguyễn Nhật Quỳnh Như¹,
Nguyễn Huỳnh Minh Quân¹, Hoàng Anh Vũ¹

TÓM TẮT

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (TSTTBS) là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do thiếu hụt enzyme 21-hydroxylase. Sự thiếu hụt enzyme 21-hydroxylase xảy ra do các đột biến trên gen CYP21A2. Khoảng 20-25% bệnh nhân TSTTBS mang các đột biến về thay đổi số lượng bản sao như mất đoạn, lặp đoạn hoặc đảo đoạn gen CYP21A2. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu khảo sát mất đoạn gen CYP21A2 gây bệnh TSTTBS bằng kỹ thuật MLPA. 30 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzyme 21-OH; DNA được tách chiết từ mẫu máu; kỹ thuật MLPA được thực hiện để xác định mất/lặp đoạn gen. Kết quả phát hiện 6 bệnh nhân (20%) đột biến mất đoạn đồng hợp tử và 6 bệnh nhân (20%) có mất đoạn dị hợp tử. Trong các đột biến mất đoạn đồng hợp tử, mất đoạn từ exon 1 đến exon 3 chiếm tỷ lệ cao nhất (50%), thứ hai là mất đoạn từ exon 1 đến exon 7 (33,3%) và còn lại là kiểu gen mất đoạn từ exon 4 đến exon 7 (16,7%). **Từ khóa:** TSTTBS, CYP21A2, mất đoạn gen, MLPA

SUMMARY

APPLICATION OF MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA) IN DETECTING DELETION/DUPLICATION OF CYP21A2 CAUSING CONGENITAL ADRENAL

¹Đại học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Nhật Quỳnh Như

Email: nnqnhu@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 14.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 21.12.2023

Ngày duyệt bài: 15.01.2024

HYPERPLASIA DISEASE

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) is an autosomal recessive disorder usually caused by a deficiency of the enzyme 21-hydroxylase. The deficiency of the enzyme 21-hydroxylase occurs due to mutations in the CYP21A2 gene. Approximately 20-25% of patients with CAH carry mutations in copy number alterations such as deletions, duplications, or inversions of the CYP21A2 gene. The study was carried out with the aim of evaluating the CYP21A2 gene deletions using MLPA technique. 30 patients were diagnosed with congenital adrenal hyperplasia with 21-hydroxylase deficiency were collected; DNA extracted from blood samples was carried out; MLPA technique was performed to identify deletion/duplication genes. The results found that 6 patients (20%) with homozygous deletion and 6 patients (20%) with heterozygous deletion. Among homozygous deletion mutants, deletion from exon 1 to exon 3 accounts for the highest percentage (50%), second is deletion from exon 1 to exon 7 (33.3%) and the remaining is deletion from exon 4 to exon 7 (16.7%). **Keywords:** Congenital adrenal hyperplasia, CYP21A2, homozygous deletion, MLPA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tăng sản thượng thận bẩm sinh (TSTTBS, Congenital Adrenal Hyperplasia, viết tắt là CAH) là bệnh nội tiết di truyền do giảm hoặc mất hoàn toàn một trong những enzyme tham gia vào quá trình tổng hợp hormone cortisol từ cholesterol của vỏ thượng thận. Thiếu hụt enzyme 21-hydroxylase (21-OH) là thể bệnh hay gặp nhất chiếm tỷ lệ 90-95% các ca bệnh (1). Tùy theo

mức độ thiếu hụt enzyme 21-OH một phần hay hoàn toàn mà gây ra các thể lâm sàng như mất muối (Salt-wasting-SW), nam hóa đơn thuần (Simple virilizing-SV), hoặc không cổ điển (non-classic) (1,2). Tần suất mắc bệnh nằm trong khoảng từ 1:10000 đến 1:20000 trẻ sơ sinh và khác nhau giữa các quốc gia, chủng tộc (2).

Sự thiếu hụt enzyme 21-OH xảy ra do các đột biến trên gen CYP21A2 mã hóa tổng hợp enzyme 21-OH. Gen CYP21A2 và giả gen CYP21P nằm trên nhiễm sắc thể số 6p21.3 trong phức hợp hòa hợp mô chủ yếu (Major human histocompatibility complex – HLA) có chiều dài xấp xỉ 30 kb. Mỗi gen CYP21A2 và CYP21P gồm 10 exons, trình tự tương đồng giữa hai gen trên các exon là 98% và trên các intron là 96% (1). Hầu hết đột biến gen trên gen CYP21A2 là hậu quả của quá trình tái tổ hợp giữa 2 gen CYP21A2 và CYP21A1P dẫn đến các đột biến điểm, đột biến mất đoạn, lặp đoạn hoặc đảo đoạn gen. Khoảng 20-25% bệnh nhân TSTTBS mang các đột biến về thay đổi số lượng bản sao như mất đoạn, lặp đoạn hoặc đảo đoạn gen do sự trao đổi chéo không tương xứng trong quá trình giảm phân trên gen CYP21A2 (3). Các đột biến lớn kể trên có thể làm mất hoàn toàn hoạt tính của enzyme 21-OH gây ra thể mất muối, thể nghiêm trọng nhất của bệnh TSTTBS. Vì vậy việc áp dụng phương pháp chẩn đoán phát hiện sớm các đột biến này trên gen CYP21A2 có ý nghĩa quan trọng, giúp bác sĩ có phác đồ điều trị thích hợp cho bệnh nhân và hỗ trợ tư vấn di truyền.

Kỹ thuật MLPA (Multiplex Ligation – Dependent Probe Amplification) ra đời và được áp dụng rộng rãi trong chẩn đoán các bệnh rối loạn di truyền do thay đổi lượng gen, đặc biệt là các đột biến mất đoạn hoặc lặp đoạn gen. Kỹ thuật MLPA có ưu điểm về thời gian thực hiện nhanh, cùng lúc có thể làm với số lượng mẫu lớn và có độ chính xác cao (4,5). Vì vậy chúng tôi thực hiện đề tài này với mục tiêu: *Ứng dụng kỹ thuật MLPA khảo sát mất đoạn gen CYP21A2 gây bệnh TSTTBS.*

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nhóm nghiên cứu: mẫu máu ngoại biên của 30 bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh tăng sản thượng thận bẩm sinh thể thiếu enzyme 21-OH được lấy theo quy chuẩn của các bệnh viện. Nghiên cứu được tiến hành tại Trung tâm Y sinh học Phân tử, Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh. Nghiên cứu đã được thông qua bởi Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Đại

học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh theo quyết định số 570/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 09/6/2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Quy trình lấy mẫu và tách chiết DNA.

Bệnh nhân được lấy 2 ml máu ngoại biên chứa trong ống EDTA Vacutanier (Becton Dickinson) và tách chiết DNA trong vòng 24 giờ. Quy trình tách chiết DNA được thực hiện theo quy trình bộ kit GeneJET Genomic DNA Purification Kit (Thermo Scientific, USA).

Đo nồng độ và độ tinh sạch DNA. Sản phẩm được kiểm tra bằng máy NanodropTM 2000 Spectrophotometer (Thermo Scientific) để đánh giá độ tinh sạch và xác định nồng độ DNA. Các mẫu DNA có nồng độ từ 50 đến 250ng/μl và đạt tiêu chuẩn về độ tinh sạch ở bước sóng 260/280 > 1,8 trở lên được sử dụng để thực hiện phản ứng MLPA.

Phản ứng MLPA. Sử dụng bộ kit SALSA MLPA Probemix P050-C1 CAH (MRC-Holland, Amsterdam, the Netherlands) để sàng lọc các đột biến mất đoạn trên gen CYP21A2. Bộ kit P050 CAH bao gồm 27 probe trong đó có 8 probe cho gen CYP21A2 (Ex1, Ex3, Ex4, Ex6, Ex7), 4 probe cho gen CYP21A1P (Ex1, Ex 3, Ex 4, Ex 7), 6 probes cho gen TNXB, 1 probe cho gen ATF6B và 8 probe đặc trưng cho gen người làm đối chứng.

Quy trình phản ứng MLPA như sau:

Phản ứng lai: 50 ng DNA (hòa trong 2,5 μl) được biến tính và lai với 1,5 μl hỗn hợp probe cùng với 1,5 μl buffer MLPA ở 60°C trong khoảng 18 giờ (qua đêm).

Phản ứng nối: Enzyme ligase được bổ sung vào các mẫu và ủ ở 54°C trong 15 phút. Sau đó nhiệt độ được tăng lên 98°C trong 5 phút để phá hủy enzyme ligase và tiến hành thực hiện quy trình nhiệt của phản ứng PCR để khuếch đại các probe.

Phản ứng PCR: Nhiệt độ được tăng lên 60°C trước khi đi vào chu trình nhiệt. Thành phần phản ứng PCR gồm primer, polymerase, buffer, dNTP, nước. Chu trình nhiệt: 90°C trong 20 giây, 65°C trong 30 giây, 72°C trong 60 giây, lặp lại 35 chu kỳ. Sau đó kéo dài kết thúc ở 72°C trong 20 phút.

Cuối cùng, nhiệt độ được hạ xuống còn 4°C. Sản phẩm sau khuếch đại được phân tách đoạn trên hệ thống điện di mao quản Applied Biosystems ABI 3500.

2.3. Phân tích dữ liệu. Kết quả sau khi điện di mao quản được phân tích bằng phần mềm Gene Marker V 1.97 (SoftGenetics, USA) nhằm xác định đột biến mất đoạn gen. Kích thước của mỗi tín hiệu được xác định nhờ so

sánh với thang kích thước của mẫu đối chứng để tính ra tỉ lệ FR (Final Ratio). Trường hợp bệnh nhân không bị đột biến mất đoạn hoặc lặp đoạn gen thì tỷ lệ FR nằm trong khoảng 0,7 – 1,35. Bệnh nhân bị đột biến mất đoạn dạng đồng hợp tử khi FR bằng 0 và dị hợp tử khi FR nhỏ hơn 0,7, nếu giá trị FR lớn hơn 1,35 thì bệnh nhân bị đột biến lặp đoạn dị hợp tử. Kết quả phân tích còn được quan sát qua biểu đồ chiều cao các probe để so sánh với mẫu đối chứng, trường hợp mất đoạn đồng hợp tử khi không ghi nhận đỉnh tại các probe khảo sát, trường hợp dị hợp tử xảy ra khi chiều cao các probe ở mẫu bệnh bằng ½ chiều cao probe ở mẫu đối chứng.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong nghiên cứu này, chúng tôi ghi nhận 18 (60%) bệnh nhân có kiểu hình mất muối, 6 (20%) bệnh nhân có kiểu hình nam hóa đơn thuần và 6 (20%) bệnh nhân kiểu hình thể không điển hình.

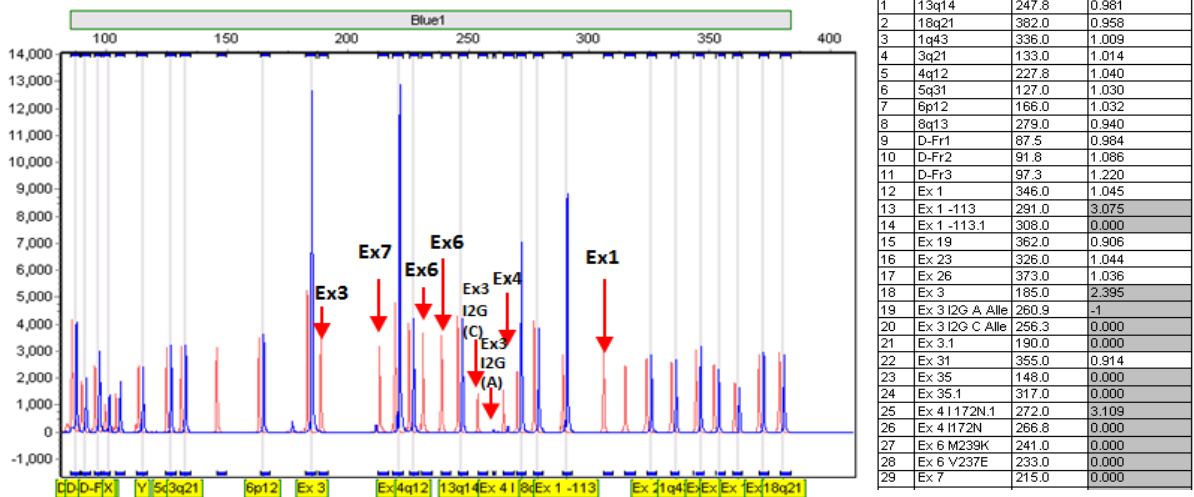
Mẫu bệnh nhân được thực hiện phản ứng MLPA song song với mẫu đối chứng (người bình thường) để so sánh và phân tích kết quả. Trong 30 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, chúng tôi phát hiện 12/30 (40%) trường hợp mang đột biến mất đoạn gen CYP21A2. Trong số này, mất đoạn đồng hợp tử chiếm tỷ lệ 20% và mất đoạn dị hợp tử chiếm 20%.

Mất đoạn đồng hợp tử trên gen CYP21A2. Trong nhóm bệnh nhân mang đột biến mất đoạn đồng hợp tử, mất đoạn từ exon 1 đến exon 3 có tỷ lệ cao nhất (50%), đứng thứ hai là mất đoạn từ exon 1 đến exon 7 (33,3%), và còn lại là đột biến mất đoạn từ exon 4 đến exon 7 (16,7%) (Bảng 1).

Bảng 1. Kết quả phát hiện đột biến mất đoạn đồng hợp tử trên gen CYP21A2

Kiểu gen	Thể bệnh	Số ca bệnh (n)	Tỷ lệ %
Del exon 1-3/ Del exon 1-3	Mất muối	3	50%
Del exon 1-7/ Del exon 1-7	Mất muối	2	33,3%
Del exon 4-7/ Del exon 4-7	Mất muối	1	16,7%
Tổng		6	100%

Mất đoạn đồng hợp tử từ exon 1 đến exon 7. Kết quả phân tích MLPA ở mẫu người bình thường xuất hiện đỉnh tương ứng với các exon 1, exon 3, exon 4, exon 6, exon 7 (màu đỏ) nhưng ở mẫu bệnh nhân không xuất hiện đỉnh sóng tại các vị trí này (Hình 1). Đồng thời, tỷ lệ FR của bệnh nhân tại các vị trí này bằng 0, do đó kết luận bệnh nhân mang đột biến mất đoạn đồng hợp tử từ exon 1 đến exon 7 của gen CYP21A2.

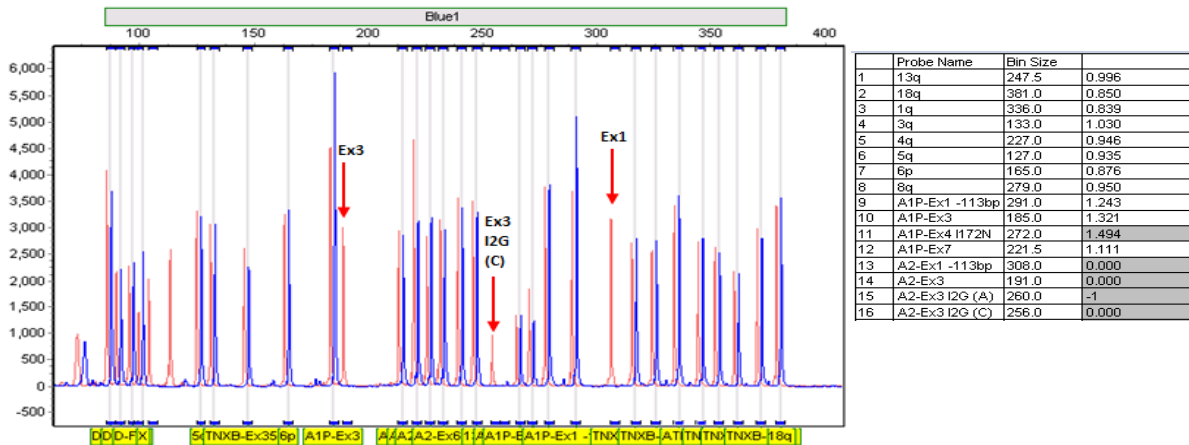


Hình 1. Mất đoạn đồng hợp tử exon 1 - exon 7 gen CYP21A2

Đỉnh màu đỏ: mẫu chứng của người bình thường, đỉnh màu xanh: mẫu bệnh nhân.

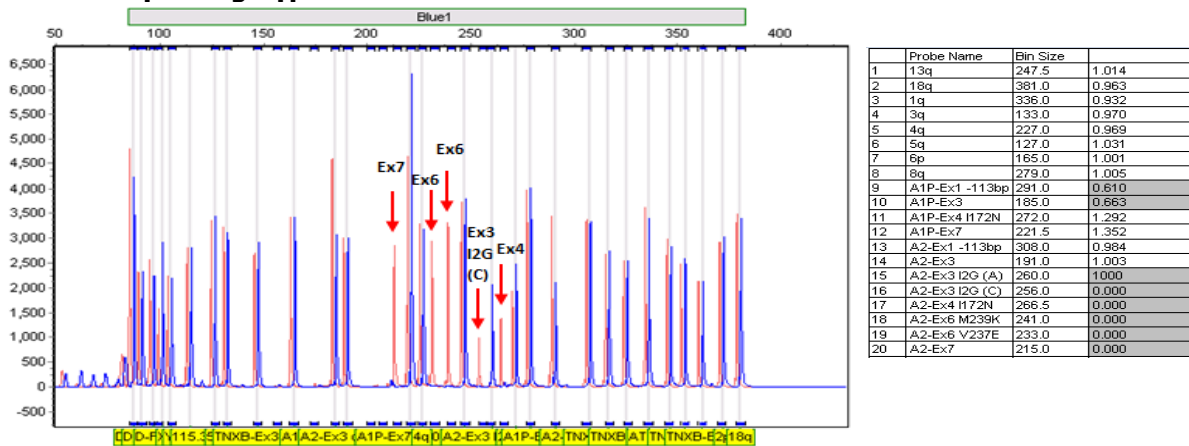
Mất đoạn đồng hợp tử từ exon 1 đến exon 3. Kết quả phân tích một mẫu bệnh nhân so sánh với mẫu người bình thường, tại các đỉnh tương ứng với exon 1 và exon 3 của gen

CYP21A2, mẫu người bình thường xuất hiện đỉnh (màu đỏ) nhưng mẫu bệnh nhân không xuất hiện tín hiệu (Hình 2). Tỷ lệ FR ở các vị trí này cũng có giá trị bằng 0, chứng tỏ bệnh nhân mang đột biến mất đoạn đồng hợp tử từ exon 1 đến exon 3 của gen CYP21A2.



Hình 2. Mất đoạn đồng hợp tử từ exon 1 - exon 3

Đỉnh màu đỏ: mẫu chứng của người bình thường, đỉnh màu xanh: mẫu bệnh nhân.
Mất đoạn đồng hợp tử từ exon 4 đến exon 7



Hình 3. Mất đoạn đồng hợp tử từ exon 3 đến exon 7 gen CYP21A2

Đỉnh màu đỏ: mẫu chứng của người bình thường, đỉnh màu xanh: mẫu bệnh nhân

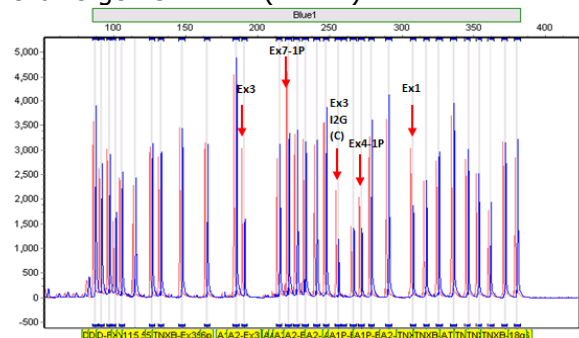
Tại các đỉnh tương ứng với exon 4, exon 6, exon 7 của gen CYP21A2, mẫu người bình thường xuất hiện tín hiệu ở các vị trí này (màu đỏ) trong khi đó ở mẫu bệnh nhân không ghi nhận tín hiệu (Hình 3). Xét tỉ lệ FR của bệnh nhân tại các exon này bằng 0, chứng tỏ bệnh nhân mang đột biến mất đoạn đồng hợp tử từ exon 4 đến exon 7 của gen CYP21A2.

Mất đoạn dị hợp tử trên gen CYP21A2.

Mất đoạn dị hợp tử được phát hiện ở 6 bệnh nhân trong đó có 3 trường hợp mang đột biến mất đoạn từ exon 1 đến exon 7, một trường hợp mất đoạn từ exon 1 đến exon 3, một trường hợp chỉ có một bản sao của exon 3 và trường hợp còn lại là mất đoạn dị hợp tử lớn từ exon 4 của gen CYP21A1P đến exon 3 của gen CYP21A2.

Phân tích một bệnh nhân có đột biến mất

đoạn dị hợp tử, chiều cao đỉnh tương ứng với exon 4, exon 7 gen CYP21A1, exon 1, exon 3 gen CYP21A2 chỉ bằng 1/2 so với mẫu người bình thường, chứng tỏ bệnh nhân mang đột biến mất đoạn dị hợp tử từ exon 4 gen CYP21A1P đến exon 3 gen CYP21A2 (Hình 4).



Hình 4. Mất đoạn dị hợp tử từ exon 4 của gen CYP21A1P đến exon 3 của gen CYP21A2

Đỉnh màu đỏ: mẫu chứng của người bình thường, đỉnh màu xanh: mẫu bệnh nhân.

IV. BÀN LUẬN

Bệnh tăng sản tuyến thượng thận bẩm sinh là một trong những rối loạn nội tiết di truyền liên quan đến hormone của tuyến thượng thận, trong đó đột biến gen CYP21A2 là nguyên nhân chính gây bệnh. Việc khảo sát gen để xác định nguyên nhân gây bệnh đóng vai trò quan trọng trong phân loại nhóm bệnh, từ đó hỗ trợ trong chẩn đoán và điều trị bệnh.

Có nhiều kỹ thuật chẩn đoán bệnh TSTTBS trong đó phương pháp MLPA có giá trị trong xác định các đột biến mất đoạn, lặp đoạn hoặc chuyển đoạn gen mà kỹ thuật giải trình tự có thể bỏ sót. Bằng kỹ thuật MLPA khảo sát các đột biến mất đoạn gen gây bệnh TSTTBS trên 30 bệnh nhân, chúng tôi ghi nhận 6 trường hợp đột biến mất đoạn đồng hợp tử (chiếm tỷ lệ 20%), 6 trường hợp đột biến mất đoạn dị hợp tử trên gen CYP21A2 (chiếm tỷ lệ 20%). Các dạng mất đoạn đồng hợp tử được phát hiện bao gồm mất đoạn từ exon 1- exon 3, exon 1- exon 7 và exon 4 - exon 7. Kết quả này có sự tương đồng với nghiên cứu ở Malaysia với tỷ lệ mất đoạn gen là 22,6%; Balraj và cộng sự báo cáo các kiểu mất đoạn gen bao gồm mất đoạn từ exon 1 - exon 3, exon 1- exon 6, exon 3 - exon 8 và exon 1- exon 8 (6). Trong khi đó, một nghiên cứu khác thực hiện tại Séc ghi nhận tỷ lệ mất đoạn gen là 38,6%, cao hơn so với quần thể Việt Nam và Malaysia (7). Điều này được lý giải một phần do sự khác biệt về quần thể di truyền liên quan đến yếu tố chủng tộc. Một nguyên nhân khác là do sự khác nhau về cỡ mẫu và tiêu chuẩn chọn mẫu nghiên cứu.

Trong 6 bệnh nhân TSTTBS mang đột biến mất đoạn dạng đồng hợp tử, tất cả các bệnh nhân này đều có kiểu hình mất muối. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của New và cộng sự (2013) khi tiến hành phân tích sự tương quan giữa kiểu gen và kiểu hình ở 1507 gia đình có bệnh nhân TSTTBS (8). Nghiên cứu của New chỉ ra các đột biến mất đoạn đồng hợp tử hoặc mất đoạn đi kèm với đột biến ghép nối vùng intron như Del/Del, Del/I2G và I2G/I2G là các đột biến phổ biến nhất ở bệnh nhân có kiểu hình mất muối so với các kiểu hình còn lại.

TSTTBS là bệnh di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường nên thông thường bệnh nhân bị đột biến đồng hợp tử, bất thường xảy ra trên cả 2 allele mới biểu hiện kiểu hình. Trong nghiên cứu này chúng tôi phát hiện 6 trường hợp mang đột

biến mất đoạn dị hợp tử và 18 bệnh nhân không mang các đột biến mất hoặc lặp đoạn gen. Điều này được giải thích do kỹ thuật MLPA chỉ phát hiện đột biến mất/lặp đoạn gen, trong khi đó ngoài đột biến về thay đổi lượng gen, phần lớn đột biến gây bệnh CYP21A2 được ghi nhận trong các nghiên cứu và tài liệu y văn trên thế giới là các đột biến điểm. Do đó việc áp dụng thêm các phương pháp như giải trình tự Sanger, giải trình tự gen thế hệ mới để khảo sát, phát hiện đột biến là cần thiết giúp chẩn đoán bệnh TSTTBS.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã bước đầu ứng dụng thành công kỹ thuật MLPA để phát hiện các đột biến mất đoạn gen gây bệnh TSTTBS. Điều này có ý nghĩa quan trọng trong việc hỗ trợ chẩn đoán phân loại nhóm bệnh. Bên cạnh đó, với kết quả chẩn đoán gen giúp thuận lợi trong việc tư vấn cho gia đình, người thân, khu trú gen khảo sát, tầm soát người mang gen bệnh.

VI. TUYÊN BỐ VỀ QUYỀN LỢI

Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi liên quan đến việc xuất bản bài báo này.

VII. LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ kinh phí bởi Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **White PC, Speiser PW.** Congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency. *Endocr Rev.* 2000 Jun;21(3):245–91.
2. **Speiser PW, Arlt W, Auchus RJ, Baskin LS, Conway GS, Merke DP, et al.** Congenital Adrenal Hyperplasia Due to Steroid 21-Hydroxylase Deficiency: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Sep 27;103(11):4043–88.
3. **Concolino P, Costella A.** Congenital Adrenal Hyperplasia (CAH) due to 21-Hydroxylase Deficiency: A Comprehensive Focus on 233 Pathogenic Variants of CYP21A2 Gene. *Mol Diagn Ther.* 2018 Jun;22(3):261–80.
4. **Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G.** Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification. *Nucleic Acids Res.* 2002 Jun 15;30(12):e57.
5. **Concolino P, Mello E, Toscano V, Ameglio F, Zuppi C, Capoluongo E.** Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) assay for the detection of CYP21A2 gene deletions/duplications in congenital adrenal hyperplasia: first technical report. *Clin Chim Acta.* 2009 Apr;402(1–2):164–70.
6. **Balraj P, Lim PG, Sidek H, Wu LL, Khoo ASB.** Mutational characterization of congenital adrenal hyperplasia due to 21-hydroxylase deficiency in

Malaysia. J Endocrinol Invest. 2013Jun;36(6):366–74.
 7. **Vrzalová Z, Hrubá Z, St'ahlová Hrabincová E, Pouchlá S, Votava F, Koloušková S, et al.** Identification of CYP21A2 mutant alleles in Czech patients with 21-hydroxylase deficiency. Int J Mol Med. 2010 Oct;26(4):595–603.

8. **New MI, Abraham M, Gonzalez B, Dumic M, Razzaghy-Azar M, Chitayat D, et al.** Genotype-phenotype correlation in 1,507 families with congenital adrenal hyperplasia owing to 21-hydroxylase deficiency. Proc Natl Acad Sci U S A. 2013 Feb 12;110(7):2611–6.

TÌNH TRẠNG TỔN THƯƠNG THẬN CẤP Ở BỆNH NHÂN NGỘ ĐỘC CẤP DIQUAT

Bùi Thị Lan Phương^{1,3}, Nguyễn Trung Nguyên², Đặng Thị Xuân²

TÓM TẮT

Mục tiêu: mô tả tình trạng tổn thương thận cấp và phân tích các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của tổn thương thận cấp ở bệnh nhân ngộ độc cấp hoá chất diệt cỏ Diquat. **Đôi tượng và phương pháp:** nghiên cứu trên 114 trường hợp ngộ độc cấp hoá chất diệt cỏ Diquat tại Trung tâm chống độc Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 7/2021 đến 7/2023. **Kết quả:** tổn thương thận cấp ở bệnh nhân ngộ độc cấp Diquat thời điểm vào viện là 38,6% và cả quá trình điều trị là 76,3% (87 BN). Phân độ tổn thương thận cấp theo AKI: độ 1, 2, 3 chiếm tỷ lệ lần lượt là 12,6%; 13,8%; 73,6%. Nhóm BN tổn thương thận cấp có 69% vô niệu, Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân ngộ độc Diquat có AKI: rối loạn tiêu hóa (nôn, đau bụng, đau bụng, ỉa lỏng) 89,6%, loét miệng 57,5%, suy hô hấp có thông khí nhân tạo 72,4%, rối loạn ý thức 54%, co giật 28,7%; thiếu niệu - vô niệu 72,0%. Đặc điểm cận lâm sàng: BC trung bình 23,88, toan chuyển hóa tăng khoảng trống anion gap, tổn thương gan cấp, tiêu cơ vân, tăng lactat. Mức độ ngộ độc nặng hơn thì tỷ lệ suy thận cao hơn, mức độ nặng của tổn thương thận tăng lên, $p < 0,01$. Tỷ lệ tử vong ở bệnh nhân ngộ độc diquat có tổn thương thận là 74,7%. **Kết luận:** Tỷ lệ tổn thương thận cấp ở bệnh nhân ngộ độc cấp diquat tại Trung tâm chống độc Bệnh viện Bạch Mai là 76,3%. Sự xuất hiện tổn thương thận cấp liên quan đến liều lượng ngộ độc. Tỷ lệ tử vong ở nhóm ngộ độc cấp diquat có tổn thương thận cấp cao.

Từ khóa: Ngộ độc Diquat; tổn thương thận cấp

SUMMARY

ACUTE RENAL FAILURE IN PATIENTS WITH ACUTE DIQUAT POISONING

Objective: to describe the severity and progress of acute renal failure – acute kidney injury (AKI) in patients with acute diquat poisoning. **Methods:** the study included 114 patients with acute diquat

poisoning treated at Poison Control Center of Bach Mai Hospital from July 2022 to July 2023. **Results:** Acute kidney injury in patients with acute Diquat poisoning was 38,6% at admission and during treatment was 76,3% (87 patients). Grade of AKI: grades 1, 2, 3 account for 12,6%; 13,8%; 73,6%. In the group of patients with acute kidney injury, 69% were anuric. Clinical characteristics of Diquat poisoning patients with AKI: gastrointestinal disorders (vomiting, sore throat, abdominal pain, diarrhea) 89,6%, mouth ulcers 57,5%, respiratory failure with ventilation 72,4%, consciousness disorder 54%, convulsions 28,7%; Oliguria - anuria 72,0%. Paraclinical characteristics: WBC 23.88, metabolic acidosis with increased anion gap, acute liver injury, rhabdomyolysis, increased lactate. The more severe the poisoning level, the higher the rate of kidney failure and the severity of kidney damage, $p < 0.01$. The mortality rate in patients with diquat poisoning and kidney damage was 74.7%. **Conclusions:** the AKI rate in patients with acute diquat poisoning at the Poison Control Center of Bach Mai Hospital was 76,3%. Reported dosage, blood diquat concentration were associated with AKI. Mortality increased in patients have AKI.

Keywords: Diquat poisoning; acute renal failure

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Diquat là một loại hóa chất diệt cỏ được tạo ra lần đầu tại nước Anh vào năm 1955 cùng thuộc nhóm bipyridinium, Diquat mang nhiều đặc điểm tương đồng với Paraquat. Biểu hiện lâm sàng của ngộ độc cấp Diquat rất đa dạng và phức tạp, phụ thuộc vào nồng độ, số lượng dung dịch và đường tiếp xúc, tổn thương trên đa cơ quan, trường hợp nặng có thể tử vong nhanh chóng do suy đa tạng.

Tại Việt Nam, do Paraquat đã bị cấm lưu hành, ngộ độc cấp Diquat bắt đầu xuất hiện với số lượng bệnh nhân ngày càng tăng, và đặc biệt là biểu hiện lâm sàng thường nặng, nhiều bệnh nhân tử vong. Hầu hết các ca ngộ độc được báo cáo chủ yếu do uống phải Diquat với các mức độ tổn thương đa cơ quan khác nhau. Tổn thương thân và tổn thương hệ thần kinh trung ương có ý nghĩa nhất và liên quan chặt chẽ đến tiên lượng¹. Trung tâm chống độc Bệnh Viện Bạch

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Bạch Mai

³Bệnh viện Đa khoa tỉnh Hoà Bình

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Thị Lan Phương

Email: buithilanphuonghb@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 19.12.2023

Ngày duyệt bài: 15.01.2024