

TẠP CHÍ



Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

Journal of Military Pharmaco-medicine

ISSN 1859-0748

Vol 48, N^o1 - 2023

HỌC VIỆN QUÂN Y

MILITARY MEDICAL UNIVERSITY



TẠP CHÍ

Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

HỌC VIỆN QUÂN Y XUẤT BẢN

CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP: PGS. TS. Nguyễn Xuân Kiên

PHÓ CHỦ TỊCH HĐBT: PGS.TS. Nghiêm Đức Thuận

TỔNG BIÊN TẬP: GS.TS. Trần Viết Tiến

ỦY VIÊN:

PGS. TS. Trần Ngọc Tuấn

GS. TS. Nguyễn Như Lâm

PGS. TS. Vũ Nhất Định

PGS. TS. Tạ Bá Thắng

PGS. TS. Nguyễn Văn Nam

PGS. TS. Lương Công Thức

PGS. TS. Vũ Quang Vinh

GS. TS. Nguyễn Duy Bắc

GS. TS. Nguyễn Lĩnh Toàn

PGS. TS. Trịnh Thế Sơn

PGS. TS. Trịnh Nam Trung

TS. Phạm Thế Tài

GS. TS. Nguyễn Văn Ba

PGS. TS. Nguyễn Đình Ngân

PGS. TS. Hoàng Hải

TS. Nguyễn Thị Tuyết Mai

THƯ KÝ KHOA HỌC: PGS. TS. Đỗ Như Bình

THƯ KÝ TÒA SOẠN: TS. Nguyễn Thị Hoài

TRỤ SỞ BAN BIÊN TẬP

Ban Thông tin KH - Phòng Thông tin KHQS - Học viện Quân y, 160 Phùng Hưng, Hà Đông, Hà Nội

Điện thoại: 069. 566. 255

Email: tcydhqs@vmmu.edu.vn

**Giấy phép xuất bản số 594/GP-BTTTT do Bộ Thông tin và Truyền thông
cấp ngày 16 - 12 - 2022**

In tại Xưởng in Học viện Quân y

TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ SỐ 1 - 2023

MỤC LỤC

	Trang
1 Xác định thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của Thần phục ((<i>Homalomena Vietnamensis</i> J. Bogner Et V.D.Nguyen), họ ráy (Araceae)) <i>Trịnh Thị Quỳnh, Huỳnh Minh Đạo</i> Determination of the chemical composition and bioactivity of Than phục ((<i>Homalomena Vietnamensis</i> J. Bogner et V.D.Nguyen), family (Araceae))	5
2 Nghiên cứu thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính sinh học của tinh dầu chiết xuất từ loài <i>Praxelis clematidea</i> R. M. King & H. Robinson <i>Lê Trương Thắng, Phan Nguyễn Anh Trúc</i> <i>Nguyễn Hoàng Chương, Trần Ngọc Ngân Hà</i> <i>Thái Thị Phương Nhi, Lê Thị Nhung, Hoàng Việt</i> Study on chemical composition and bioactivity of essential oil extracted from <i>Praxelis clematidea</i> R. M. King & H. Robinson	17
3 Đánh giá tác dụng của estrogen dạng uống và dạng bôi ngoài da trong quá trình chuẩn bị niêm mạc tử cung của chu kỳ chuyển phôi đông lạnh tại Viện Mô phôi lâm sàng Quân đội <i>Phạm Thị Nguyệt, Trịnh Quốc Thành</i> <i>Trịnh Thế Sơn, Đinh Trọng Hà</i> Assessing the effects of oral estrogen and transdermal estrogen in endometrial preparation of frozen embryo transfer cycles at Military Institute of Clinical Embryology and Histology	27

		Trang
4	Nghiên cứu xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng tacrolimus trong máu người bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ <i>Trần Bá Hiếu, Chữ Văn Mến, Hoàng Xuân Sứ</i> <i>Đinh Thị Thu Hằng, Đào Đức Long, Nguyễn Đức Hạnh</i> <i>Lê Việt Thắng, Phạm Văn Trân, Phạm Quốc Toàn</i> <i>Vũ Quang Hợp, Trương Quý Kiên</i> Development and validation of the LC-MS/MS method for determining tacrolimus in human whole blood from kidney transplant recipients	35
5	Cập nhật các phương pháp chẩn đoán sớm ung thư phổi <i>Đào Ngọc Bằng, Tạ Bá Thắng</i> Update of methods for early diagnosis of lung cancer	50
6	Cập nhật một số vấn đề về sinh lý bệnh và chiến lược xử trí đa chấn thương hiện nay <i>Phạm Mạnh Cường, Hồ Hữu Phước</i> <i>Update on some current knowledge of pathophysiology and strategies in the management of polytrauma</i>	63
7	Đặc điểm hình ảnh viêm ruột thừa cấp có biến chứng trên cắt lớp vi tính đa dãy <i>Phạm Thị Yến, Phạm Quốc Huy</i> <i>Nguyễn Văn Đàn, Nguyễn Minh Hải, Lê Tuấn Cảnh</i> Imaging characteristics of complicated acute appendicitis on multi-slice computed tomography	79
8	Đánh giá kết quả phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt nội soi qua niệu đạo điều trị bệnh tăng sản lành tính tuyến tiền liệt tại Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn <i>Nguyễn Minh An, Ngô Trung Kiên, Bùi Hoàng Thảo</i> Long term result after laparoscopy transurethral resection of benign prostatic hyperplasia patient at Saint Paul Hospital	88

		Trang
9	Evaluation of membrane-bound and soluble PD-L1 expression in advanced-stage non-small cell lung cancer patients <i>Pham Thi Kim Nhung, Ta Ba Thang, Do Quyet</i> <i>Dao Ngoc Bang, Nguyen Thanh Tung, Dong Phu Cau</i>	98
10	Evaluation of histological diagnostic results of stereotactic biopsy of supratentorial tumors at Military Hospital 103 <i>Nguyen Thanh Bac, Hoang Manh Linh</i> <i>Tran Manh Cuong, Pham Ngoc Hao</i>	107

**XÁC ĐỊNH THÀNH PHẦN HOÁ HỌC VÀ HOẠT TÍNH SINH HỌC CỦA
THẦN PHỤC ((*HOMALOMENA VIETNAMENSIS* J. BOGNER ET
V.D.NGUYEN), HỌ RÁY (ARACEAE))**

Trịnh Thị Quỳnh¹, Huỳnh Minh Đạo¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định thành phần hoá học và hoạt tính sinh học của Thần phục ((*Homalomena vietnamensis* J. Bogner et V.D.Nguyen), họ ráy (Araceae)).
Đối tượng và phương pháp: Thân rễ Thần phục thu hái tại Đông Giang - Quảng Nam. Xác định sơ bộ thành phần bằng các phản ứng hóa học; chiết xuất tinh dầu bằng phương pháp cất kéo hơi nước, xác định thành phần và định lượng bằng sắc ký khí ghép khối phổ GC/MS. Hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định được đánh giá thông qua độ đục của môi trường nuôi cấy. Hoạt tính chống oxy hóa được khảo sát bằng phương pháp đánh bắt gốc tự do DPPH. **Kết quả:** Thân rễ Thần phục có nhiều tinh dầu, các triterpenoid, tanin, các hợp chất khử... Tinh dầu Thần phục có thành phần chính là β -Linalool (71,19%), α -cadinol (8,10%), terpinen-4-ol (4,80%), tau-muurolool (4,89%)... Giá trị IC₅₀ đối với chủng *E.coli* (2,51 $\pm$ 0,37 mg/mL), *B.subtilis* (2,87 $\pm$ 0,09 mg/mL), *L.fermentum* (3,33 $\pm$ 0,05 mg/mL), *S.aureus* (3,73 $\pm$ 0,04 mg/mL), *C.albican* (3,42 $\pm$ 0,05 mg/mL), *P.aeruginosa* (6,30 $\pm$ 0,17 mg/mL), *S.enterica* (3,56 $\pm$ 0,26 mg/mL). MIC ở nồng độ pha loãng 5,65 mg/mL có khả năng ức chế 99% vi khuẩn *E.coli*, 97% nấm *C.albican*, 94% *B.subtilis*, *L.fermentum* và 88% *S.aureus* và ở nồng độ pha loãng 22,58 mg/mL có khả năng ức chế 100% *S.enterica*. Giá trị MBC cao nhất đối với nấm *C.albican* 97% và vi khuẩn Gram (-) *E.coli* 99% ở nồng độ pha loãng 5,65 mg/mL. Ở nồng độ pha loãng 90,30 mg/mL tinh dầu Thần phục ức chế được 100% *S.enterica* và 99% *S.aureus*. Giá trị EC₅₀: 58,05 $\pm$ 3,1 mg/mL. **Kết luận:** Thành phần hoá học chủ yếu của Thần phục là tinh dầu; trong đó monoterpen không oxy chiếm 4,43%, các monoterpen có oxy chiếm 76,88%, các sesquiterpen chiếm 17,17%; tinh dầu có tác dụng ức chế (*S.aureus*, *B.subtilis*, *L.fermentum*, *P.aeruginosa*), diệt khuẩn (*E.coli* và nấm *C.albican*) và có tác dụng chống oxy hoá rất yếu.

* **Từ khóa:** Thần phục; *Homalomena vietnamensis*; Hoạt tính sinh học; Kháng khuẩn; Chống oxy hóa.

¹Trường Đại học Kỹ thuật Y - Dược Đà Nẵng

Người phản hồi: Trịnh Thị Quỳnh (ttquynh@dhktyduocdn.edu.vn)

Ngày nhận bài: 30/11/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 24/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.235>

**DETERMINATION OF THE CHEMICAL COMPOSITION AND
BIOACTIVITY OF THAN PHUC ((*HOMALOMENA VIETNAMENSIS* J.
BOGNER ET V.D.NGUYEN), FAMILY (ARACEAE))**

Summary

Objectives: To determine the chemical composition and biological activity of Than Phuc (*Homalomena vietnamensis* J. Bogner et V.D.Nguyen), family (Araceae)). **Subjects and methods:** The rhizomes of Than Phuc are collected in Dong Giang-Quang Nam. Preliminary determination of the composition by chemical reactions; Extraction of essential oils by steam distillation method, composition determination, and quantification by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). The antimicrobial activity of the test is assessed through the turbidity of the culture medium. The antioxidant activity is investigated by DPPH free radical scavenging method. **Results:** Than phuc rhizomes have much essential oil, triterpenoids, tannins, and reducing agent. The main components of Than phuc essential oil are β -Linalool (71,19%), α -cadinol (8,10%), terpinen-4-ol (4.80%), tau-murolol (4.89%). IC₅₀ value for *E.coli* strain (2.51 ± 0.37 mg/mL), *B.subtilis* (2.87 ± 0.09 mg/mL), *L.fermentum* (3.33 ± 0.05 mg/mL), *S.aureus* (3.73 ± 0.04 mg/mL), *C.albican* (3.42 ± 0.05 mg/mL), *P.aeruginosa* (6.30 ± 0.17 mg/mL), *S.enterica* (3.56 ± 0.26 mg/mL). MIC at a dilution concentration of 5.65 mg/mL was able to inhibit 99% *E.coli*, 97% *C.albican*, 94% *B.subtili*, *L.fermentum*, and 88% *S.aureus* and at a dilution concentration of 22.58 mg/mL it has the ability to inhibit 100% *S.enterica*. The highest MBC values are for *C.albican* 97% and Gram (-) *E.coli* 99% at a dilution of 5.65 mg/mL. At a dilution concentration of 90.30 mg/mL, Than phuc essential oil inhibits 100% *S.enterica* and 99% *S.aureus*. EC₅₀ value 58.05 ± 3.1 mg/mL. **Conclusion:** The main chemical composition of Than phuc is essential oil, in which monoterpenes without oxygen account for 4.43%, monoterpenes with oxygen account for 76.88%, sesquiterpenes make up 17.17%; essential oil has inhibitory effects (*S.aureus*, *B.subtilis*, *L.fermentum*, *P.aeruginosa*), bactericidal (*E.coli* and *C.albican* fungi) and has very weak antioxidant effects.

* **Keywords:** *Than phuc; Homalomena vietnamensis; Biological activity; Antimicrobial; Antioxidant.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Cây Thần phục được phát hiện đầu tiên năm 1983, khi đoàn Viện Dược liệu thực hiện điều tra tại tỉnh Quảng Nam - Đà Nẵng. Thân rễ của Thần phục được dùng làm thuốc như các loài Thiên niên kiện (*Homalomena* spp.) có tác dụng chữa thấp khớp, tay chân và các khớp xương nhức mỏi, rất tốt cho những người cao tuổi, già yếu...[1].

Mặc dù đã được sử dụng từ lâu ở các tỉnh miền Trung nước ta, bên cạnh đó chưa có nhiều công trình nghiên cứu nên cần được quan tâm nghiên cứu thêm.

Với mong muốn hoàn thiện hơn dữ liệu về loài Thần phục, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Xác định thành phần hóa học, hoạt tính sinh học của Thần phục ((Homalomena vietnamensis J. Bogner et V.D.Nguyen), họ Ráy (Araceae)), góp phần cung cấp thêm thông tin về thành phần hóa học và hoạt tính sinh học của dược liệu Thần phục.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**1. Đối tượng nghiên cứu**

* *Đối tượng nghiên cứu:* Thần phục (*Homalomena vietnamensis* J. Bogner et V.D.Nguyen, họ Ráy (Araceae) thu hái tại Đông Giang - Quảng Nam.

* *Dung môi, hoá chất:* n-hexan, ethanol, methanol, ethyl acetat,

dicloromethan, cloroform, petroleum ether, H_2SO_4 , $FeCl_3$, CH_3COOH , Na_2CO_3 ...

* *Chất tham chiếu:* Quercetin.

* *Kháng sinh đối chiếu:* Ampicillin, cefotaxime, kháng nấm: Nystatin.

* *Vi sinh vật kiểm định:* *Bacillus subtilis* (ATCC 6633); *Lactobacillus fermentum* (N4); *Escherichia coli* (ATCC 25922); *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 15442); *Salmonella enterica*; *Candida albicans* (ATCC 10231).

* *Môi trường nuôi cấy:* MHB (Mueller-Hinton Broth), MHA (Mueller-Hinton Agar); TSB (Tryptic Soy Broth); TSA (Tryptic Soy Agar) cho vi khuẩn; SDB (Sabourand-2% dextrose broth) và SA (Sabourand- 4% dextrose agar) cho nấm.

* *Thiết bị, dụng cụ:* Máy đọc Elisa Biotek, dụng cụ chiết xuất tinh dầu theo tiêu chuẩn Dược điển Việt Nam V, máy GC Agilent 6890N, MS 5973 inert.

2. Phương pháp nghiên cứu**a. Thu thập mẫu và nghiên cứu thành phần hoá học**

Điều tra thu thập mẫu tiến hành theo phương pháp điều tra thu thập cây thuốc của Nguyễn Tập (2006) [3].

Xác định các nhóm hợp chất trong từng phân đoạn bằng cách chiết nguyên liệu lần lượt với các dung môi có độ phân cực tăng dần: n-hexan,

EtOH 96%, nước. Định tính bằng các phản ứng hóa học đặc trưng.

Chiết tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước với bộ Clevenger từ 100g thân rễ tươi của Thần phục thu được 0,45 mL (0,45%).

Phân tích thành phần tinh dầu bằng kỹ thuật GC/MS trên máy GC Agilent 6890N, MS 5973 inert, cột HP5-MS, áp suất He đầu cột 9,3 psi. Điều kiện thực hiện GC/MS: Mẫu tinh dầu (25 μ L) pha trong 1 mL n-hexan. Tiêm mẫu: 1 μ L, tỷ lệ chia dòng 1:50; chương trình nhiệt cho mẫu: 50°C giữ trong 2 phút, sau đó tăng 2°C/phút đến 80°C, tăng 5°C/phút đến 150°C, tiếp tục tăng 10°C/phút đến 200°C, tăng 20°C/phút đến 300°C giữ trong 5 phút.

b. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn tinh dầu Thần phục

** Nguyên lý phép thử:*

Đây là phương pháp thử hoạt tính kháng vi sinh vật kiểm định nhằm đánh giá mức độ kháng khuẩn mạnh, yếu của các mẫu thử thông qua độ đục của môi trường nuôi cấy. Các giá trị thể hiện hoạt tính là IC_{50} (50% Inhibitor Concentration - nồng độ ức chế 50%), MIC (Minimum Inhibitor Concentration - nồng độ tối thiểu ức chế), MBC (Minimum Bactericidal Concentration - nồng độ tối thiểu diệt khuẩn) và MFC (Minimum Fungicidal Concentration - nồng độ tối thiểu diệt nấm).

** Cách tiến hành:*

- Pha loãng mẫu thử: Mẫu ban đầu được pha loãng 2 bước trong DMSO 100% và nước cất tiệt trùng thành một dãy 4-10 nồng độ. Nồng độ thử cao nhất trong thử nghiệm là 256 μ g/mL với dịch chiết và 128 μ g/mL chất sạch. Trường hợp đặc biệt thì pha mẫu theo yêu cầu.

- Thử hoạt tính: Vi sinh vật kiểm định được lưu giữ ở -80°C. Trước khi thí nghiệm, vi sinh vật kiểm định được hoạt hóa bằng môi trường nuôi cấy sao cho nồng độ vi khuẩn đạt 5×10^5 CFU/mL; nồng độ nấm đạt 1×10^3 CFU/mL. Lấy 10 μ L dung dịch mẫu thử ở các nồng độ vào đĩa 96 giếng, thêm 190 μ L dung dịch vi khuẩn và nấm đã được hoạt hóa ở trên, ủ ở 37°C/16 - 24 giờ.

** Xử lý kết quả:*

- Giá trị MIC được xác định tại giếng có nồng độ chất thử thấp nhất ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi sinh vật.

- Giá trị MBC/MFC được xác định bằng cách cấy dung dịch tại giếng có đã xác định giá trị MIC lên đĩa thạch và không có vi sinh vật kiểm định nào mọc trở lại sau 24 giờ.

- Giá trị IC_{50} được xác định thông qua giá trị % ức chế vi sinh vật phát triển và phần mềm máy tính Rawdata.

% ức chế tế bào = $(OD_{\text{chứng (+)}} - OD_{\text{mẫu thử}}) / (OD_{\text{chứng (+)}} - OD_{\text{chứng (-)}}) \times 100\%$

$$IC_{50} = High_{Conc} - \frac{(High_{Inh\%} - 50) \times (High_{Conc} - Low_{Conc})}{High_{Inh\%} - Low_{Inh\%}}$$

*(High_{Conc}/Low_{Conc}: Chất thử ở nồng độ cao/chất thử thấp ở nồng độ thấp;
High_{Inh%}/Low_{Inh%}: % ức chế ở nồng độ cao/% ức chế ở nồng độ thấp).*

- Đánh giá hoạt tính: Dịch chiết có $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$; chất sạch có $IC_{50} < 25 \mu\text{M}$. Hoặc mẫu thô có $MIC \leq 200 \mu\text{g/mL}$; chất sạch có $MIC \leq 50 \mu\text{g/mL}$.

- Gửi mẫu ở phòng hoá sinh ứng dụng - Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam.

c. Khảo sát hoạt tính chống oxy hóa tinh dầu Thần phục

** Nguyên lý của phép thử:*

Hoạt tính chống oxy hóa được khảo sát bằng phương pháp đánh bắt gốc tự do DPPH của Brand-Williams, Cuvelier, and Berset (1995) [0] dựa trên nguyên tắc các chất nghiên cứu có tác dụng chống oxy hóa sẽ làm giảm màu của DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), được xác định bằng cách đo quang ở bước sóng 517 nm.

** Cách tiến hành:*

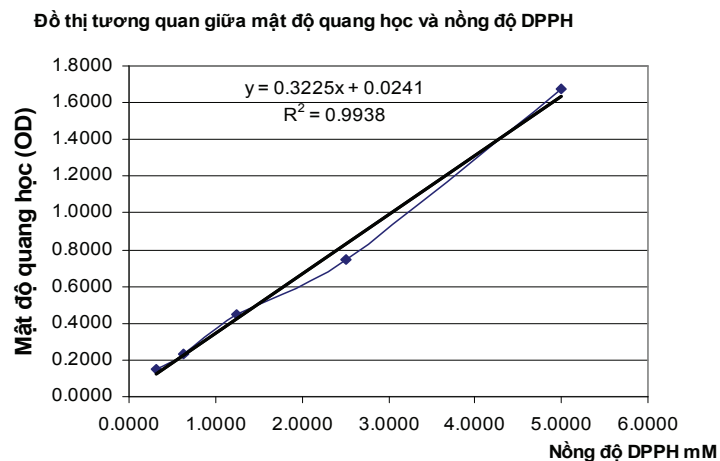
- Pha dung dịch DPPH có nồng độ 1mM trong Methanol (MeOH). Chất thử được pha trong nước deion sao cho nồng độ cuối cùng đạt được một dãy các nồng độ 90,30; 22,58; 5,65 và 1,41 mg/mL. Để thời gian phản ứng 30 phút ở 37°C, đọc mật độ hấp phụ của DPPH chưa phản ứng bằng máy đọc Biotek ở bước sóng 517 nm.

% bắt gốc tự do DPPH của mẫu thử được tính theo công thức sau:

$$SC\% = (OD_{\text{trắng}} - OD_{\text{mẫu thử}}) / OD_{\text{trắng}} (\%).$$

EC_{50} được tính theo giá trị SC tương quan với các nồng độ khác nhau của chất thử, thí nghiệm được lặp lại với $n = 3$.

Đường chuẩn biểu thị mối tương quan giữa nồng độ DPPH và mật độ quang học:



Hình 1: Đồ thị tương quan giữa mật độ quang học và nồng độ DPPH.

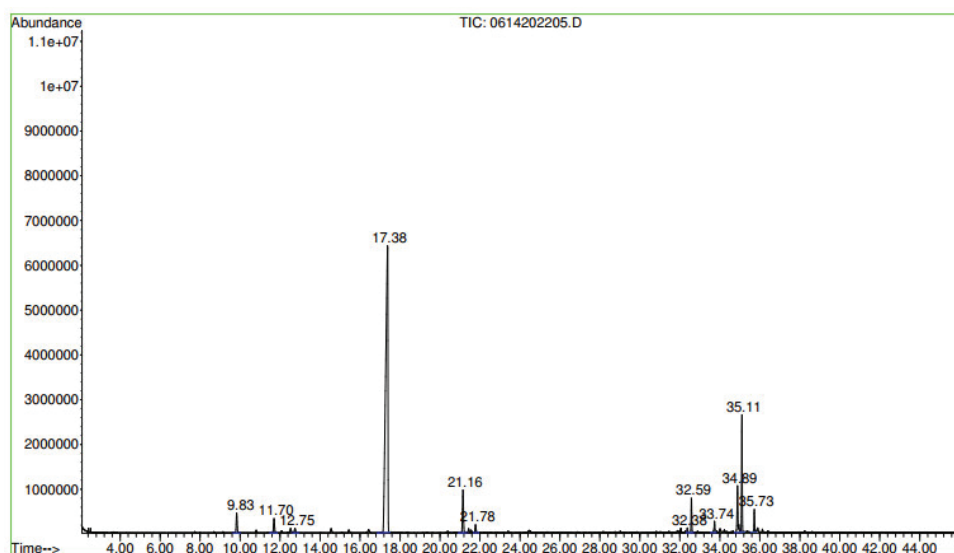
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Thành phần hoá học

Thân rễ Thần phục có nhiều tinh dầu, các triterpenoid, tanin, các hợp chất khử, ngoài ra còn có sự hiện diện của glycosid tim, coumarin.

* *Thành phần hoá học của tinh dầu:*

Dựa vào sắc ký đồ GC-MS Hình 1, ta thấy có 12 cấu tử với 11 cấu tử đã được định danh, kết quả ở bảng 1.



Hình 2: Sắc ký đồ GC-MS của tinh dầu Thần phục.

Bảng 1: Thành phần hoá học trong tinh dầu Thần phục.

TT	Rt	Tên chất	Mw	Độ tương hợp khối phổ	Hàm lượng
1	9.83	Sabinen	136	936	2,14
2	11.71	3-Carene	136	914	1,72
3	12.75	D-Limonene	136	831	0,57
4	17.37	β -Linalool	154	958	71,19
5	21.16	.(-)-Terpinen-4-ol	154	905	4,80
6	21.79	α -Terpineol	154	869	0,89
7	32.39	γ -Cadinene	204	875	0,45
8	32.59	δ -Cadinene	204	887	2,68
9	33.74	Spathuleno	220	876	1,05
10	34.89	tau.-Muurolol	222	916	4,89
11	35.11	α -Cadinol	222	916	8,10
12	35.73	Không xác định	-	-	1,52

Nhóm hợp chất chính trong tinh dầu Thần phục là các monoterpen có oxy, đặc biệt là β -Linalool chiếm tỷ lệ rất lớn (71,19%) tạo mùi thơm chính cho tinh dầu. Đây là nhóm hợp chất dễ bay hơn, ít bị oxy hóa, trùng hợp hóa, tương đối bền trong không khí. Do đó, tinh dầu Thần phục có mùi thơm khá dễ chịu, dễ bay hơi và có thể bảo quản trong thời gian khá dài. Bên cạnh đó, nhóm sesquiterpen tuy chiếm tỷ lệ không cao, nhưng cũng rất quan trọng trong việc tạo ra mùi thơm đặc trưng cho tinh dầu Thần phục.

Bảng 2: Các cấu tử chính trong tinh dầu thân rễ một số loài trong chi *Homalomena*.

Cấu tử Loài	β -Linalool	α -Cadinol	Terpine n-4-ol	α -terpineol	tau.-Muurolool	α -bisabolol	benzyl benzoat
<i>H. vietnamensis</i>	71,19	8,10	4,80	0,89	4,89	-	-
<i>H. occulta</i> [0]	8,6%	4,1	0,4	4,6	2,4	22,8%	11,4%
<i>H. sagittifolia</i> [6]	61,9%	3,4%	2,5%	-	-	-	-
<i>H. aromatica</i> [0]	62,5%	3,71%	7,08%	-	5,32%	-	-
<i>H. aromatica</i> [0]	58,3%	1,7%	16,7%	1,8%	-	-	-

Từ kết quả Bảng 2 có thể thấy trong tinh dầu thân rễ của các loài thuộc chi *Homalomena*, β -Linalool thường chiếm tỷ lệ rất cao ($> 50\%$), là cấu tử chính. Điều này giải thích cho việc các loài trong chi này có mùi tinh dầu khá là giống nhau khi mới ngửi thoáng qua. Tuy nhiên, mỗi loài đều có mùi đặc trưng riêng khi ngửi kỹ, đây là do các thành phần phụ còn lại. Các thành phần này tuy chiếm tỷ lệ ít nhưng sự đa dạng trong cấu trúc làm cho mùi của tinh dầu trở nên phong phú và đặc sắc hơn. Sự khác biệt về các thành phần chính và phụ trong tinh dầu của các loài hay cùng 1 loài có thể do nguồn gen và điều kiện sinh thái đã ảnh hưởng đến quá trình sinh tổng hợp chuyển hóa và tích lũy tinh dầu ở trong chúng.

2. Hoạt tính kháng khuẩn tinh dầu Thân phực

Khả năng kháng khuẩn trên 3 chủng Gram (+) *S.aureus*, *B.subtili*, *L.fermentum*,

3 chủng Gram (-): *S.enterica*, *E.coli*, *P.aeruginosa* và nấm *C.albican* được đánh giá bằng % ức chế các chủng vi sinh vật và nấm kiểm định ở 4 nồng độ pha loãng lần lượt là 90,30; 22,58; 5,65; 1,41 mg/mL.

Giá trị IC_{50} được xác định thông qua giá trị % ức chế vi sinh vật phát triển và phần mềm máy tính Rawdata. Dựa vào kết quả bảng 3, ta thấy giá trị IC_{50} đối với chủng *E.coli* ($2,51 \pm 0,37$ mg/mL), *B.subtilis* ($2,87 \pm 0,09$ mg/mL), *L.fermentum* ($3,33 \pm 0,05$ mg/mL), *S.aureus* ($3,73 \pm 0,04$ mg/mL), *C.albican* ($3,42 \pm 0,05$ mg/mL), *P.aeruginosa* ($6,30 \pm 0,17$ mg/mL), *S.enterica* ($3,56 \pm 0,26$ mg/mL).

MIC ở nồng độ 5,65 mg/mL có khả năng ức chế 99% vi khuẩn *E.coli*, 97% nấm *C.albican* 94% *B.subtili*, *L.fermentum* và 88% *S.aureus*. Và ở nồng độ 22.58 mg/mL có khả năng ức chế 100% *S.enterica*.

Giá trị MBC cao nhất đối với nấm *C.albican* 97% và vi khuẩn Gram (-) *E.coli* 99% ở nồng độ pha loãng 5,65 mg/mL. Ở nồng độ thấp nhất 90,30 mg/mL tinh dầu Thần phục ức chế được 100% *S.enterica* và 99% *S.aureus*.

Giá trị MIC, MBC và MFC trên vi khuẩn *E.coli* và nấm *C.albican* bằng nhau ở nồng độ 5,65 mg/mL, tỷ lệ MBC/MIC = 1 điều này cho thấy tinh dầu Thần phục có khả năng diệt khuẩn đối với hai chủng này.

Bảng 3: Kết quả thử hoạt tính kháng khuẩn.

Tên mẫu	Nồng độ (mg/mL)	% ức chế các chủng vi sinh vật và nấm kiểm định						
		Gram (+)			Gram (-)			Nấm
		<i>S.aureus</i>	<i>B.subtili</i>	<i>L.fermentum</i>	<i>S.enterica</i>	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albican</i>
Thần phục	90,30	99	98	97	100	100	93	99
	22,58	97	97	95	100	99	86,5	99
	5,65	88	94	94	6,5	99	48,5	97
	1,41	4	27	13,5	0	32,5	20,5	8
	IC ₅₀	3,73 ± 0,04	2,87 ± 0,09	3,33 ± 0,05	13,56 ± 0,26	2,51 ± 0,37	6,30 ± 0,17	3,42 ± 0,05
	MIC	22,58	5,65	5,65	22,58	5,65	90,30	5,65
	MBC	90,30	> 90,30	> 90,30	90,30	5,65	> 90,30	5,65
Ampicillin (µg/mL)	IC ₅₀	0,02 ± 0,005	3,62 ± 0,15	1,03 ± 0,07				
	MIC	0,125 ± 0	32 ± 0	32 ± 0				
Cefotaxime (µg/mL)	IC ₅₀				0,43 ± 0,05	0,007 ± 0,002	4,34 ± 0,15	
	MIC				32 ± 0	0,5 ± 0	8 ± 0	
Nystatin (µg/mL)	IC ₅₀							1,32 ± 0,05
	MIC							8 ± 0

3. Hoạt tính chống oxy hoá của tinh dầu Thần phục

Nghiên cứu được thực hiện bằng cách lấy Quercetin làm chất chống oxy hóa tiêu chuẩn, đây cũng là chất chống oxy hóa tự nhiên. Kết quả của hoạt động chống oxy hóa được thể hiện bằng % bắt giữ gốc tự do được tạo ra đối với các nồng độ khác nhau của tinh dầu. Các hiệu ứng phụ thuộc vào nồng độ đã được quan sát ở 90,30; 22,58; 5,65; 1,41 mg/mL, kết quả ở bảng 4 cho thấy nồng độ cao hơn thể hiện % bắt giữ gốc tự do cao hơn.

Bảng 4: Kết quả thử hoạt tính chống oxy hóa trên hệ DPPH của tinh dầu Thần phục.

STT	Tên mẫu	Nồng độ thử		% bắt giữ gốc tự do	Giá trị EC ₅₀
1	Thần phục	mg/mL	90,30	89	58,05 ± 3,1 (mg/mL)
			22,58	7	
			5,65	0	
			1,41	0	
2	Tham chiếu Quercetin	µg/mL	32	100	9,97 ± 0,25 (µg/mL)
			8	45,5	
			2	0	
			0,5	0	

Kết quả của nghiên cứu thu được giá trị EC₅₀ của tinh dầu Thần phục so với DPPH 58,05 ± 3,1 mg/mL, lớn hơn gấp 58.000 lần so với giá trị EC₅₀ của Quercetin. Như vậy, so với Quercetin hoạt tính kháng oxy hóa của tinh dầu Thần phục thấp hơn khoảng 58.000 lần. Điều này cho chúng ta thấy hoạt tính chống oxy hoá của tinh dầu Thần phục rất yếu và phù hợp với nghiên cứu của Zeng L. B. (2010) [9] trong nghiên cứu khả năng chống oxy hoá của tinh dầu *H. aromatica*, một loài thuộc chi *Homalomena*.

BÀN LUẬN

Kết quả khảo sát sơ bộ thành phần hóa học trong nghiên cứu này là tiền đề để tiến hành các nghiên cứu chiết xuất phân lập các hợp chất khác ngoài tinh dầu như glycosid tim, coumarin trong Thần phục và các loài khác thuộc chi *Homalomena*.

Giá trị IC_{50} , MIC mẫu tinh dầu Thần phục trên 3 chủng vi khuẩn Gram (+), 3 chủng Gram (-) và 1 chủng nấm được so sánh lần lượt với kháng sinh ampicillin, cefotaxime và nystatin. Kết quả cho thấy có chênh lệch khá lớn, điều đó chứng tỏ nồng độ tối thiểu để ức chế 50% và nồng độ tối thiểu ức chế của tinh dầu Thần phục cao gấp nhiều lần so với các kháng sinh dùng đối chiếu.

Hoạt tính kháng khuẩn bằng phương pháp pha loãng nồng độ có ý nghĩa định lượng và đã xác định được giá trị IC_{50} , MIC, MBC đồng thời xác định được % ức chế sự phát triển của vi khuẩn, nấm. Tinh dầu Thần phục ở nồng độ pha loãng 90,30 mg/mL thể hiện khả năng kháng khuẩn đặc biệt với *P.aeruginosa* và khả năng diệt khuẩn *S.aureus*, *S.enterica*. Đồng thời cũng ức chế lớn sự phát triển *C.albicans* - đây là một loại nấm men, thường gây bệnh tưa lưỡi ở trẻ em và các bệnh phụ khoa. Những phát hiện này sẽ cung cấp thông tin về hoạt tính sinh học của *H.vietnamensis* và ứng dụng loài này trong tương lai.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu đã xác định thân rễ Thần phục có nhiều tinh dầu, các triterpenoid, tanin, các hợp chất khử; ngoài ra còn có sự hiện diện của glycosid tim, coumarin; thành phần chính của tinh dầu là β -Linalool chiếm 71,19%, và còn có α -Cadinol (8,10%), Terpinen-4-ol (4,80%), tau-Muurolol (4,89%),... các monoterpen không oxy chiếm 4,43%, các monoterpen có oxy chiếm 76,88%, các sesquiterpen chiếm 17,17%. Hoạt tính kháng khuẩn, chống oxy hóa của tinh dầu Thần phục thể hiện bằng % ức chế các chủng vi sinh vật và nấm kiểm định, đồng thời xác định được giá trị MIC, MBC ở nồng độ mg/mL có tác dụng ức chế và diệt khuẩn, giá trị EC_{50} của tinh dầu Thần phục $58,05 \pm 3,1$ mg/mL.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Dư (2018). Thực vật chí Việt Nam. Nhà xuất bản Khoa học Tự nhiên và Công nghệ; 16: 118-119.
2. Lê Thị Hương, Đào Thị Minh Châu, Nguyễn Viết Hùng, Nguyễn Công Trường, Đỗ Ngọc Đài (2017). Thành phần hóa học tinh dầu loài Thiên niên kiện (*Homalomena occulta* (Lour.) Schott) và Thần phục (*Homalomena pierreana* Engl.) ở vườn quốc gia Pù mát, Nghệ An. *Hội nghị Khoa học toàn quốc về sinh thái và tài nguyên sinh vật lần thứ 7*: 1236-1241.

3. Nguyễn Tập (2006). Điều tra cây thuốc và nghiên cứu bảo tồn. Nhiều tác giả: Nghiên cứu thuốc từ thảo dược. Nhà xuất bản KH&KT, Hà Nội: 33-109.
4. Brand-Williams, Wendy, Marie-Elisabeth Cuvelier, and C. L. W. T. Berset (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food Science and Technology*; 28(1): 25-30.
5. Policegoudra, R. S., et al. (2012). Bioactive constituents of *Homalomena aromatica* essential oil and its antifungal activity against dermatophytes and yeasts. *Journal de Mycologie Médicale*; 22(1): 83-87.
6. Singh, Gurdip, et al. (2000). Studies on essential oils, part 28: Chemical composition, antifungal and insecticidal activities of rhizome volatile oil of *Homalomena aromatica* Schott. *Flavour and Fragrance Journal*; 15(4): 278-280.
7. Van, H. T., Nguyen, Q. P., Tran, G. B., & Huynh, N. T. A. (2021). Chemical composition and antibacterial activities of *Homalomena vietnamensis* bogner & v.d nguyen (Araceae). *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*: 201-204.
8. V.S, Rana, et al. (2010). Essential oil composition of *Homalomena aromatica* roots. *Essential Oil Asoicitaion of India Delhi*: 43-45.
9. Zeng L. B., Zhang Z. R., Luo Z. H., Zhu J. X., (2010). Antioxidant activity and chemical constituents of essential oil and extracts of rhizome *Homalomena*, *Food Chem*; 125: 456-463.

NGHIÊN CỨU THÀNH PHẦN HÓA HỌC VÀ KHẢO SÁT HOẠT TÍNH
SINH HỌC CỦA TINH DẦU CHIẾT XUẤT TỪ LOÀI *PRAXELIS*
CLEMATIDEA R. M. KING & H. ROBINSON

*Lê Trương Thắng¹, Phan Nguyễn Anh Trúc¹, Nguyễn Hoàng Chương¹
Trần Ngọc Ngân Hà², Thái Thị Phương Nhi², Lê Thị Nhung², Hoàng Việt¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Chiết xuất và khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu từ *Praxelis clematidea*, khảo sát hoạt tính kháng khuẩn và gây độc tế bào ung thư từ tinh dầu đã chiết xuất. **Đối tượng và phương pháp:** Tinh dầu được chiết xuất từ *Praxelis clematidea* bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước. Thành phần hóa học của tinh dầu chiết xuất được phân tích bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS). Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu được khảo sát bằng phương pháp khuếch tán kháng sinh trên thạch, nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu đối với các vi khuẩn gây bệnh được xác định bằng phương pháp pha loãng bậc hai trong thạch (MIC). Hoạt tính gây độc tế bào của tinh dầu được đánh giá *in vitro* trên mô hình tế bào người bằng phương pháp nhuộm protein tổng số với sulforhodamine B. **Kết quả:** Tinh dầu chiết xuất từ *Praxelis clematidea* có thành phần hóa học bao gồm 20 hợp chất chính, trong đó có 7 hợp chất chưa được xác định. Tinh dầu thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với các chủng vi khuẩn như *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* với giá trị MIC được ghi nhận từ 2 - 16 mg/mL. Tinh dầu chiết xuất từ *Praxelis clematidea* thể hiện hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư phổi NCI H460 với giá trị IC₅₀ (µg/mL) là 73,01 ± 2,37 và giá trị gây độc chọn lọc (SI) là 1,23. **Kết luận:** Tinh dầu chiết xuất từ *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson bao gồm 20 hợp chất hóa học khác nhau. Tinh dầu có hoạt tính gây độc tế bào đối với dòng tế bào ung thư phổi và đặc biệt là hoạt tính kháng khuẩn trên các vi khuẩn gây bệnh kháng kháng sinh.

* Từ khóa: *Praxelis clematidea*; Tinh dầu; Thành phần hóa học; Kháng khuẩn; Độc tính tế bào.

¹Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG HCM

²Trường THPT chuyên Hùng Vương, Gia Lai

Người phản hồi: Lê Trương Thắng (letruongthangng@gmail.com)

Ngày nhận bài: 17/11/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 15/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.229>

STUDY ON CHEMICAL COMPOSITION AND BIOACTIVITY OF
ESSENTIAL OIL EXTRACTED FROM *PRAXELIS CLEMATIDEA* R. M.
KING & H. ROBINSON

Summary

Objectives: To extract the essential oil from *Praxelis clematidea* and analyze its chemical composition. To investigate the antibacterial and cytotoxic activities of the extracted essential oil. **Subjects and methods:** The essential oil was extracted from *Praxelis clematidea* by steam distillation. The chemical composition of the extracted essential oil was analyzed by gas chromatography coupled mass spectrometry (GC-MS). The antibacterial activity of the essential oil was investigated by the agar diffusion method, plus the minimum inhibitory concentration determination on pathogenic bacteria. The cytotoxic activity of the essential oil was evaluated *in vitro* in human cell lines by total protein staining with sulforhodamine B. **Results:** Essential oil extracted from *Praxelis clematidea* has a chemical composition of 20 main compounds, of which 7 have not been identified yet. The essential oil exhibited antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* with MIC value ranging from 2 - 16 mg/mL. The extracted essential oil exhibited cytotoxic activity against lung cancer cell line NCI H460 with the IC_{50} value of 73.01 ± 2.37 and the selective index value of 1.23. **Conclusion:** The essential oil extracted from *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson consists of 20 chemical compounds. The essential oil has cytotoxic activity and especially antibacterial activity against antibiotic-resistant pathogenic bacteria.

* **Keywords:** *Praxelis clematidea*; Essential oil; Chemical composition; Antibacterial activity; Cytotoxic activity.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Praxelis clematidea R. M. King & H. Robinson là loài cỏ dại phổ biến ở Việt Nam. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cho thấy loài thực vật này có các hoạt tính kháng khuẩn, kháng nấm, kháng côn trùng, điều chỉnh tính kháng thuốc của vi khuẩn [1, 2, 3]. Nhìn

chung, các nghiên cứu trên tập trung vào cao chiết bằng các dung môi hữu cơ hoặc các hợp chất tinh chế từ cao chiết từ *Praxelis clematidea*. Chỉ có một nghiên cứu gần đây tập trung vào tinh dầu của *Praxelis clematidea* nhằm phân tích thành phần hóa học và khảo sát hoạt tính kháng côn trùng của nó [2].

Chưa có công bố nào về nghiên cứu thành phần hóa học của tinh dầu từ *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson cũng như khảo sát hoạt tính của nó ở Việt Nam. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Chiết xuất và phân tích thành phần hóa học của tinh dầu từ Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson, khảo sát hoạt tính kháng khuẩn trên các vi khuẩn gây bệnh kháng kháng sinh được phân lập từ lâm sàng cũng như khảo sát hoạt tính gây độc tế bào ung thư trên một dòng tế bào ung thư phổi. Các kết quả từ nghiên cứu này sẽ cung cấp các dữ liệu khoa học cho việc khai thác và sử dụng tinh dầu từ loài *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Vật liệu sinh học*: Các bộ phận trên mặt đất (thân, lá và hoa) của mẫu thực vật loài *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson được thu hái ở Thành phố Thủ Đức và sử dụng để làm nguyên liệu chiết xuất tinh dầu bằng hệ thống Clevenger. Các chủng vi khuẩn gây bệnh kháng kháng sinh được phân lập từ lâm sàng bao gồm: *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*,

Staphylococcus aureus, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecium* và *Pseudomonas aeruginosa* được cung cấp bởi Trung tâm Nghiên cứu và Ứng dụng Sinh học TP Hồ Chí Minh. Dòng tế bào người bao gồm: Dòng tế bào ung thư phổi NCI H460 và dòng nguyên bào sợi được cung cấp bởi Bộ môn Di truyền, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên - Đại học Quốc gia Hồ Chí Minh.

* *Hóa chất*: Dimethyl sulfoxide (Trung Quốc), Ethanol (Việt Nam), Axit trichloroacetic (Hoa Kỳ), Sulforhodamine B (Hoa Kỳ), nước muối sinh lý.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Chiết xuất tinh dầu bằng phương pháp lôi cuốn hơi nước*: Mẫu thực vật được đưa vào hệ thống Clevenger, mẫu không tiếp xúc trực tiếp với nước và nguồn nhiệt. Thời gian chưng cất là 4 giờ. Tinh dầu được lưu giữ trong lọ tối màu và bảo quản ở 4°C.

* *Khảo sát tính chất vật lý của tinh dầu*: Tinh dầu chiết xuất được tiến hành khảo sát chất lượng, màu sắc và mùi của tinh dầu bằng phương pháp cảm quan. Sau đó, tiến hành đo tỷ trọng và chỉ số khúc xạ của tinh dầu bằng máy đo tỷ trọng và máy đo khúc xạ.

* *Khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp GC-MS:* Thành phần hóa học của tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí ghép khối phổ (GC-MS) trên hệ thống sắc ký khí Agilent 8890 với đầu dò khối phổ Agilent 5977B với cột mao quản HP-5MS 30 m × 0,25 mm × 0,25 μm. Hàm lượng các hợp chất có trong tinh dầu được xác định bằng phương pháp sắc ký khí đầu dò ion hóa ngọn lửa (FID) trên máy GC Agilent 8860 được trang bị cột mao quản HP-5MS 30 m × 0,250 mm × 0,25 μm và đầu dò ion hóa ngọn lửa.

* *Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu:* Các vi khuẩn gây bệnh được nuôi cấy trên môi trường thạch dinh dưỡng ở 37°C trong 16 - 18 giờ. Sau đó, sinh khối vi khuẩn được pha loãng với nước muối sinh lý vô trùng đến nồng độ 1×10^8 CFU/mL. Trãi 100 μL mỗi dịch vi khuẩn trên các môi trường MHA. Sử dụng đầu tip 1000 μL vô trùng để tạo thành các giếng trên môi trường MHA chứa vi khuẩn và cho 20 mg tinh dầu vào các giếng. Các đĩa môi trường MHA này được ủ ở 37°C trong 16 - 18 giờ. Hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu đối với các chủng vi khuẩn được ghi nhận bằng cách đo đường kính các vòng vô khuẩn xuất hiện xung quanh các giếng chứa tinh dầu trên mặt thạch MHA.

* *Khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của tinh dầu:* Tinh dầu được trộn trong môi trường MHA theo dãy nồng độ bậc 2 đi từ 0,5 mg/mL - 32 mg/mL. Tại mỗi nồng độ tinh dầu trong môi trường MHA, cấy một lượng vi khuẩn là 10^4 CFU cho mỗi vi khuẩn gây bệnh trên mặt thạch MHA. Sau đó, các đĩa MHA được ủ ở 37°C trong 16 - 18 giờ. Nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của tinh dầu đối với các chủng vi khuẩn gây bệnh được xác định tại nồng độ thấp nhất của tinh dầu trong môi trường MHA ức chế hoàn toàn sự phát triển của vi khuẩn.

* *Khảo sát độc tính của tinh dầu trên dòng tế bào:*

Tế bào đơn của dòng nguyên bào sợi và dòng tế bào NCI H460 được cấy trên đĩa nuôi cấy 96 giếng với mật độ là $7,5 \times 10^3$ tế bào/giếng. Sau 24 giờ nuôi cấy, quần thể tế bào được ủ với tinh dầu khảo sát ở dãy nồng độ 300, 200, 100, 50, 25 μg/mL trong 48 giờ. Sau đó, protein tổng từ tế bào thử nghiệm được cố định bằng dung dịch axit trichloroacetic 50% lạnh và nhuộm với dung dịch sulforhodamine B 0,2%. Kết quả được đọc bằng máy đọc ELISA ở hai bước sóng 492 nm và 620 nm. Tỷ lệ phần trăm gây độc tế bào được xác định theo công thức:

$$\% \text{ gây độc} = \left(1 - \frac{OD_{\text{thí nghiệm}}}{OD_{\text{đối chứng}}}\right) \times 100\%$$

Đối chứng dương và đối chứng âm trong thí nghiệm này là Camptothecin và DMSO. Giá trị ức chế 50% (IC_{50}) được xác định bằng cách sử dụng phần mềm Prism với phương pháp hồi quy không tuyến tính đa thông số và $R^2 > 0,9$.

Chỉ số chọn lọc giữa tế bào ung thư và tế bào thường được xác định bằng công thức IC_{50} dòng tế bào thường/ IC_{50} dòng tế bào ung thư.

KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

1. Chiết xuất tinh dầu

Để chiết xuất tinh dầu từ *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson, chúng tôi sử dụng phương pháp lôi cuốn hơi nước. Kết quả cho thấy tinh dầu đã chiết xuất có dạng lỏng, đồng nhất, trong suốt và có màu vàng nhạt. Tinh dầu có tỷ trọng là $d_{25}^{25} = 0,888$ g/mL (tỷ trọng của nước là $d_{25}^{25} = 0,993$ g/mL) và chỉ số khúc xạ là $n_{25} = 1,4898$.

2. Khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu bằng phương pháp GC-MS

Chúng tôi sử dụng phương pháp GC-MS để xác định thành phần hóa học trong tinh dầu. Kết quả khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1: Kết quả khảo sát thành phần hóa học của tinh dầu.

STT	RT	Tên hợp chất	% GC
1	5,552	α - Pinene	6,97
2	7,114	Myrcene	0,52
3	8,375	Limonene	0,77
4	9,459	γ - Terpinene	0,80
5	10,585	Terpinene	0,55
6	23,002	α - Copaene	0,59
7	23,723	α - Chamipinene	2,76
8	24,916	β - Duprezianene	19,08
9	26,094	α - Himachalene	1,83
10	26,338	α - Humulene	15,11
11	26,660	Cabreuva oxide B	1,44
12	27,516	γ - Himachalene	26,47
13	27,609	Không xác định	3,11
14	28,024	Không xác định	0,58
15	28,164	Guaiene	10,78
16	28,512	Không xác định	0,65
17	29,026	Không xác định	0,91
18	29,285	Không xác định	0,30
19	31,464	Không xác định	0,39
20	35,044	Không xác định	6,42

Tinh dầu được ghi nhận bao gồm 20 hợp chất với 13 hợp chất đã biết, chiếm tỷ lệ 65%. Trong số các hợp chất đã biết, các hợp chất terpen chứa hydrocarbon chiếm ưu thế hơn các hợp chất chứa oxygen. Các sesquiterpen chiếm hơn 60,67% tỷ lệ hợp chất ghi nhận trong tinh dầu với các chất đại diện như γ -Himachalene (26,47%), β -Dupreziana (19,08%), α -Humulene (15,11%). Có 7 hợp chất không xác định tinh dầu của *Praxelis clematidea*, chiếm tỷ lệ 35%. Trong nghiên cứu

của Wang và CS (2018), tinh dầu chiết xuất từ *Praxelis clematidea* thu thập ở Trung Quốc chứa 25 hợp chất đã biết và 10 hợp chất không xác định. Trong số các hợp chất đã biết, β -Cubebene (43,85%) và β -Caryophyllene (30,34%) là các thành phần chính của tinh dầu [2]. Sự khác nhau về thành phần hóa học trong tinh dầu của *Praxelis clematidea* ở nghiên cứu này so với nghiên cứu của Wang và CS có thể được giải thích do sự khác nhau về vị trí địa lý, về khí hậu và các tác nhân khác [4].

3. Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu

Chúng tôi sử dụng phương pháp khuếch tán trong thạch để khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu từ *Praxelis clematidea*. Kết quả khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu được ghi nhận như Bảng 2.

Bảng 2: Khảo sát hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu.

	Tên vi khuẩn	Đường kính vòng vô khuẩn (mm)
Gram dương	<i>Enterococcus faecium</i>	$17 \pm 0,1$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$24 \pm 0,1$
Gram âm	<i>Acinetobacter baumannii</i>	$20 \pm 0,1$
	<i>Enterobacter cloacae</i>	$0,0 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$12 \pm 0,2$
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$15 \pm 0,0$
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$18 \pm 0,0$

Kết quả cho thấy, tinh dầu thể hiện hoạt tính kháng khuẩn trên 6/7 chủng vi khuẩn khảo sát là *Acinetobacter baumannii*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* và *Staphylococcus aureus*. Tinh dầu không thể hiện hoạt tính kháng khuẩn đối với *Enterobacter cloacae*. Các nghiên cứu khác về hoạt tính kháng khuẩn của *Praxelis clematidea* được thực hiện trên cao chiết từ các dung

môi hữu cơ hoặc các hợp chất tinh chế từ cao chiết [1, 3]. Như vậy, kết quả trong nghiên cứu này về hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu từ *Praxelis clematidea* là mới và chưa được công bố trước đây. Ở bước tiếp theo, chúng tôi tiến hành định lượng hoạt tính kháng khuẩn của tinh dầu từ *Praxelis clematidea* bằng kỹ thuật xác định nồng độ ức chế tối thiểu của tinh dầu đối với 6 chủng vi khuẩn gây bệnh nhạy cảm với tinh dầu ở trên.

4. Khảo sát nồng độ ức chế tối thiểu (MIC) của tinh dầu

Chúng tôi sử dụng phương pháp pha loãng bậc 2 trong môi trường thạch để khảo sát giá trị MIC của tinh dầu trên 6 chủng vi khuẩn nhạy cảm. Kết quả khảo sát MIC của tinh dầu được ghi nhận như Bảng 3.

Bảng 3: Kết quả khảo sát MIC của tinh dầu.

	Tên vi khuẩn	MIC (mg/mL)
Gram dương	<i>Enterococcus faecium</i>	$\leq 2 \pm 0,0$
	<i>Staphylococcus aureus</i>	$\leq 2 \pm 0,0$
Gram âm	<i>Acinetobacter baumannii</i>	$> 16 \pm 0,0$
	<i>Escherichia coli</i>	$\leq 16 \pm 0,0$
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	$\leq 16 \pm 0,0$
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	$\leq 16 \pm 0,0$

Kết quả thí nghiệm cho thấy, tinh dầu thể hiện hoạt tính kháng khuẩn mạnh trên vi khuẩn Gram dương là *E. faecium* và *S. aureus* với giá trị MIC là 2 mg/mL trong khi tinh dầu có giá trị MIC đối với các vi khuẩn Gram âm là *A. baumannii*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* ≥ 16 mg/mL. Giá trị MIC của tinh dầu nhỏ hơn hoặc bằng 2 mg/mL được xem là đáng chú ý để phát triển thành tác nhân kháng khuẩn [5]. Như vậy, tinh dầu từ *Praxelis clematidea* có thể được phát triển thành các chế phẩm kháng *E. faecium* và *S. aureus* trong các nghiên cứu tiếp theo.

5. Khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của tinh dầu

Bên cạnh hoạt tính kháng khuẩn, chúng tôi cũng khảo sát hoạt tính gây độc tế bào trên dòng tế bào ung thư phổi NCI H460 bằng phương pháp SRB. Dòng tế bào nguyên bào sợi được sử dụng trong thí nghiệm này để tính toán hệ số chọn lọc dòng tế bào thư (SI). Kết quả khảo sát được thể hiện như Bảng 4.

Bảng 4: Kết quả khảo sát hoạt tính gây độc tế bào của tinh dầu.

Dòng tế bào	Mẫu	($\mu\text{g/mL}$)	Hoạt tính gây độc tế bào (%)
Nguyên bào sợi	Mẫu thử nghiệm	300	$78,31 \pm 6,56$
		200	$58,94 \pm 3,71$
		100	$56,54 \pm 1,31$
		50	$39,15 \pm 1,82$
		25	$21,36 \pm 9,19$
	DMSO	0,5%	$6,39 \pm 1,81$
	Camptothecin	2,5	$45,20 \pm 2,64$
NCI H460	Mẫu thử nghiệm	300	$95,06 \pm 1,00$
		200	$78,33 \pm 4,41$
		100	$45,24 \pm 2,54$
		50	$25,04 \pm 3,26$
		25	$12,78 \pm 2,35$
	DMSO	0,5%	$-2,60 \pm 7,18$
	Camptothecin	0,007	$73,15 \pm 0,33$

Giá trị ức chế 50% (IC_{50}) được xác định và trình bày như Bảng 5.

Bảng 5: Giá trị IC_{50} của tinh dầu trên nguyên bào sợi và NCI H460.

Dòng tế bào	Nguyên bào sợi	NCI H460	Chỉ số chọn lọc dòng ung thư
IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	$90,01 \pm 9,09$	$73,01 \pm 2,37$	1,23

Kết quả khảo sát cho thấy, giá trị IC_{50} của tinh dầu từ *Praxelis clematidea* đối với dòng tế bào ung thư phổi NCI H460 là $73,01 \pm 2,37 \mu\text{g/mL}$. Theo các nghiên cứu, giá trị IC_{50} của tinh dầu thể hiện hoạt tính gây độc tế bào mạnh nếu nó nằm trong khoảng 10 - 50 $\mu\text{g/mL}$. Hoạt tính gây độc tế bào là trung bình nếu IC_{50} nằm trong khoảng 50 - 100 $\mu\text{g/mL}$. Nếu $IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$ thì hoạt tính gây độc tế bào là yếu [6]. Như vậy, hoạt tính gây độc tế bào của tinh dầu là trung bình. Mặt khác, chỉ số chọn lọc (SI) trong hoạt tính gây độc của một hợp chất thiên nhiên đối với dòng tế bào ung thư và dòng tế bào thường > 5 thì chất đó có hoạt tính gây độc chọn lọc đối với dòng tế bào ung thư; SI nằm trong khoảng 1 - 5 thì chất có hoạt tính gây độc chọn lọc đối với dòng tế bào ung thư ở mức trung bình; nếu $SI < 1$ thì hoàn toàn không có hoạt tính gây độc chọn lọc [7]. Dựa vào chỉ số chọn lọc dòng ung thư cho thấy tinh dầu từ *Praxelis clematidea* thể hiện

hoạt tính gây độc chọn lọc đối với dòng tế bào ung thư phổi NCI H460 ở mức trung bình.

KẾT LUẬN

Tinh dầu của loài *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson có thành phần hóa học bao gồm 20 hợp chất, trong đó có 7 hợp chất chưa được xác định. Tinh dầu này có hoạt tính kháng khuẩn đối với 6 chủng vi khuẩn gây bệnh phân lập từ lâm sàng. Ngoài ra, tinh dầu còn có hoạt tính gây độc chọn lọc đối với dòng tế bào ung thư phổi NCI H460 ở mức trung bình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyen C.C., et al. (2021). Isolation and Identification of Antibacterial and Antifungal Compounds from *Praxelis clematidea* R. M. King & H. Robinson as an Effective Potential Treatment against Rice Pathogens. *Agronomy*; 11(11):2366.

2. Wang QiZhi, et al. (2018). Chemical composition of essential oil of the invasive plant *Praxelis clematidea* and its repellence and lethality to *Diaphorina citri*. *Chinese Journal of Applied Entomology*; 55(1):117-125.
3. Maia G.L., et al. (2011). Flavonoids from *Praxelis clematidea* R.M. King and Robinson modulate bacterial drug resistance. *Molecules*; 10.16(6):4828-4835.
4. Arruda M., et al. (2012). Anti-acetylcholinesterase and antioxidant activity of essential oils from *Hedychium gardnerianum* Sheppard ex Ker-Gawl. *Molecules*; 17(3):3082-3092.
5. Sylvestre M., et al. (2006). Essential oil analysis and anticancer activity of leaf essential oil of *Croton flavens* L. from Guadeloupe. *J Ethnopharmacol*; 103(1):99-102.
6. Van Vuuren S.F. (2008). Antimicrobial activity of South African medicinal plants. *J Ethnopharmacol*; 119(3):462-472.
7. Syarifah M.S., et al (2011). Potential anticancer compound from *Cerbera odollam*. *J Trop For Sci*; 9.

**ĐÁNH GIÁ TÁC DỤNG CỦA ESTROGEN DẠNG UỐNG
VÀ DẠNG BÔI NGOÀI DA TRONG QUÁ TRÌNH CHUẨN BỊ
NIÊM MẠC TỬ CUNG CỦA CHU KỲ CHUYỂN PHÔI ĐÔNG LẠNH
TẠI VIỆN MÔ PHÔI LÂM SÀNG QUÂN ĐỘI**

*Phạm Thị Nguyệt¹, Trịnh Quốc Thành²
Trịnh Thế Sơn², Đinh Trọng Hà²*

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng của estrogen dạng uống và bôi ngoài da trong chuẩn bị niêm mạc tử cung (NMTC) cho chuyển phôi đông lạnh. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả, tiến cứu trên 49 cặp vợ chồng có chỉ định chuyển phôi đông lạnh tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội từ tháng 10/2021 - 7/2022. Tất cả bệnh nhân (BN) thỏa mãn tiêu chuẩn và đồng ý tham gia nghiên cứu được chia ngẫu nhiên thành hai nhóm. Nhóm 1 sử dụng phác đồ chuẩn bị NMTC bằng estradiol đường uống dưới dạng estradiol valerate, trong khi nhóm 2 sử dụng estradiol đường bôi ngoài da dưới dạng 17 β -Estradiol. **Kết quả:** Liều lượng 17 β -Estradiol ngày “mở cửa sổ” trung bình là $5,91 \pm 0,76$ mg/ngày, quy đổi tương đương với $7,88 \pm 1,01$ mg estradiol valerate, cao hơn có ý nghĩa so với liều estradiol valerate sử dụng ở nhóm uống $7,25 \pm 1,15$ mg/ngày ($p < 0,05$). Độ dày NMTC ở nhóm dùng estrogen đường uống và đường bôi ngoài da lần lượt là $9,52 \pm 0,94$ mm và $9,66 \pm 0,89$ mm ($p > 0,05$). Tỷ lệ có thai (β -hCG dương tính) tương đương nhau giữa nhóm dùng estradiol đường uống và nhóm dùng estradiol đường bôi ngoài da, lần lượt là 58,8% và 55,6% ($p > 0,05$). **Kết luận:** Bổ sung estrogen dạng bôi ngoài da có tác dụng phát triển NMTC và cho hiệu quả làm tổ tương đương estrogen dạng uống trong các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh.

* *Từ khóa:* Estrogen; Estradiol; 17 β -Estradiol; Oestrogel; Chuyển phôi đông lạnh.

¹Viện Pháp y Quân đội

²Học viện Quân y

Người phản hồi: Phạm Thị Nguyệt (phamnguyet301289@gmail.com)

Ngày nhận bài: 12/12/2022

Ngày bài báo được đăng: 26/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.245>

**ASSESSMENT OF THE EFFECTS OF ORAL ESTROGEN AND
TRANSDERMAL ESTROGEN IN ENDOMETRIAL PREPARATION OF
FROZEN EMBRYO TRANSFER CYCLES AT MILITARY INSTITUTE
OF CLINICAL EMBRYOLOGY AND HISTOLOGY**

Summary

Objectives: To access the effects of oral estrogen and transdermal estrogen in endometrial preparation of frozen embryo transfer cycles. **Subjects and methods:** A prospective descriptive study on 49 couples with indications for frozen embryo transfer at Military Institute of Clinical Embryology and Histology from October 2021 to July 2022. All patients who met the criteria and agreed to participate in the study, were randomly divided into two groups. Group 1 used oral estradiol as estradiol valerate for endometrial preparation, while transdermal estradiol as 17 β -Estradiol was used in group 2. **Results:** The average dose of 17 β -Estradiol on the day of "window implantation" was 5.91 ± 0.76 mg/day, equivalent to 7.88 ± 1.01 mg of estradiol valerate, which was significantly higher than the dose of estradiol valerate used in the oral group (7.25 ± 1.15 mg/day, $p < 0.05$). The thickness of the uterine endometrium in the oral and transdermal estrogen groups was 9.52 ± 0.94 mm and 9.66 ± 0.89 mm, respectively ($p > 0.05$). The pregnancy rate (positive β -hCG) was similar between the oral estradiol group and the topical estradiol group, 58.8% and 55.6%, respectively ($p > 0.05$). **Conclusion:** Transdermal estrogen supplementation has endometrial growth and implantation efficacy comparable to oral estrogen in frozen embryo transfer cycles.

* **Keywords:** Estrogen; Estradiol; 17 β -Estradiol; Oestrogel; Frozen embryo transfer.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong thập kỷ qua, sự ra đời của kỹ thuật thụ tinh hóa mang lại hiệu quả và an toàn trong đông lạnh phôi, cùng với chiến lược “đông phôi toàn bộ” góp phần làm tăng đáng kể các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh trên toàn cầu [1]. Song song với cải thiện chất lượng phôi trước - sau rã đông, chuẩn bị NMTC

trong chuyển phôi đông lạnh cũng đóng vai trò hết sức quan trọng trong quá trình làm tổ của phôi. Các phác đồ chuẩn bị niêm mạc thường được sử dụng như liệu pháp hormone thay thế, kích thích buồng trứng nhẹ hoặc chuẩn bị bằng chu kỳ tự nhiên. Mỗi phác đồ có ưu, nhược điểm riêng, tuy vậy trong thực hành lâm sàng chuẩn bị niêm mạc bằng hormone thay thế vẫn là phương

pháp phổ biến nhất bởi không đòi hỏi theo dõi thường xuyên, thuận tiện cho cả bác sĩ và BN [2]. Trong phác đồ hormone thay thế có thể sử dụng estrogen cố định liều hoặc tăng dần liều bất trước sự tăng estrogen nội sinh trong mỗi chu kỳ kinh nguyệt [3]. Ngoài ra, có thể dùng estrogen theo nhiều đường khác nhau như uống, bôi ngoài da, đặt âm đạo. Nhiều báo cáo cho thấy tỷ lệ sinh sống không khác nhau giữa các đường dùng thuốc, tuy nhiên mức độ bằng chứng còn yếu. Theo đường uống, sau quá trình hấp thu ở ruột và chuyển hóa ở gan, nồng độ estradiol trong huyết thanh sẽ giảm khoảng 30%. Chống chỉ định đường uống với những BN suy chức năng gan hoặc có nguy cơ thuyên tắc mạch. Trong khi đó, sử dụng estrogen dạng thẩm thấu qua da không chuyển hóa qua gan mà lưu hành ngay trong huyết thanh. Do vậy, có giả thuyết cho rằng, estrogen dạng thẩm thấu qua da ít ảnh hưởng đến chuyển hóa lipoprotein và quá trình đông máu [4]. Trên thế giới, estrogen dạng bôi ngoài da đã và đang được nghiên cứu trong chuẩn bị niêm mạc chuyển phôi đông lạnh [5]. Hiện nay, tại Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu so sánh sự khác nhau của estrogen dạng uống và dạng gel bôi thẩm thấu qua da đối với kết quả chuẩn bị NMTC cho chuyển phôi đông lạnh. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu

này nhằm: *Đánh giá tác dụng của estrogen dạng uống và bôi ngoài da trong chuẩn bị NMTC cho chuyển phôi đông lạnh.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu trên 49 cặp vợ chồng có chỉ định chuyển phôi đông lạnh tại Viện Mô phôi Lâm sàng Quân đội từ tháng 10/2021 - 7/2022.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* Đối tượng được chỉ định chuẩn bị NMTC bằng phác đồ sử dụng nội tiết ngoại sinh, có ít nhất 1 phôi chất lượng tốt, NMTC vào ngày “mở cửa sổ” ≥ 7 mm.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* Dị dạng tử cung. Bệnh lý thực thể tử cung: Nhân sơ dưới niêm mạc, polyp buồng tử cung, dính buồng tử cung, lạc NMTC... BN có dịch trong buồng tử cung. Tiền sử rối loạn đông, cầm máu; huyết khối động - tĩnh mạch tiến triển (như nhồi máu cơ tim, đột quỵ). Hiện tại hoặc có tiền sử u gan (lành hoặc ác tính), các bệnh gan nặng. Tăng triglyceride máu nặng.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả, tiến cứu.

* *Các bước tiến hành:*

- Thu thập thông tin bệnh sử, đặc điểm lâm sàng và các kết quả cận lâm sàng theo mẫu bệnh án.

- Nếu không phát hiện bất thường trên siêu âm ngày 2 của chu kỳ kinh, bắt đầu chuẩn bị niêm mạc bằng estrogen ngoại sinh phác đồ liều linh động:

+ Nhóm uống: Viên nén Progynova 2 mg khởi đầu bằng liều 3 viên/ngày. Mỗi viên nén Progynova 2 mg chứa 2 mg estradiol valerate.

+ Nhóm bôi ngoài da: Oestrogel 0,06% khởi đầu bằng liều 3 thanh/ngày. Mỗi thanh 2,5g gel Oestrogel chứa 1,5 mg 17 β -Estradiol.

- Theo dõi sự phát triển của độ dày NMTC, sau 10 - 12 ngày khi độ dày NMTC ≥ 7 mm, tiến hành “mở cửa sổ” bằng progesterone.

- Đánh giá kết quả có thai sau chuyển phôi 14 ngày.

* *Các chỉ tiêu nghiên cứu*: Đặc điểm đối tượng nghiên cứu, liều lượng và thời gian dùng estrogen ngoại sinh, đáp ứng phát triển NMTC, tỷ lệ có thai.

Xử lý số liệu: Số liệu thu thập vào bệnh án nghiên cứu và được nhập vào phần mềm Excel, phân tích số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0. Kết quả được trình bày dưới dạng giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn và tỷ lệ phần trăm. Các test thống kê thích hợp được sử dụng để kiểm định sự khác biệt giữa hai nhóm. Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1: Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu.

Đặc điểm	Nhóm 1 ($\bar{x} \pm SD$)	Nhóm 2 ($\bar{x} \pm SD$)	p
Chiều cao (cm)	156,33 $\pm$ 5,67	156,76 $\pm$ 5,82	> 0,05
Cân nặng (kg)	53,67 $\pm$ 7,87	52,88 $\pm$ 8,43	
Chỉ số khối cơ thể - BMI (kg/m ²)	21,94 $\pm$ 2,9	21,44 $\pm$ 2,7	
Thời gian vô sinh (năm)	4,58 $\pm$ 3,61	4,16 $\pm$ 3,55	
Độ dài vòng kinh (ngày)	35,50 $\pm$ 6,53	32,52 $\pm$ 6,60	
Số ngày có kinh (ngày)	5,50 $\pm$ 1,06	4,84 $\pm$ 1,28	

Không có sự khác biệt về chỉ số BMI ở nhóm 1 ($21,94 \pm 2,90 \text{ kg/m}^2$) so với nhóm 2 ($21,44 \pm 2,70 \text{ kg/m}^2$) ($p > 0,05$). Chiều cao, cân nặng, thời gian vô sinh của các đối tượng thuộc nhóm uống và bôi da E2 cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Sự khác biệt về độ dài vòng kinh, cũng như số ngày có kinh trung bình giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 2: Liều estradiol ngày “mở cửa sổ” trong chuẩn bị NMTC.

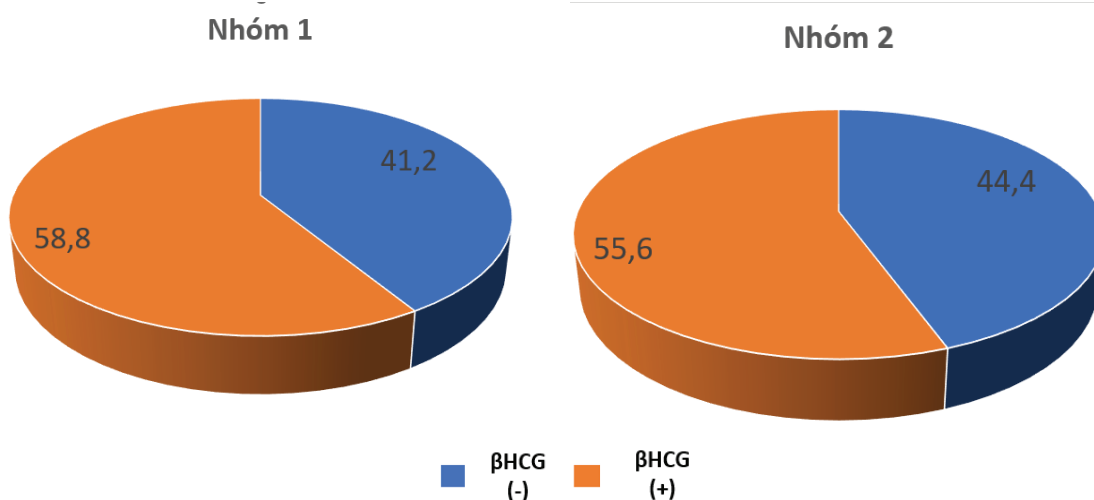
Nhóm	Loại estradiol	$\bar{X} \pm SD$	Nhỏ nhất	Lớn nhất
Nhóm 1	Estradiol valerate (mg/ngày)	$7,25 \pm 1,15$	6,0	10,0
Nhóm 2	17β -Estradiol (mg/ngày)	$5,91 \pm 0,76$	4,5	7,5

Trong nhóm bôi da, liều lượng 17β -Estradiol ngày “mở cửa sổ” trung bình là $5,91 \pm 0,76 \text{ mg/ngày}$, quy đổi tương đương với $7,88 \pm 1,01 \text{ mg estradiol valerate}$, cao hơn có ý nghĩa so với liều estradiol valerate sử dụng ở nhóm uống ($7,25 \pm 1,15 \text{ mg/ngày}$, $p < 0,05$).

Bảng 3: Số ngày chuẩn bị NMTC trước khi chuyển dạng bằng bổ sung progesteron giữa hai nhóm.

Đặc điểm	Nhóm 1 ($\bar{X} \pm SD$)	Nhóm 2 ($\bar{X} \pm SD$)	p
Số ngày	$12,79 \pm 0,72$	$12,88 \pm 0,73$	$> 0,05$

Số ngày chuẩn bị NMTC trước khi chuyển dạng bằng bổ sung progesteron giữa hai nhóm lần lượt là $12,79 \pm 0,72$ ngày và $12,88 \pm 0,73$ ngày. Kiểm định thống kê cho thấy sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).



Biểu đồ 1: Tỷ lệ làm tổ ở hai nhóm.

Dựa trên kết quả xét nghiệm β -hCG sau 14 ngày chuyển phôi, xác định được tỷ lệ có thai của đối tượng ở nhóm 1 là 58,8%, cao hơn so với nhóm 2 (55,6%). Tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, đối tượng được chuẩn bị NMTC bằng phác đồ sử dụng nội tiết tố ngoại sinh, nhóm 1 gồm 24 đối tượng sử dụng estrogen dạng uống. Dược chất được sử dụng là estradiol valerate - một loại este của estradiol. Quá trình este hóa estradiol nhằm cải thiện sự hấp thu và sinh khả dụng sau khi uống do estradiol nội sinh tự sinh khả dụng đường uống rất thấp (2 - 10%). Theo Davies và CS, estradiol valerate là dạng estrogen được sử dụng phổ biến nhất trong quá trình chuẩn bị NMTC [5]. Tuy vậy, quá trình hấp thu tại ruột và sau đó là chuyển hóa tại gan làm sinh khả dụng của estradiol theo

đường uống (estradiol valerate) giảm khoảng 30% [4].

Một số cách sử dụng estrogen ngoại sinh trong chuẩn bị niêm mạc chuyển phôi đông lạnh đã được nghiên cứu và áp dụng bao gồm viên uống, miếng dán thẩm thấu qua da và gần đây nhất là dạng gel thẩm thấu qua da. Trong nghiên cứu này, dạng gel Oestrogel 0,06% bôi ngoài da chứa 17β -Estradiol được sử dụng ở 25 đối tượng nghiên cứu thuộc nhóm 2. Oestrogel 0,06% tít 80g chứa hoạt chất 17β -estradiol, được sử dụng cho liệu pháp hormone thay thế để làm giảm các triệu chứng thiếu hụt estrogen ở phụ nữ mãn kinh, sau đó bắt đầu được nghiên cứu áp dụng

trong chuẩn bị niêm mạc chuyển phôi đông lạnh. Đây là một loại gel trong suốt, không màu, 17 β -Estradiol, ethanol, pushamine và carborner. Mỗi thanh 2,5g Oestrogel chứa 1,5mg 17 β -Estradiol, mỗi thanh tương đương 2 mg estradiol valerate chứa trong một viên nén Progynova 2 mg. 17 β -Estradiol trong gel Oestrogel đi vào máu, trực tiếp qua da mà không qua hệ tiêu hóa, nghĩa là không bị chuyển hóa ở gan như khi uống estradiol valerate. Điều này dẫn đến nhiều hormone theo máu tới mô đích NMTC với sinh khả dụng cao. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu tương đối thuần nhất, số ngày bổ sung estradiol ngoại sinh tính đến ngày “mở cửa sổ” giữa hai nhóm không có sự khác biệt. Liều lượng 17 β -Estradiol ngày “mở cửa sổ” trung bình là $5,91 \pm 0,76$ mg/ngày, quy đổi tương đương với $7,88 \pm 1,01$ mg estradiol valerate, cao hơn có ý nghĩa so với liều estradiol valerate sử dụng ở nhóm uống $7,25 \pm 1,15$ mg/ngày ($p < 0,05$). Đường bôi ngoài da có liều lượng khi quy đổi ra estradiol valerate cao hơn có ý nghĩa thống kê so với đường uống, cho thấy sinh khả dụng cao hơn về mặt lý thuyết.

Đánh giá độ dày NMTC ở nhóm dùng estrogen đường uống và đường bôi ngoài da lần lượt là $9,52 \pm 0,94$ mm và $9,66 \pm 0,89$ mm, khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Kết quả này phù hợp với kết luận của nhiều nghiên cứu khác khi độ dày NMTC không có sự khác biệt giữa hai nhóm sử dụng estradiol chuẩn bị NMTC với đường dùng khác nhau [6]. Ngoài ra, cũng nhận thấy tỷ lệ có thai (β -hCG dương tính) tương đương nhau giữa nhóm dùng estradiol đường uống và nhóm dùng estradiol đường bôi ngoài da, lần lượt là 58,8% và 55,6% ($p > 0,05$). Kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự nghiên cứu của Sita Garimella (2020). Nghiên cứu đánh giá tác động của estradiol đường uống và estradiol đường bôi ngoài da trong quá trình chuẩn bị NMTC cho chuyển phôi đông lạnh cho thấy, tỷ lệ có thai ở hai nhóm lần lượt là 68,5% và 70,2%, sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa ($p = 0,752$) [7].

KẾT LUẬN

Bổ sung estrogen dạng bôi ngoài da có tác dụng phát triển NMTC và cho hiệu quả làm tổ tương đương estrogen dạng uống trong các chu kỳ chuyển phôi đông lạnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Singh B., Reschke L., Segars J., et al. (2020). Frozen-thawed embryo transfer: the potential importance of the corpus luteum in preventing obstetrical complications. *Fertil Steril*; 113(2):252-257.

2. Ghobara T., Gelbaya T.A., Ayeleke R.O. (2017). Cycle regimens for frozen-thawed embryo transfer. *Cochrane Database Syst Rev*; 7, CD003414.
3. Navot D., Laufer N., Kopolovic J., et al. (1986). Artificially induced endometrial cycles and establishment of pregnancies in the absence of ovaries. *N Engl J Med*; 314(13):806-811.
4. Shahrokh Tehraninejad E., Kabodmehri R., Hosein Rashidi B., et al. (2018). Trans dermal estrogen (oestrogel) for endometrial preparation in freeze embryo transfer cycle: An RCT. *Int J Reprod Biomed*; 16(1):51-56.
5. Davies M.C., Anderson M.C., Mason B.A., et al. (1990). Oocyte donation: the role of endometrial receptivity. *Hum Reprod*; 5(7):862-869.
6. Madero S., Rodriguez A., Vassena R., et al. (2016). Endometrial preparation: effect of estrogen dose and administration route on reproductive outcomes in oocyte donation cycles with fresh embryo transfer. *Hum Reprod*; 31(8):1755-1764.
7. Garimella S., Karunakaran S., Gedela D.R. (2021). A prospective study of oral estrogen versus transdermal estrogen (gel) for hormone replacement frozen embryo transfer cycles. *Gynecol Endocrinol*; 37(6):515-518.

NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG VÀ THẨM ĐỊNH PHƯƠNG PHÁP
ĐỊNH LƯỢNG TACROLIMUS TRONG MÁU NGƯỜI
BẰNG PHƯƠNG PHÁP SẮC KÝ LỒNG KHỐI PHỔ

*Trần Bá Hiếu¹, Chữ Văn Mến¹, Hoàng Xuân Sử¹
Đinh Thị Thu Hằng¹, Đào Đức Long¹, Nguyễn Đức Hạnh²
Lê Việt Thắng³, Phạm Văn Trân³, Phạm Quốc Toàn³
Vũ Quang Hợp³, Trương Quý Kiên³*

Tóm tắt

Mục tiêu: Xây dựng và thẩm định phương pháp định lượng tacrolimus trong máu toàn phần người bằng phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (LC-MS/MS) để ứng dụng trên bệnh nhân (BN) ghép thận. **Đối tượng và phương pháp:** Tacrolimus và chuẩn nội được chiết từ máu toàn phần bằng cách sử dụng methanol/1,125M ZnSO₄ (66/34, v/v) và được tách bằng rửa giải gradient trên cột ACQUITY UPLC® BHE C18 (2,1x100 mm; 1,7 µm) ở 25°C sử dụng pha động là acetonitril và amoni acetat 5 mM. Tốc độ dòng là 0,2 mL/phút, phần dịch trong 5 µL được bơm vào phân tích trong hệ thống LC-MS/MS. Các ion được phát hiện bằng cách theo dõi đa phản ứng trên hệ thống MS/MS Xevo TQD. Phương pháp được thẩm định theo hướng dẫn của FDA và được ứng dụng để định lượng nồng độ tacrolimus trên BN ghép thận, đồng thời so sánh mỗi tương quan và sự khác biệt với phương pháp miễn dịch hóa phát quang (CLIA). **Kết quả:** Phương pháp có tổng thời gian sắc ký là 5 phút. Đường chuẩn tuyến tính trong khoảng 1,0 - 100,0 ng/mL với giới hạn định lượng dưới là 1 ng/mL. Độ chính xác trong ngày và khác ngày lần lượt nằm trong khoảng 93,3 - 109,2% và 96,0 - 108,4%. Độ đúng trong ngày và khác ngày dao động trong khoảng 0,8 - 9,4%. Tỷ lệ thu hồi của tacrolimus dao động từ 102,6 - 107,8%. Các chỉ tiêu về độ đúng, độ chính xác và tỷ lệ thu hồi đáp ứng các tiêu chuẩn của FDA.

¹Viện Nghiên cứu Y Dược học Quân sự, Học viện Quân y

²Trường Đại học Dược Hà Nội

³Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Người phản hồi: Chữ Văn Mến (chuvanmen@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 12/12/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 27/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.246>

Kết quả về mối tương quan và sự khác biệt nồng độ tacrolimus giữa hai phương pháp cho thấy phương pháp LC-MS/MS có độ tin cậy để ứng dụng trong theo dõi nồng độ tacrolimus trên lâm sàng. **Kết luận:** Nghiên cứu đã xây dựng, thẩm định và ứng dụng được phương pháp định lượng tacrolimus trong máu toàn phần đạt được các tiêu chí nhanh, nhạy, tính chọn lọc và độ đặc hiệu cao, đáp ứng yêu cầu phân tích trong các nghiên cứu tương đương sinh học của tacrolimus.

* *Từ khóa:* Tacrolimus; Phân tích; Khối phổ; Phương pháp.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF THE LC-MS/MS METHOD FOR DETERMINING TACROLIMUS IN HUMAN WHOLE BLOOD FROM KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS

Objectives: To develop and validate an LC-MS/MS method for the determination of tacrolimus (FK506) in whole blood in kidney transplant recipients. **Subjects and methods:** Tacrolimus and the internal standard were extracted from human whole blood using methanol/1.125M ZnSO₄ (66/34, v/v) and separated using gradient elution on an ACQUITY UPLC® BHE C18 column (2.1x100 mm; 1.7 µm) kept at 25°C with acetonitrile and 5 mM ammonium acetate as mobile phase. The flow rate was 0.2 mL/min, and a 5 µL aliquot of residues was injected into the LC-MS/MS. Detection was carried out by multiple reactions monitoring on a MS/MS Xevo TQD system. The method validation was performed according to FDA guidelines and applied to determine tacrolimus concentration in kidney transplant patients. The method comparison of LC-MS/MS vs chemiluminescent microparticle immunoassay (CLIA) was performed using a standardized major axis regression analysis and Bland-Altman plots. **Results:** The method had a total chromatographic run time of 5 minutes. The calibration curves were linear over the range of 1.0 - 100.0 ng/mL with a lower limit of quantification of 1 ng/mL. The intra-day and inter-day accuracy were within the range of 93.3 - 109.2% and 96.0 - 108.4%, respectively, and the intra-day and inter-day precision ranged from 0.8 - 9.4%. The mean extraction recoveries of tacrolimus ranged from 102.6 - 107.8%. The methods of accuracy, precision, and recovery meet the acceptance criteria according to FDA guidelines. The results of the correlation and bias in tacrolimus concentrations between the two methods show that the LC-MS/MS method is reliable for application in clinical tacrolimus concentration monitoring. **Conclusion:** A rapid, sensitive, selective, and reliable method for the determination of tacrolimus in human whole blood has been successfully developed, validated, and applied.

* *Keywords:* Tacrolimus; Analysis; Mass spectrometry; Method.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tacrolimus là loại thuốc ức chế miễn dịch macrolide mới được phân lập từ việc nuôi cấy vi khuẩn *Streptomyces*. Tác dụng dược lý chính của tacrolimus là ức chế hiệu quả sự hoạt hóa của các tế bào lympho T và liên kết với các thụ thể tế bào nội sinh để tạo thành một phức hợp immunophilin. Tacrolimus có thể ngăn ngừa hiệu quả sự đào thải cấp tính sau khi ghép gan và thận. Hiện nay, tacrolimus được sử dụng rộng rãi trong điều trị chống đào thải và các bệnh liên quan đến hệ thống tự miễn dịch ở gan, thận, tim, tuyến tụy và các cơ quan cấy ghép khác [1].

Do cửa sổ điều trị hẹp của tacrolimus, mối tương quan giữa liều dùng và nồng độ tacrolimus trong máu toàn phần là thấp, do đó rất khó thực hiện các nghiên cứu dược động học lâm sàng. Hiện tại, các phương pháp phù hợp nhất để nghiên cứu dược động học lâm sàng của tacrolimus là xét nghiệm miễn dịch enzyme vi hạt (MEIA), xét nghiệm miễn dịch liên kết enzyme (ELISA), và khối phổ kết hợp sắc ký lỏng (LC-MS/MS) [2, 3]... LC-MS/MS có ưu điểm là thời gian phân tích ngắn, xử lý mẫu nhanh, độ đặc hiệu cao, độ chính xác cao, độ nhạy cao, chi phí thấp...[4]. Nghiên cứu này nhằm: *Xây dựng và thẩm định một phương pháp LC-MS/MS nhanh, nhạy và chính xác*

để xác định nồng độ tacrolimus trong máu toàn phần và ứng dụng để tiến hành nghiên cứu tương đương sinh học trên BN ghép thận.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**1. Nguyên liệu**

Chất chuẩn tacrolimus (QT193031186; 98,6%) và chuẩn nội roxithromycin (QT159060618; 95,5%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Các dung môi pha động và dung môi xử lý mẫu đạt độ tinh khiết theo tiêu chuẩn LC-MS được mua từ công ty Merk (Đức). Máu toàn phần được cung cấp bởi Khoa Huyết học - Truyền máu, Bệnh viện Quân y 103. Kháng thể và hóa chất dùng cho phương pháp CLIA được cung cấp bởi công ty Abbott (Hoa Kỳ).

2. Thiết bị

Các mẫu được phân tích bằng hệ thống sắc ký lỏng khối phổ LC-MS/MS Xevo TQD (Water, Hoa Kỳ) và máy Architect CI 16200 (Abbott, Hoa Kỳ). Các thiết bị bao gồm cân phân tích MS 205 DU (Mettler Toledo, Thụy Sĩ), máy lắc vortex (IKA labdancer, Đức), máy ly tâm Universal 320 (Hettich, Đức)... đều đạt tiêu chuẩn ISO/IEC 17025, GLP và được hiệu chuẩn theo quy định.

3. Lựa chọn các điều kiện định lượng tacrolimus trong máu toàn phần

Các ion mẹ, ion con dùng để định lượng, định tính được chọn bằng phương pháp khảo sát tự động. Các thông số MS/MS được tự động tối ưu bằng chế độ MS tune của thiết bị. Sử dụng cột phân tích pha đảo (C_{18} ; $100 \times 2,1$ mm; $1,7 \mu\text{m}$) để tiến hành khảo sát và lựa chọn dung môi pha động. Nghiên cứu tiến hành khảo sát trên hệ pha động gồm 3 thành phần là MeOH, MeCN và $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ bằng chế độ đẳng dòng và thay đổi tỷ lệ thành phần pha động. Pha động được chọn phải đảm bảo pic cần phân tích trong sắc ký đồ tách rõ ràng, không bị chập với các pic nhiễu khác, ít bị doãng pic, thời gian lưu hợp lý.

4. Chuẩn bị mẫu chuẩn và mẫu kiểm soát chất lượng

Dung dịch chuẩn gốc của tacrolimus và roxithromycin được chuẩn bị chính xác trong acetonitril và methanol ở $250 \mu\text{g/mL}$ và sau đó được bảo quản ở -80°C . Các mẫu hiệu chuẩn được chuẩn bị bằng cách pha loãng dung dịch chuẩn gốc trong máu toàn phần người đến các nồng độ 1; 5; 10; 25; 50; 75 và 100 ng/mL . Bốn mẫu kiểm soát chất lượng (QC) được chuẩn bị ở nồng độ 5; 10; 50; và 75 ng/mL .

5. Phương pháp xử lý mẫu

Mỗi mẫu ($100 \mu\text{L}$) được kết tủa bằng cách sử dụng $200 \mu\text{L}$ methanol/ $1,125\text{M}$ ZnSO_4 trong nước (66/34, v/v) chứa 50 ng/mL chất chuẩn nội. Hỗn hợp được lắc xoáy trong 30 giây và để 5 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó được ly tâm ở 13.000 vòng/phút trong 10 phút ở 4°C . $5 \mu\text{L}$ phần dịch trong được đưa vào phân tích trong hệ thống LC-MS/MS sử dụng bộ lấy mẫu tự động hoạt động ở 20°C .

6. Thẩm định phương pháp

Phương pháp được xây dựng và thẩm định theo hướng dẫn của FDA. Độ đặc hiệu được đánh giá bằng cách phân tích sáu mẫu trắng khác nhau. Tiêu chuẩn chấp nhận là đáp ứng của mẫu trắng tại thời điểm trùng với thời gian lưu của chất phân tích không được vượt quá 20% đáp ứng của chất phân tích ở nồng độ giới hạn định lượng dưới (LLOQ).

LLOQ được đánh giá đơn lẻ trong sáu mẫu khác nhau ở nồng độ $1,0 \text{ ng/mL}$.

Đường chuẩn và khoảng tuyến tính được xác định bằng cách phân tích năm đường chuẩn khác nhau với nồng độ từ $0,5 - 100 \text{ ng/mL}$ trong năm ngày riêng biệt.

Độ đúng và độ chính xác được đánh giá bằng cách phân tích sáu lần lặp lại của mỗi mẫu QC trong một ngày và ba lần lặp lại của mỗi mẫu QC trong năm ngày khác nhau.

Tỷ lệ thu hồi được xác định bằng cách so sánh diện tích đỉnh của các mẫu QC thu được trong máu toàn phần với các nồng độ tương đương trong pha động.

Ảnh hưởng của nền mẫu (ME) được xác định bằng cách so sánh diện tích đỉnh của mẫu kiểm tra nồng độ thấp (LQC) và mẫu kiểm tra nồng độ cao (HQC) trong máu toàn phần với các mẫu có cùng nồng độ trong pha động. Sáu lô máu toàn phần khác nhau được sử dụng để đánh giá ảnh hưởng của nền mẫu và tỷ lệ (diện tích pic trong máu toàn phần/diện tích pic trong pha động) được gọi là hệ số nền (MF) để xác định ME.

Độ ổn định của tacrolimus trong máu toàn phần được đánh giá bằng cách phân tích sáu lần lặp lại các mẫu LQC và HQC trong các điều kiện bảo quản và quy trình khác nhau. Độ ổn định ngắn ngày được xác định bằng cách phân tích các mẫu QC này sau khi được bảo quản ở nhiệt độ phòng trong 5 giờ. Các điều kiện đông lạnh và rã đông bao gồm ba chu kỳ đông lạnh ở -70°C và rã đông ở 37°C, mỗi chu kỳ 12 giờ. Độ ổn định của mẫu sau xử lý được đánh giá bằng cách phân tích các mẫu này sau khi kết tủa protein và giữ chúng trong thiết bị lấy mẫu tự động trong 24 giờ. Độ ổn định dài ngày

được đánh giá khi bảo quản ở -70°C trong hai tháng. Tiêu chuẩn chấp nhận cho độ ổn định nằm trong khoảng 15% độ chính xác.

7. Định lượng và so sánh nồng độ tacrolimus trên BN ghép thận

Phương pháp LC-MS/MS sau khi được xây dựng và thẩm định được ứng dụng để định lượng nồng độ tacrolimus trong máu 96 BN tại các thời điểm 1, 3 và 6 tháng sau ghép thận tại Khoa Thận và Lọc máu, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y. Phân tích hồi quy trực chính chuẩn hóa và biểu đồ Bland-Altman được dùng để so sánh nồng độ tacrolimus định lượng bằng phương pháp LC-MS/MS và phương pháp miễn dịch hóa phát quang (CLIA).

8. Phương pháp xử lý số liệu

Giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, độ lệch chuẩn tương đối, phương trình hồi quy, hệ số tương quan hồi quy được xác định bằng phần mềm Microsoft Excel 2016.

9. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được Hội đồng Y đức của Học viện Quân y thông qua. Việc lấy máu và xét nghiệm chỉ được thực hiện khi có sự đồng ý bằng cam kết của người bệnh hoặc người nhà BN.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Lựa chọn điều kiện phân tích khối phổ

Để lựa chọn điều kiện phân tích khối phổ, dung dịch chuẩn tacrolimus ở nồng độ 100 ng/mL được tiêm trực tiếp vào khối phổ. Chế độ ESI (+) được chọn và ion mẹ của $[M + H]^+$ được phân mảnh để thu được ion con. Để định lượng, ion con có cường độ cao nhất đã được chọn. Các thông số khối phổ được xác định bằng phần mềm Water's Intellistart và được trình bày trong bảng 2.

Dung môi pha động được khảo sát và tối ưu hóa như sau:

Kênh A: Acetonitril (1% acid formic);

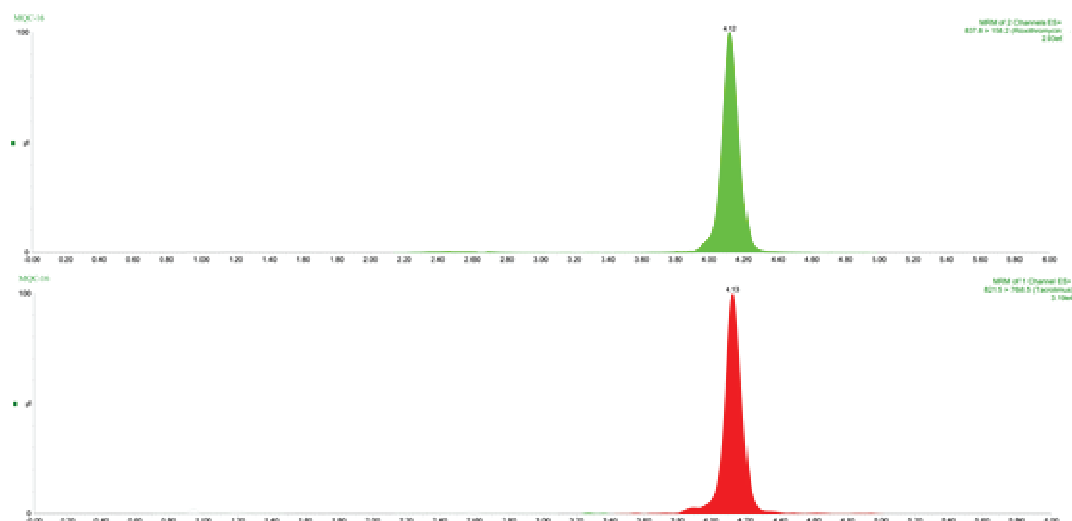
Kênh B: Amoni acetat 5 mM.

Bảng 1: Gradient dung môi pha động.

Thời gian (phút)	Acetonitril (%)
0,00	60
1,25	60
1,26	98
3,00	98
3,01	60
5,00	60

Bảng 2: Thông số của detector khối phổ.

Điều kiện khối phổ	Tacrolimus	IS
Chế độ ion hóa	ESI (+)	ESI (+)
Capillary voltage (kV)	3,25	3,5
Cone voltage (V)	55	55
Desolvation temperature (°C)	350	350
Desolvation gas (L/H)	800	800
Cone gas (L/H)	10	20
Collision energy (V)	22	30
Parent ion (Dalton)	821,5	837,8
Product ion (Dalton)	768,5	158,2



Hình 1: Sắc ký đồ pha động tỷ lệ MeCN - $\text{CH}_3\text{COONH}_4$ 5 mM 60:40.

Kết quả cho thấy với các thông số khối phổ (Bảng 2), ion con của tacrolimus và chuẩn nội có cường độ cao nhất, được tách hoàn toàn và phân biệt rõ khỏi tạp chất.

2. Độ đặc hiệu

Trong sắc ký đồ của các mẫu trắng, mẫu tacrolimus chuẩn và mẫu chuẩn nội (IS) pic của tarcolimus và IS được phân biệt rõ, tách hoàn toàn khỏi pic tạp chất có trong mẫu. Tỷ lệ đáp ứng của tarcolimus và IS so với mẫu trắng < 20% và 5%, do vậy phương pháp đạt yêu cầu về độ chọn lọc và độ đặc hiệu.

Bảng 3: Độ đặc hiệu và giới hạn định lượng dưới.

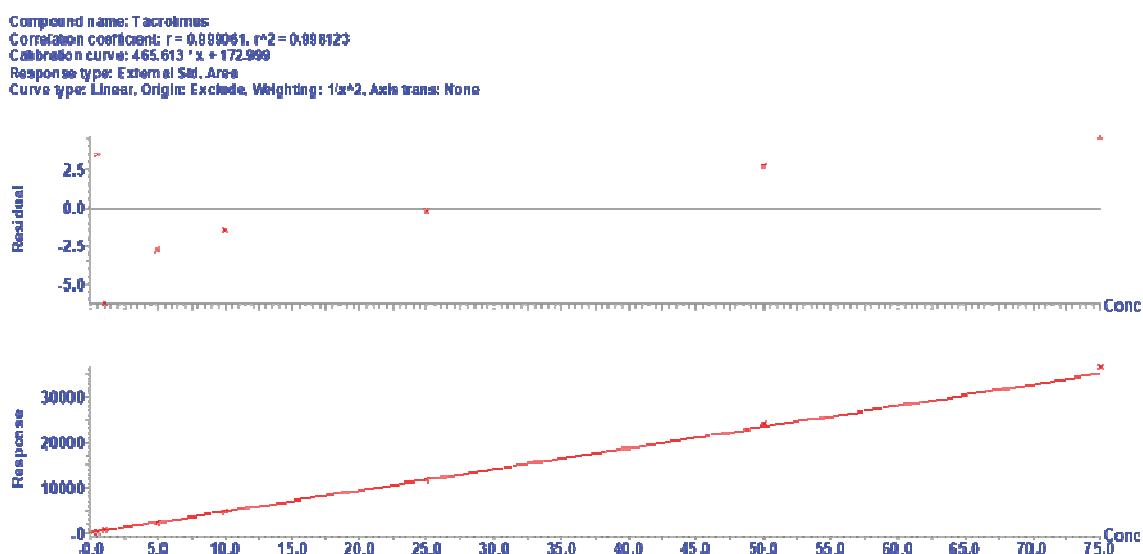
Lô mẫu	BL/LLOQ	BL/IS	Độ chính xác (%)
1	0,1248	0,0018	100
2	0,1222	0,0013	100
3	0,1407	0,0019	100
4	0,1302	0,0017	100
5	0,1407	0,0023	90
6	0,1558	0,0022	90
Trung bình	0,1357	0,0018	96,7
CV%			5,3

3. Giới hạn định lượng dưới

Kết quả bảng 3 cho thấy đáp ứng của mẫu LLOQ lớn hơn 5 lần so với đáp ứng của mẫu trắng. Ở nồng độ 1 ng/mL đạt yêu cầu về độ đúng (80 - 120% so với nồng độ thực) và độ chính xác khi tiến hành phân tích trên các mẫu LLOQ độc lập có hệ số biến thiên (CV) $\leq 20\%$. Mức nồng độ 1 ng/mL đáp ứng yêu cầu phân tích các nghiên cứu tương đương sinh học của tacrolimus với nồng độ $C_{\max}$ khoảng 0,6 - 0,7 $\mu\text{g/mL}$, do vậy đáp ứng các yêu cầu về giới hạn định lượng dưới.

4. Đường chuẩn và khoảng tuyến tính

Đường chuẩn được xây dựng bằng cách sử dụng đáp ứng của tỷ lệ diện tích pic (y) so với nồng độ tacrolimus (x) với hệ số weighting phù hợp là $1/x^2$ xác định từ dữ liệu thẩm định. Kết quả cho thấy các đường chuẩn tám điểm của tacrolimus tuyến tính trong phạm vi nồng độ từ 0,5 - 100 ng/mL theo phương trình hồi quy dạng $Y = aX + b$ với $R^2 > 0,99$. Nồng độ tacrolimus được tính lại từ phương trình hồi quy trong khoảng 92,2 - 109,5% đều trong khoảng giới hạn cho phép là 85 - 115% và 80 - 120% đối với LLOQ. Như vậy, đường chuẩn được xây dựng đáp ứng các tiêu chuẩn quy định của phương pháp phân tích.



Hình 2: Đường chuẩn tacrolimus trong máu toàn phần.

5. Độ đúng và độ chính xác

Bảng 4: Độ đúng và độ chính xác.

Mẫu QC (ng/mL)	n	Mean $\pm$ SD	CV (%)	Độ chính xác (%)
Độ đúng độ chính xác trong ngày				
LLOQ	6	0,9 $\pm$ 0,1	5,5	93,3
LQC	6	5,1 $\pm$ 0,1	2,4	101,3
SQC	6	10,0 $\pm$ 0,1	1,2	99,7
MQC	6	52,8 $\pm$ 0,4	0,8	105,6
HQC	6	81,9 $\pm$ 0,6	0,9	109,2
Độ đúng độ chính xác khác ngày				
LLOQ	6	0,9 $\pm$ 0,1	7,5	96
LQC	6	4,9 $\pm$ 0,2	4,6	94,1
SQC	6	9,8 $\pm$ 0,3	3,7	98,5
MQC	6	51,8 $\pm$ 2,1	3,2	98,2
HQC	6	81,3 $\pm$ 3,0	3,8	108,4

Kết quả bảng 4 cho thấy độ đúng trong ngày và khác ngày lần lượt nằm trong khoảng 93,3 - 109,2% và 94,1 - 108,4% đáp ứng tiêu chuẩn chấp nhận (85 - 115%). Độ chính xác trong ngày và khác ngày đáp ứng tiêu chuẩn chấp nhận với CV dao động từ 0,8 - 7,5%. Do đó, phương pháp này đáp ứng các tiêu chuẩn để phân tích tacrolimus trong dịch sinh học.

6. Tỷ lệ thu hồi và ảnh hưởng của nền mẫu

Bảng 5: Tỷ lệ thu hồi và ảnh hưởng của nền mẫu.

Mẫu QC (ng/mL)	n	CV (%)		Tỷ lệ thu hồi (%)
		Dung môi	Máu	
Tỷ lệ thu hồi				
LQC	6	2,4	4,6	106,6
SQC	6	2,1	1,5	104,0
MQC	6	1,4	3,1	107,8
HQC	6	5,3	2,1	108,1
IS	6	4,2	4,9	103,0
Ảnh hưởng của nền mẫu				
LQC	6	5,4		99,2
HQC	6	7,4		108,6

Kết quả về tỷ lệ thu hồi cho thấy CV của mỗi nồng độ được tính toán theo đáp ứng của diện tích đỉnh của tacrolimus < 15%. Tỷ lệ thu hồi chiết xuất trung bình của tacrolimus nằm trong phạm vi không quá 110% và không thấp hơn 30% với CV < 15% và phương pháp phân tích này phù hợp và đáp ứng các tiêu chuẩn về tỷ lệ thu hồi.

Ảnh hưởng của nền mẫu được khảo sát bằng cách sắc ký mẫu trong máu toàn phần. Hệ số biến thiên của các mẫu LQC và HQC thu được lần lượt là 5,4% và 7,4%, trong khi độ chính xác được tìm thấy ở các mẫu này lần lượt là 99,2% và 108,6%. Những kết quả này cho thấy ảnh hưởng của nền mẫu là có thể chấp nhận được và sẽ không ảnh hưởng đến tính lặp lại của phương pháp phân tích.

7. Độ ổn định

Bảng 6: Độ ổn định.

Quality control (ng/mL)	n	Mean $\pm$ SD	CV (%)	Độ chính xác (%)
Nhiệt độ phòng				
LQC	6	4,6 $\pm$ 0,1	2,5	96,2
HQC	6	69,8 $\pm$ 0,4	0,9	91,4
Auto sampler				
LQC	6	4,8 $\pm$ 0,1	2,4	95,4
HQC	6	80,2 $\pm$ 0,3	0,9	97,9
Đồng rã				
LQC	6	5,1 $\pm$ 0,2	4,6	103,8
HQC	6	84,8 $\pm$ 0,8	1,9	101,8
Dài ngày				
LQC	6	4,9 $\pm$ 0,1	2,4	96,4
HQC	6	83,3 $\pm$ 1,6	1,9	101,7

Hệ số biến thiên ở nhiệt độ phòng, trong bộ lấy mẫu tự động và sau ba chu kỳ đông-rã của mẫu LQC lần lượt là 2,5%, 2,4% và 4,6% và của mẫu HQC lần lượt là 0,9%, 0,9% và 1,9%. Hệ số biến thiên trong các điều kiện này đều < 15%, đáp ứng tiêu chuẩn chấp nhận.

Đối với độ ổn định lâu dài, CV của các mẫu LQC và HQC sau khi bảo

quản ở -70°C trong hai tháng lần lượt là 2,4% và 1,9%. Những kết quả này cho thấy tacrolimus ổn định trong máu toàn phần trong các điều kiện bảo quản khác nhau.

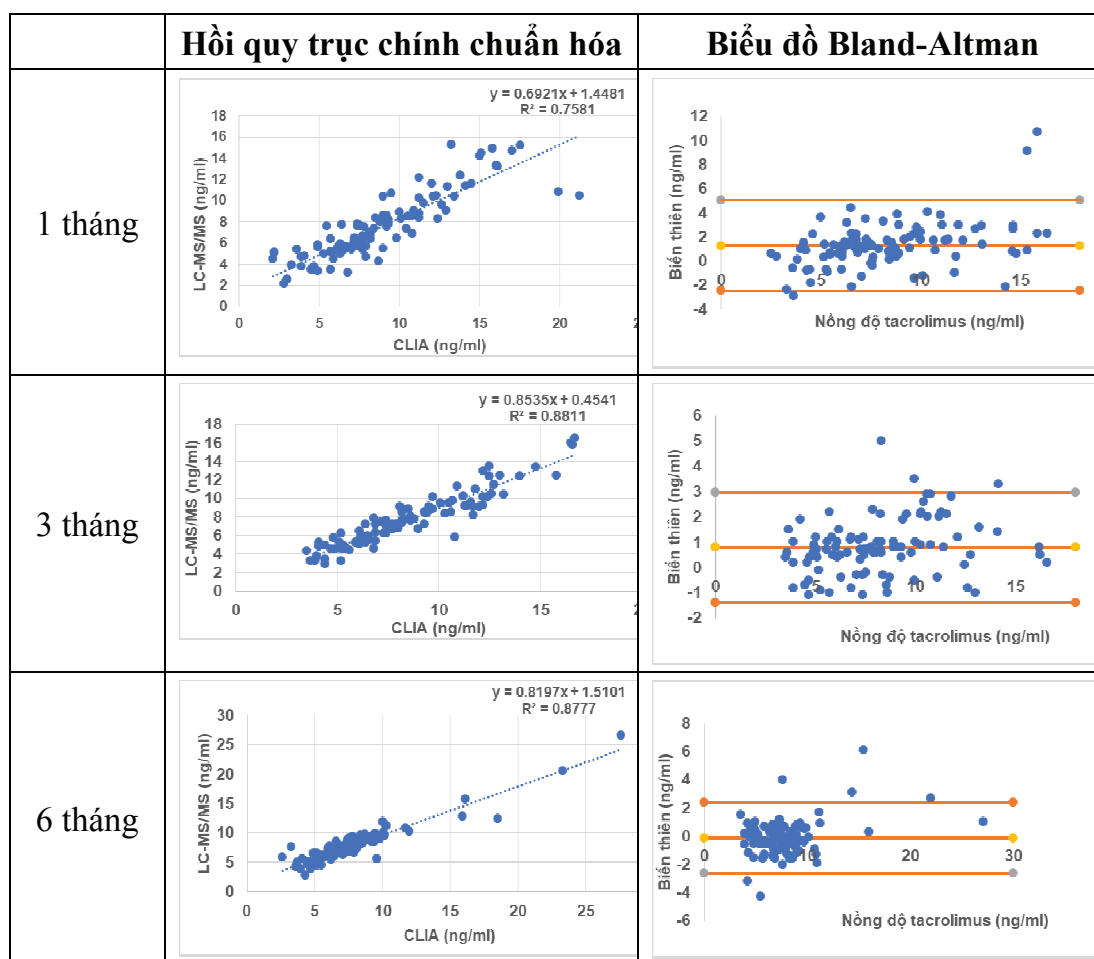
8. Kết quả định lượng và so sánh nồng độ tacrolimus trong máu BN ghép thận

Mối tương quan giữa nồng độ tacrolimus thu được từ phương pháp

CLIA và LC-MS/MS được đánh giá bằng phân tích hồi quy trực chuẩn hóa. Sự khác biệt nồng độ giữa hai phương pháp được so sánh bằng biểu đồ Bland-Altman.

Kết quả hình 3 cho thấy mối tương quan giữa nồng độ tacrolimus thu được từ phương pháp CLIA và LC-MS/MS tại các thời điểm 1, 3 và 6 tháng lần lượt là $R^2 = 0,7581$, $y = 0,6921x + 1,4481$

$1,4481$; $R^2 = 0,8811$, $y = 0,8525x + 0,4541$ và $R^2 = 0,8777$, $y = 0,8197x + 1,5101$. Biểu đồ Bland-Altman cho thấy mức độ biến thiên nồng độ giữa hai phương pháp ở thời điểm 1, 3 và 6 tháng lần lượt là $1,29 \text{ ng/mL}$ ($\pm 1,96$; SD: $-2,46 - 5,04 \text{ ng/mL}$), $0,79 \text{ ng/mL}$ ($\pm 1,96$; SD: $-1,38 - 2,97 \text{ ng/mL}$) và $-0,11 \text{ ng/mL}$ ($\pm 1,96$; SD: $-2,63 - 2,40 \text{ ng/mL}$).



Hình 3: Đánh giá mối tương quan và sự khác biệt nồng độ tacrolimus giữa phương pháp LC-MS/MS và CLIA.

BÀN LUẬN

Theo dõi được nồng độ của tacrolimus là cần thiết để giảm thiểu tác dụng độc hại liên quan đến liều lượng và để ngăn ngừa thải ghép sau khi cấy ghép cơ quan, đặc biệt đối với liệu pháp đa thuốc bao gồm tacrolimus liều thấp. Trong nghiên cứu này sự kết hợp giữa phân tách bằng sắc ký lỏng và các lần lọc khối liên tiếp bằng cách theo dõi sự chuyển đổi của ion đã khử hóa thành ion sản phẩm đã cung cấp độ đặc hiệu cao cho tacrolimus và chất chuẩn nội.

Kỹ thuật MRM được chọn để phát triển phương pháp, các thông số trạng thái MRM được tối ưu hóa để tối đa hóa tín hiệu cho chất phân tích. Cách tiếp cận được áp dụng để phát triển phương pháp này dựa trên khảo sát tài liệu được thực hiện trên tacrolimus [5]. Cường độ tín hiệu bị ảnh hưởng bởi sự hiện diện của ion trong nồng độ pha động và các sản phẩm phụ được hình thành. Các pha động khác nhau được đánh giá để cải thiện sự phân tách HPLC và nâng cao độ nhạy trong MS. Kết quả khảo sát dung môi pha động cho thấy 60% acetonitril và 40% 5 mM dung dịch đệm amoni acetat là tối ưu cho chất phân tích liên quan đến hình dạng pic và đáp ứng phổ khối. Trong điều kiện này, thời gian lưu của cả chất

phân tích và IS lần lượt là khoảng 4,13 và 4,12 phút. Pha động được sử dụng đảm bảo độ lặp lại tốt của thời gian lưu. Tổng thời gian chạy cho mỗi mẫu là 5 phút.

Việc sử dụng chất chuẩn nội là bắt buộc trong định lượng bằng LC-MS/MS vì hai lý do: Để bù đắp cho những thất thoát trong quá trình chiết xuất và bù cho độ nhạy thay đổi khi phân tích. Khi chạy càng nhiều mẫu trên MS, nguồn MS càng dễ bị nhiễm bẩn và độ nhạy càng giảm. Trong nghiên cứu, roxithromycin được chọn làm chuẩn nội cho tacrolimus vì có nhiều tương đồng về cấu trúc hóa học, khả năng hòa tan trong pha động, các đặc tính sắc ký và chiết xuất của nó, tương tự như tacrolimus. Roxithromycin được kỳ vọng sẽ có tỷ lệ thu hồi tương tự khi chiết lỏng-lỏng và phản ứng MS/MS ở chế độ ion dương.

Các chỉ tiêu của phương pháp đều đáp ứng các tiêu chuẩn theo hướng dẫn của FDA. Phương pháp định lượng tacrolimus bằng LC-MS/MS sẽ hạn chế được các vấn đề về độ đặc hiệu kém bằng cách tách tacrolimus khỏi các chất chuyển hóa riêng lẻ. Một ưu điểm khác của phương pháp phân tích này là độ nhạy được cải thiện với độ chính xác cao, có tiềm năng trở thành

một quy trình phân tích tin cậy trong phân tích sinh học thông lượng cao, rất quan trọng để đáp ứng khuyến nghị của Hội nghị Đồng thuận châu Âu [6] về tối ưu hóa trong điều trị tacrolimus.

Một số phương pháp phân tích đã được phát triển và ứng dụng để định lượng tacrolimus trong máu toàn phần bao gồm xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang [7]. Xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang sử dụng các kháng thể đơn dòng chống lại tacrolimus. Tuy nhiên, tacrolimus được chuyển hóa bởi các enzyme CYP3A làm phát sinh các chất chuyển hóa có cấu trúc tương tự như thuốc mẹ và có thể phản ứng chéo với kháng thể xét nghiệm [8]. Trong khi các phương pháp xét nghiệm miễn dịch được FDA chấp thuận để định lượng tacrolimus, thì các phương pháp định lượng bằng LC-MS/MS lại được phát triển và ứng dụng trong phòng thí nghiệm. Trong nghiên cứu này lần đầu tiên chúng tôi đã ứng dụng trên lâm sàng phương pháp LC-MS/MS để định lượng nồng độ tacrolimus trong máu BN ghép thận và so sánh với phương pháp miễn dịch hóa phát quang. Kết quả về mối tương quan và sự khác biệt nồng độ tacrolimus giữa hai phương pháp cho thấy phương pháp định lượng LC-MS/MS có độ tin cậy để ứng dụng trong theo dõi nồng độ tacrolimus trên lâm sàng.

KẾT LUẬN

Trong nghiên cứu này chúng tôi đã xây dựng và thẩm định thành công phương pháp định lượng tacrolimus trong máu toàn phần người bằng LC-MS/MS. Phương pháp có độ chọn lọc, độ đặc hiệu, độ đúng và chính xác cũng như đường chuẩn và tỷ lệ thu hồi đáp ứng các tiêu chuẩn của FDA. Phương pháp đã được ứng dụng trong theo dõi điều trị tacrolimus trên một số BN ghép tạng, đồng thời đối chiếu so sánh với phương pháp miễn dịch hóa phát quang.

Lời cảm ơn: Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 04//2020/TN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kino T., Hatanaka H., Hasimoto M., et al. (1987). FK-506, novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. I. Fermentation, isolation and physico-chemical and biological characteristics. *The Journal of Antibiotics*; 40: 1249-1255.
2. Jusko W.J., Thomson A.W., Fung J., et al. (1995). Consensus document: Therapeutic monitoring of tacrolimus (FK-506). *Therapeutic Drug Monitoring*; 17: 606-614.

3. Beysens A.J., Wijnen R.M., Beuman G.H., et al. (1991). FK 506: Monitoring in plasma or in whole blood? *Transplant Proc*; 23:2745-2747.
4. Taylor P.J., Franklin M.E., Tai C.H., et al. (2012). Therapeutic drug monitoring of tacrolimus by liquid chromatography-tandem mass spectrometry: Is it truly a routine test? *Journal of Chromatography B*; 883-884: 108-112.
5. Matsunami H., Tada A., Makuuchi M., et al. (1994). New technique for measuring tacrolimus concentrations in blood. *Am J Hosp Pharm*; 51: 123.
6. Felipe C.R., Garcia C., Moreira S., et al (2001). Choosing the right dose of new immunosuppressive drugs for new populations: importance of pharmacokinetic studies. *Transplant Proc*; 33: 1095-1096.

CẬP NHẬT CÁC PHƯƠNG PHÁP CHẨN ĐOÁN SỚM UNG THƯ PHỔI

Đào Ngọc Bằng¹, Tạ Bá Thắng¹

Tóm tắt

Ung thư phổi (UTP) là một trong các loại ung thư thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong các bệnh ung thư trên thế giới. Chẩn đoán sớm có vai trò rất quan trọng trong quyết định phương pháp điều trị và tiên lượng cho bệnh nhân (BN) UTP. Nhiều phương pháp đã được áp dụng trong chẩn đoán sớm UTP, trong đó chụp cắt lớp vi tính (CLVT) ngực liều thấp, nội soi phế quản và các phương pháp sinh học phân tử đã chứng minh hiệu quả rõ rệt. Mỗi phương pháp chẩn đoán có vai trò riêng. Trong khi nội soi phế quản sinh thiết được ứng dụng chẩn đoán những tổn thương niêm mạc tại phế quản trung tâm, chụp CLVT ngực liều thấp có thể áp dụng để sàng lọc các khối u ở phế quản ngoại vi, vị trí nội soi phế quản không quan sát được. Ngoài ra, phương pháp sinh thiết lỏng sử dụng các dấu ấn sinh học là một phương pháp tiềm năng. Sự kết hợp các phương pháp chẩn đoán sẽ giúp cho bác sĩ lâm sàng chẩn đoán sớm UTP, chỉ định phương pháp điều trị hợp lý và tiên lượng chính xác cho BN, góp phần nâng cao hiệu quả điều trị UTP trong thực hành lâm sàng.

* *Từ khoá: Ung thư phổi; Chụp cắt lớp vi tính liều thấp; Nội soi phế quản chẩn đoán; Sinh thiết lỏng.*

UPDATE OF METHODS FOR EARLY DIAGNOSIS OF LUNG CANCER

Summary

Lung cancer is one of the most common cancers and the leading cause of cancer death worldwide. Early diagnosis plays a very important role in deciding treatment therapy and prognosis for patients with lung cancer. Many methods have been applied in the early diagnosis of lung cancer, in which thoracic low-dose computed tomography (LDCT), bronchoscopy, and molecular biology methods have proven remarkable effects. Each diagnostic technique has its own role.

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Người phản hồi: Đào Ngọc Bằng (bsdaongochang@gmail.com)

Ngày nhận bài: 06/12/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 29/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.238>

While bronchoscopy with biopsy is used to diagnose central bronchial lesions, LDCT can be applied to screen for tumors in the peripheral bronchi, which could not be observed by bronchoscopy. In addition, liquid biopsy using molecular biomarkers is a potential measure. The combination of diagnostic measures will help clinicians to diagnose lung cancer early, assign reasonable treatment methods and make accurate prognoses for patients, contributing to improving the effectiveness of lung cancer treatment in clinical practice.

* *Keywords: Lung cancer; Low-dose computed tomography; Diagnostic bronchoscopy; Liquid biopsy.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

UTP là một trong các loại ung thư thường gặp nhất và là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu trong các bệnh ung thư trên thế giới. Năm 2020, theo Tổ chức Y tế Thế giới có 2.206.771 ca UTP mới mắc và số ca chết do UTP là 1.796.144, trong đó nam giới chiếm 14,3%, nữ giới 8% số ca tử vong do ung thư [1]. Tại Việt Nam, UTP chiếm khoảng 14,4% các loại ung thư được chẩn đoán, trong đó nam giới chiếm 18,9% (đứng thứ hai sau ung thư gan) và nữ giới chiếm 9,1% (đứng thứ hai sau ung thư vú). UTP cũng là nguyên nhân tử vong đứng thứ hai do bệnh ung thư [2]. UTP chia làm 2 nhóm, bao gồm: Ung thư tế bào nhỏ và không tế bào nhỏ. Cùng với sự phát triển của y học, các phương pháp điều trị ung thư ngày càng có hiệu quả, đặc biệt đối với ung thư không tế bào nhỏ. Từ năm 2015 - 2016, tỷ lệ thời gian sống thêm trong 2 năm của ung thư không tế bào nhỏ là 42% so với 34% từ năm

2009 - 2010. Tuy nhiên, kết quả điều trị phụ thuộc nhiều vào đặc điểm mô bệnh học và giai đoạn khối u. Các BN UTP khi phát hiện bệnh thường ở giai đoạn muộn, với tỷ lệ 70 - 80% UTP không tế bào nhỏ ở giai đoạn III - IV [3]. Thời gian sống thêm 5 năm giảm dần theo giai đoạn bệnh, với giai đoạn tổn thương UTP khu trú là 55% so với 4% ở giai đoạn UTP đã có di căn [4]. Chính vì vậy, việc chẩn đoán sớm UTP có vai trò rất quan trọng trong quyết định phương pháp điều trị và tiên lượng cho BN UTP. Nhiều phương pháp đã được áp dụng trong chẩn đoán sớm UTP, trong đó chụp CLVT ngực liều thấp, nội soi phế quản và các phương pháp sinh học phân tử đã chứng minh hiệu quả rõ rệt. Các phương pháp này sẽ được làm rõ trong bài tổng quan này.

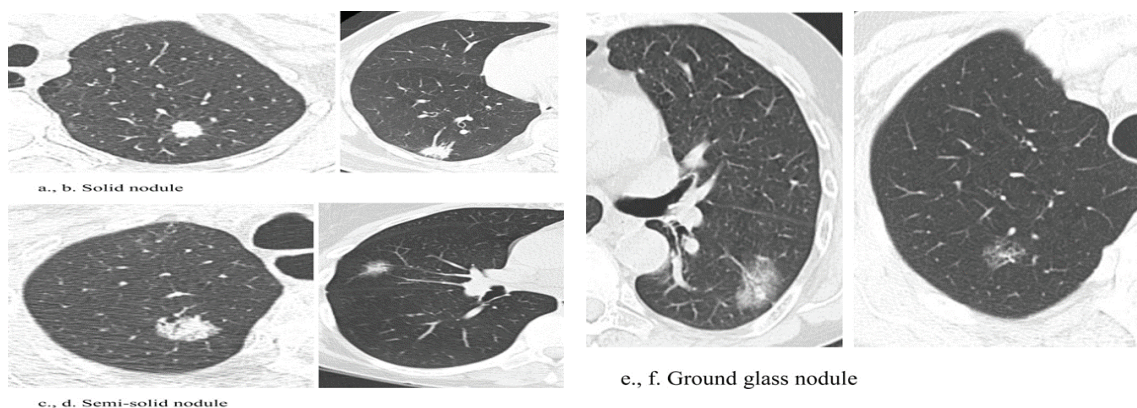
CHỤP CẮT LỚP VI TÍNH LIỀU THẤP

Trước đây, sàng lọc UTP thường sử dụng phương pháp chụp X-quang ngực

quy ước, được áp dụng cho những BN có nguy cơ cao như: Hút thuốc lá trên 30 bao/năm... Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy hiệu quả rõ rệt của chụp CLVT liều thấp (Low-dose computed tomography-LDCT) so với chụp X-quang quy ước trong chẩn đoán sớm UTP.

Chụp CLVT liều thấp cho phép xác định các nốt phổi bằng cách sử dụng liều bức xạ thấp nhất có thể. Điều này có thể thực hiện được thông qua việc sử dụng dòng điện và điện áp thấp hơn. Thử nghiệm tầm soát phổi Quốc gia (National Lung Screening Trial-NLST)

đã thực hiện giảm liều bức xạ thông qua giảm dòng điện, với điện áp đỉnh là 120 kVp (140 kVp cho những BN béo), cường độ dòng điện từ 40 mA hoặc thấp hơn. Tùy thuộc vào máy chụp CLVT, liều hiệu quả trung bình là 1,4 milliSievert (mSv). Quá trình chụp CLVT được thực hiện trong thì hít vào mà không sử dụng chất cản quang tĩnh mạch. Hình ảnh chụp CLVT liều thấp trong chẩn đoán sớm UTP bao gồm: Nốt mờ đặc, nốt mờ bán đặc và hình ảnh nốt kính mờ (*Hình 1*), trong đó nốt mờ là hình ảnh hay gặp nhất [5, 6].



Hình 1: Nốt mờ đặc (a, b), bán đặc (c, d) và nốt kính mờ (e, f)

Nguồn: Chiles C. (2014) [6].

Thử nghiệm tầm soát phổi Quốc gia tại Mỹ, được thực hiện từ năm 2002 - 2009, là một nghiên cứu ngẫu nhiên, đa trung tâm được thiết kế để sàng lọc bằng CLVT liều thấp có thể giảm tỷ lệ tử vong do UTP so với sàng lọc bằng X-quang phổi quy ước ở nhóm dân số có nguy cơ cao. Những người tham gia được chụp CLVT liều thấp hoặc chụp X-quang phổi một lần hàng năm trong ba năm. Kết quả cho thấy việc tầm soát bằng CLVT liều thấp có hiệu quả hơn chụp X-quang phổi quy ước trong chẩn đoán sớm UTP, với tỷ lệ 292/26306 (1,11%) so với

190/26035 (0,73%), trong đó tỷ lệ chẩn đoán sớm BN UTP không tế bào nhỏ giai đoạn IA chiếm 48,9% [7].

Phân tích đặc điểm của nốt mờ trên hình ảnh chụp CLVT liều thấp, bác sĩ lâm sàng có thể định hướng khả năng lành hay ác tính của nốt mờ, từ đó đưa ra các phương pháp xử trí hợp lý [8, 9].

Bảng 1: Đặc điểm nốt mờ định hướng lành tính hay ác tính.

Đặc điểm	Khả năng nốt lành tính	Khả năng nốt ác tính
Bờ	Đều	Không đều, có tua gai
Vôi hoá	Đồng tâm, trung tâm hoặc giống bóng ngô	Thường không có vôi hoá hoặc vôi hoá lệch tâm
Tỷ trọng	Đồng nhất	Không đồng nhất
Thời gian tăng gấp đôi thể tích	Ít hơn 1 tháng hoặc trên 1 năm	1 tháng đến 1 năm
Kích thước	< 5 mm	> 10 mm

Nguồn: Cruickshank A. và CS (2019) [8].

Bảng 2: Xử trí nốt mờ tròn theo hướng dẫn tổ chức Fleischner 2017.

Kích thước (Thể tích) của nốt mờ	Nguy cơ UTP	
	Nguy cơ thấp (< 5%)	Nguy cơ cao ($\geq$ 5%)
< 6 mm (< 100 mm ³)	Không theo dõi	Có thể theo dõi CT*
6 - 8 mm (100 - 250 mm ³)	Theo dõi CT*	
> 8 mm (> 250 mm ³)	Theo dõi CT* có thể cùng PET/CT, sinh thiết và/hoặc cắt thùy phổi	

* (Thời gian và thời hạn của theo dõi CT phụ thuộc vào kích thước và sự xuất hiện nốt mờ), CT (computed tomography), PET (positron emission tomography).

Nguồn: MacMahon H. và CS (2017) [9].

Tháng 1/2013, Hiệp hội Ung thư Mỹ đã ban hành các hướng dẫn sau đây về tầm soát UTP, cụ thể: “Các bác sĩ lâm sàng tiếp cận với các trung tâm tầm soát và điều trị UTP chất lượng cao, quy mô lớn nên bắt đầu tầm soát với những BN khỏe mạnh từ 55 - 74 tuổi, có tiền sử hút thuốc ít nhất 30 bao/năm và hiện đang hút thuốc hoặc đã dừng hút trong vòng 15 năm qua. Bác sĩ lâm sàng cần thông báo và chia sẻ thông tin liên quan đến những lợi ích, hạn chế và tác hại tiềm ẩn liên quan đến việc tầm soát UTP bằng chụp CLVT liều thấp trước khi đưa ra bất kỳ quyết định bắt đầu tầm soát UTP” [10]. Tuy nhiên, chụp CLVT liều thấp cũng có một số nhược điểm, bao gồm tăng tiếp xúc bức xạ, giá thành cao, chẩn đoán quá mức, tăng căng thẳng cho những người có kết quả dương tính giả, đồng thời có thể âm tính giả ở những BN có tổn thương sớm ở niêm mạc phế quản trung tâm [6]. Vì vậy, sự kết hợp chụp CLVT liều thấp với nội soi phế quản tăng hiệu quả phát hiện sớm UTP ở những BN có nguy cơ UTP cao.

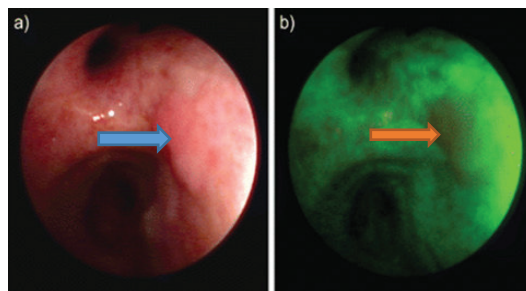
NỘI SOI PHẾ QUẢN

Nội soi phế quản ống mềm là kỹ thuật được ứng dụng rộng rãi trong chẩn đoán UTP, được chỉ định cho tất cả BN nghi ngờ bị UTP, với độ nhạy cao đối với tổn thương đường thở trung tâm, nhưng có độ nhạy thấp với

các tổn thương ngoại vi, đặc biệt các tổn thương có đường kính < 2 cm. Hơn nữa, nó cho phép lập kế hoạch phẫu thuật chính xác thông qua việc đánh giá bề mặt, vị trí và mức độ xâm lấn của khối u, nhu động dây thanh âm và lòng đường thở [11]. Tuy nhiên, các tổn thương sớm của niêm mạc phế quản rất khó phát hiện chỉ dưới nội soi phế quản sử dụng ánh sáng trắng thông thường. Vì vậy, nhiều nhiều phương pháp nội soi đã được phát triển và ứng dụng chẩn đoán sớm UTP, trong đó các phương pháp sử dụng ánh sáng huỳnh quang, dải sáng hẹp, nội soi siêu âm và nội soi phế quản có độ phóng đại cao đã được chứng minh giúp tăng tỷ lệ chẩn đoán và sinh thiết chính xác vào vị trí tổn thương.

1. Nội soi phế quản huỳnh quang

Nội soi phế quản huỳnh quang (AFB - Autofluorescence bronchoscopy) là phương pháp nội soi phế quản sử dụng ánh sáng huỳnh quang để xác định mô phế quản bình thường, loạn sản và ung thư tại chỗ. Mô bình thường chứa các fluorophores nội sinh, bao gồm tryptophan, collagen, elastin và porphyrin, hấp thụ và phát ra huỳnh quang màu xanh lục khi được chiếu sáng bằng ánh sáng tím hoặc xanh lam. Tại các vị trí bất thường, với nồng độ chất huỳnh quang khác nhau, có thể phát ra ánh sáng đỏ, tím hoặc đỏ tươi (Hình 2) [12].



Hình 2: Tổng quan niêm mạc phế quản dưới ánh sáng huỳnh quang.

Nguồn: Andolfi A. et al. (2016) [11].

Nhiều nghiên cứu thực hiện nội soi phế quản sử dụng ánh sáng huỳnh quang với nhiều hệ thống huỳnh quang khác nhau, kết hợp với ánh sáng trắng đã làm tăng hiệu quả chẩn đoán sớm các tổn thương tại phế quản trung tâm, với độ nhạy cao hơn hẳn so với nội soi ánh sáng trắng thông thường trong chẩn đoán tiền ung thư. Tuy nhiên, độ đặc hiệu thấp hơn nội soi ánh sáng trắng do nội soi ánh sáng huỳnh quang có thể cho các hình ảnh dương tính giả, thường gặp trong các trường hợp: Viêm, nhiễm trùng hoặc chấn thương, do lưu lượng máu và sự trao đổi chất cao làm tăng khả năng hấp thụ ánh sáng, làm giảm quá trình tự phát huỳnh quang màu xanh lục trong mô (Bảng 3) [12].

Bảng 3: Nội soi phế quản huỳnh quang trong chẩn đoán sớm UTP.

Tác giả	Hệ thống huỳnh quang	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Chiyo M.	LIFE	96,7	36,6
Häußinger L.	D-Light	82,3	58,4
Ueno K.	AFI	94,7	71,1
Chhajed P.N.	LIFE	96	23
Lam B.	SAFE-1000	91,7	26,4
Stringer M.R.	LIFE	84,4	60,7
Hanibuchi M.	SAFE-1000	96,8	56,1
Beamis J.F.	D-Light	61,2	75,3
Ernst A.	D-Light	66	73
Hirsch F.R.	LIFE	73	46
Edell E.	Onco-LIFE	44	75
Cetti E.J.	AFI	93,3	81,8

Nguồn: Zaric B. et al. (2016) [12].

2. Nội soi phế quản dải sáng hẹp

Nội soi phế quản dải sáng hẹp (NBI - Narrow band imaging) là công nghệ nội soi có thể đánh giá chính xác hình ảnh kiến trúc vi mạch nội phế quản khi mô được chiếu xạ bởi hai dải sóng hẹp của ánh sáng: Dải hẹp màu xanh lam (390 - 445 nm), được hấp thụ bởi lớp niêm mạc bề mặt mao mạch và dải hẹp màu xanh lá cây (530 - 550 nm), được hấp thụ bởi hemoglobin trong các mạch máu nằm dưới niêm mạc sâu hơn. Sinh thiết niêm mạc phế quản qua nội soi được thực hiện tại các vị trí thay đổi hình ảnh niêm mạc trên nội

soi dải sáng hẹp. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng nội soi dải sáng hẹp vượt trội hơn so với nội soi phế quản ánh sáng trắng trong việc phát hiện UTP sớm và xâm lấn ở đường thở trung tâm, với độ nhạy và độ đặc hiệu cao. Đồng thời, nó cũng có thể đánh giá sự xâm lấn của khối u và hướng dẫn chiến lược phẫu thuật điều trị trong các tổn thương đường thở trung tâm. Tổng hợp kết quả từ 6 nghiên cứu, Zhu J. và CS đã đưa ra bảng tổng kết đánh giá độ nhạy và độ đặc hiệu của nội soi dải sáng hẹp trong chẩn đoán sớm UTP (Bảng 4) [13].

Bảng 4: Nội soi phế quản dải sáng hẹp chẩn đoán sớm UTP

Các đặc điểm của nghiên cứu	Số lượng nghiên cứu	Số BN (n)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Tiến cứu	5	534	85	81
≥ 50 BN	4	512	85	86
Sử dụng hệ thống EVIS LUCERA	4	499	86	85
Kết quả đầu ra	3	303	86	67
Phân tích từng BN	4	450	78	83
Mù	5	534	85	81
Không nhóm chứng	4	450	78	83

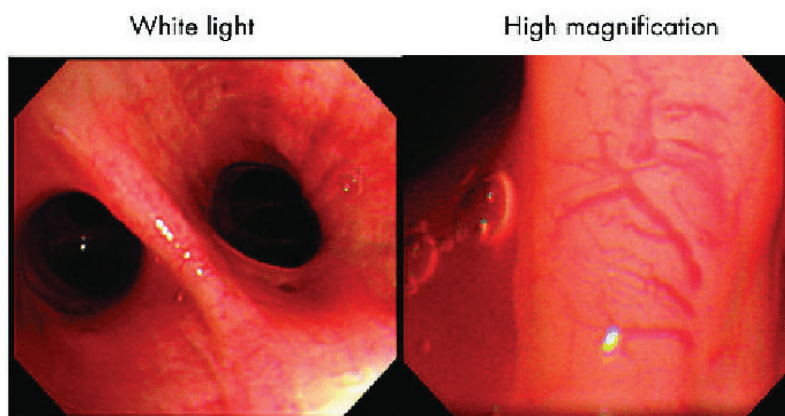
Nguồn: Zhu J. và cộng sự (2017) [13].

3. Nội soi phế quản độ phóng đại cao

Nội soi phế quản độ phóng đại cao (HMB - High magnification bronchovideoscopy) là hệ thống nội soi phế quản ánh sáng trắng có thể quan sát mạng lưới mạch máu của niêm mạc phế quản với khả năng phóng đại từ 55 - 110 lần trên màn hình video 14 inch, nhờ sự kết hợp của hệ thống quan sát video cho chế độ xem phóng đại cao và hệ thống sợi định hướng quan sát ở đầu ống nội soi phế quản. Nó có đường kính ngoài 6 mm và độ sâu quan sát từ 1 - 3 mm [14].

Một nghiên cứu đã chứng minh hiệu quả của nội soi độ phóng đại cao

so với nội soi phế quản huỳnh quang đơn thuần. Tác giả nhận thấy nội soi độ phóng đại cao có thể phát hiện loạn sản chính xác hơn so với nội soi phế quản huỳnh quang đơn thuần, cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 71,4 và 90,9%. Đặc biệt, sự tăng trưởng mạch máu và mạng lưới phức tạp của các mạch quanh co được cho là gợi ý cho chứng loạn sản phế quản, và tỷ lệ diện tích mạch máu ở tổn thương tiền ác tính cao hơn đáng kể so với viêm phế quản [14]. Các nghiên cứu kết hợp giữa nội soi độ phóng đại cao và nội soi dải sáng hẹp cũng chứng minh tăng hiệu quả chẩn đoán UTP sớm [9].



Hình 3: Hình ảnh nội soi ánh sáng trắng và nội soi độ phóng đại cao.

Nguồn: Andolfi A. et al. (2016) [11].

4. Nội soi phế quản siêu âm

Nội soi phế quản siêu âm là phương pháp nội soi phế quản kết hợp siêu âm để chẩn đoán và định hướng sinh thiết

làm xét nghiệm mô bệnh. Có 2 loại đầu dò siêu âm: Đầu dò lõi và đầu dò toả tia. Nội soi phế quản siêu âm có hiệu quả cao trong chẩn đoán giai đoạn UTP, nhờ vào kỹ thuật chọc hút xuyên

thành phế quản chẩn đoán các hạch di căn trong trung thất. Đồng thời, kỹ thuật cũng giúp đánh giá sự thay đổi về cấu trúc của niêm mạc phế quản, định hướng sinh thiết vào vị trí tổn thương [11].

Nhiều nghiên cứu đã được tiến hành nhằm đánh giá vai trò của nội soi phế quản siêu âm trong chẩn đoán sớm UTP. Kết quả các nghiên cứu đã chứng minh độ nhạy và độ đặc hiệu của kỹ thuật cao (Bảng 3) [15].

Bảng 5: Nội soi phế quản siêu âm trong chẩn đoán UTP.

Tác giả, năm	Số BN (n)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)	Độ chính xác (%)
Herth, 2008	124	76	100	77
Szlubowski, 2010	61	67	86	80
Zielinski, 2013	88	64	100	NR
Szlubowski, 2014	106	67	96	81
Nasir, 2014	32	50	100	89
Genestreti, 2015	14	50	60	NR
Çetinkaya, 2017	44	82	100	89
Muthu, 2018	574	67	99	NR
Jiang, 2020	558	65	99	NR

Nguồn: Muriana P. et al. (2016) [15].

PHƯƠNG PHÁP SINH HỌC PHÂN TỬ

Phương pháp sinh học phân tử được thực hiện dựa vào nhóm kỹ thuật sinh thiết lỏng. Sinh thiết chất lỏng là một công nghệ mới nổi với vai trò tiềm năng trong việc tầm soát và phát hiện sớm UTP. Một số dấu ấn sinh học trong máu đã được xác định và hiện

đang được nghiên cứu, trong đó các tế bào khối u trong máu (Circulating tumor cell - CTC), DNA tế bào u tự do (cell-free DNA - cfDNA), các siêu RNA (micro-RNAs), các exosome có nguồn gốc từ khối u và các tiểu cầu trưởng thành từ khối u là những ứng dụng tiềm năng thực hành lâm sàng chẩn đoán UTP.

Các tế bào khối u trong máu và DNA tế bào u tự do là những dấu ấn sinh học nghiên cứu nhiều nhất khi thực hiện sinh thiết lỏng. Các tế bào khối u trong máu do khối u nguyên phát giải phóng có thể được phát hiện trong máu và không chỉ là một phương pháp chẩn đoán hiệu quả, mà còn có thể xác định đặc điểm phân tử của khối u, thông qua thông tin DNA, RNA và protein thu được. Việc phân tích các đoạn gen và tình trạng đột biến giúp cho người bác sĩ lâm sàng lập kế hoạch điều trị và tiên lượng cho các BN UTP. Các tế bào khối u giải phóng các đoạn DNA vào máu hoặc dịch cơ thể, có thể nước tiểu hoặc dịch màng phổi. Các BN ung thư có nồng độ DNA tế bào u

tự do cao hơn so với những người khỏe mạnh. Bên cạnh đó, do thể tích khối u tương quan với sự thay đổi và chết của tế bào, nồng độ DNA của khối u (circulating tumor DNA - ctDNA) trong tuần hoàn tăng theo kích thước khối u. Vì vậy, các phương pháp xét nghiệm chẩn đoán sinh học phân tử từ sinh thiết lỏng có độ nhạy thấp nhưng có độ đặc hiệu cao trong chẩn đoán sớm UTP, đặc biệt khi phân tích các gen và tình trạng đột biến gen trên các tế bào u tự do lưu hành trong máu. Kết quả này đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu, với số lượng BN lớn (Bảng 4). Độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán phụ thuộc đặc điểm nhóm BN nghiên cứu và kỹ thuật thực hiện [16].

Bảng 6: Nồng độ DNA tế bào u tự do huyết tương chẩn đoán UTP.

Tác giả	Kỹ thuật	Số BN (n)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Gautschi (2004)	RT-PCR	185	-	98
Ludovini (2008)	RT-PCR	76	80	61
Szpechcinski (2015)	RT-PCR sử dụng β -actene người	65	90	81
Paci (2009)	RT-PCR sử dụng hTERT	151	86	47
Catarino (2012)	RT-PCR sử dụng hTERT	104	79	83
Herrera (2005)	RT-PCR sử dụng β -actene người	25	48	100

Bảng 7: Phân tích DNA tế bào u tủy do huyết tương chẩn đoán UTP.

Tác giả	Kỹ thuật	Thay đổi di truyền	Số BN (n)	Độ nhạy (%)	Độ đặc hiệu (%)
Zhao (2013)	Làm giàu đột biến PCR và giải trình tự	Đột biến EGFR (exon 19 và 20) và EGFR exon 19 mất đoạn	111	36	96
Jing (2014)	Phân tích HRM	Đột biến EGFR (exon 18, 19, 20 và 21)	120	78	97
Wan (2018)	ARMS-PCR	Đột biến EGFR (xóa exon 19, T790M, L858R)	284	14	92
Wei (2018)	EFIRM	Đột biến EGFR (xóa exon 19 và L858R)	21	77 và 92	95
Cohen (2018)	Miễn dịch NGS và protein	8 protein và 16 gen liên quan đến ung thư	1005	790	99
Newman (2014)	CAPP-Seq	139 gen liên quan đến ung thư	17	85	96
Guo (2016)	NGS	50 gen liên quan đến ung thư	41	69	93
Leung (2020)	COLD	KRAS, EGFR, và TP53	192	75	89

Mặc dù các dấu ấn sinh học có nguồn gốc từ sinh thiết lỏng cho thấy kết quả đầy hứa hẹn trong việc phát hiện sớm UTP, nhưng hiện nay chưa có bằng chứng cho việc sử dụng trong việc sàng lọc hoặc chẩn đoán sớm UTP trong thực hành lâm sàng. Các dấu ấn sinh học này vẫn còn hạn chế bởi tỷ lệ đáng kể âm tính giả và xét nghiệm huyết tương âm tính vẫn cần thiết phải sinh thiết làm xét nghiệm mô bệnh học khẳng định chẩn đoán, đặc biệt trong các trường hợp UTP giai đoạn sớm, số lượng tế bào u lưu hành trong máu thấp, độ nhạy của kỹ thuật không cao.

KẾT LUẬN

Mỗi phương pháp chẩn đoán có vai trò riêng trong chẩn đoán sớm UTP. Nội soi phế quản sinh thiết được ứng dụng chẩn đoán những tổn thương niêm mạc tại phế quản trung tâm, chụp CLVT ngực liều thấp có thể áp dụng để sàng lọc các khối u ở phế quản ngoại vi, vị trí nội soi phế quản không quan sát được. Ngoài ra, phương pháp sinh thiết lỏng sử dụng các đầu ấn sinh học là một phương pháp tiềm năng đã và đang tiếp tục được nghiên cứu. Kết hợp các phương pháp chẩn đoán sẽ giúp cho bác sĩ lâm sàng chẩn đoán sớm UTP, chỉ định phương pháp điều trị hợp lý và tiên lượng chính xác cho BN, góp phần nâng cao hiệu quả điều trị UTP trong thực hành lâm sàng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Sung H., Ferlay J., Siegel R.L. (2021). Global Cancer Statistics 2020: Globocan Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *Ca Cancer J Clin*; 71:209-224.
2. Globocan (2020). Viet Nam - Global Cancer Observatory.
3. Ettinger D.S., Wood D.E., Aisner D.L., et al. (2020). Non-Small Cell Lung Cancer, Version 3.2022, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw*; 20(5): 497-530.
4. American Cancer Society (2017). *Cancer Facts and Figures 2017*; 19-21.
5. Larke F.J., Kruger R.L., Cagnon C.H., et al. (2011). Estimated radiation dose associated with low-dose chest CT of average-size participants in the National Lung Screening Trial. *AJR Am J Roentgenol*; 197(5): 1165-1169.
6. Chiles C. (2014). Lung Cancer Screening with Low Dose CT. *Radiol Clin North Am*; 52(1): 27-46.
7. National Lung Screening Trial Research Team (2011). Reduced lung-cancer mortality with low-dose computed tomographic screening. *N Engl J Med*; 365(5): 395-409.
8. Cruickshank A., Stieler G., Ameer F. (2019). Evaluation of the solitary pulmonary nodule. *Internal Medicine Journal*; 49(3): 283-412.
9. MacMahon H., Naidich D.P., Goo J.M., et al. (2017). Guidelines for Management of incidental nodules detected on CT images: From the Fleischner Society 2017. *Radiology*; 284(1): 228-243.
10. Wender R., Fontham E.T.H., Barrera E. Jr, et al. American Cancer Society lung cancer screening guidelines. *CA Cancer J Clin*; 63(2): 106-117.
11. Andolfi A., Potenza R., Capozzi R., et al. (2016). The role of bronchoscopy in the diagnosis of early lung cancer: A review. *J Thorac Dis*; 8(11): 3329-3337.

12. Zaric B., Perin B., Carapic B., et al. (2012). Diagnostic value of autofluorescence bronchoscopy in lung cancer. *Thoracic Cancer*.
13. Zhu J., Li W., Zhou J., et al. (2017). The diagnostic value of narrow-band imaging for early and invasive lung cancer: a meta-analysis. *Clinics (Sao Paulo)*; 72(7): 438-448.
14. Shibuya K., Hoshino H., Chiyo M., et al. (2002). Subepithelial vascular patterns in bronchial dysplasias using a high magnification bronchovideoscope. *Thorax*; 57: 902-907.
15. Muriana P. and Rossetti F. (2020). The role of EBUS-TBNA in lung cancer restaging and mutation analysis. *Mediastinum*; 4:23.
16. Freitas C., Sousa C., Machado F., et al. (2021). The Role of Liquid Biopsy in Early Diagnosis of Lung Cancer. *Front Oncol*; 11: 634316.

CẬP NHẬT MỘT SỐ VẤN ĐỀ VỀ SINH LÝ BỆNH VÀ CHIẾN LƯỢC XỬ TRÍ ĐA CHẤN THƯƠNG HIỆN NAY

Phạm Mạnh Cường¹, Hồ Hữu Phước¹

Tóm tắt

Đa chấn thương (ĐCT) là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây ra tổn thương và tử vong ở người trẻ tuổi, đặc biệt trong bối cảnh tai nạn giao thông hiện nay chưa có xu hướng giảm. Với những người sống sót, ĐCT để lại di chứng lâu dài ảnh hưởng đáng lo ngại đến chất lượng cuộc sống và lao động. Đây là một mối quan tâm lớn về sức khỏe cộng đồng trên toàn cầu bởi sự thiệt hại về người và chi phí cấp cứu điều trị rất lớn. Gần 80% các ca tử vong do ĐCT xảy ra trong vòng vài giờ đến vài ngày sau khi bị thương, thường do chấn thương sọ não hoặc nội tạng quá nặng và sau đó là do sốc hoặc thiếu oxy. Trong những thập kỷ qua, các chiến lược, mô hình cấp cứu ĐCT ngày càng phát triển bao gồm cả các can thiệp trước khi nhập viện đã mang đến những cải thiện tích cực về kết quả điều trị và tỷ lệ tử vong. Hồi sức và phẫu thuật hay chỉnh hình kiểm soát thiệt hại là nền tảng trong điều trị bệnh nhân (BN) ĐCT. Các rối loạn trong sinh lý bệnh của ĐCT cần được nhận biết sớm để có thể áp dụng các chiến lược xử trí thích hợp. Trong bài báo này, chúng tôi mô tả một số chiến lược xử trí đang phát triển trong việc điều trị ĐCT.

** Từ khóa: ĐCT; Phẫu thuật kiểm soát thiệt hại; Chỉnh hình kiểm soát thiệt hại; Hồi sức kiểm soát thiệt hại.*

UPDATE ON SOME CURRENT KNOWLEDGE OF PATHOPHYSIOLOGY AND STRATEGIES IN THE MANAGEMENT OF POLYTRAUMA

Summary

Polytrauma is one of the leading causes of morbidity and mortality in young people, especially in the condition of traffic accidents that do not tend to decrease.

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Người phản hồi: Phạm Mạnh Cường (famcuong103@gmail.com)

Ngày nhận bài: 10/11/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 30/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.232>

For survivors, polytrauma leaves long-term sequelae with a disturbing impact on quality of life and work. This is still a major public health concern globally because of the loss of people, and the cost of emergency treatment is relatively high. Nearly 80% of polytrauma deaths occur within hours to days of injury, usually from severe traumatic brain or internal organs and then from shock or hypoxia. The development of strategies and models of trauma care for the management of polytrauma, including pre-hospital interventions, have led to improvements in outcomes and mortality over the last few decades. Resuscitation and surgical or orthopedic damage control are key pillars in the management of polytrauma patients. Disorders in the pathophysiology of polytrauma need to be recognized early so that appropriate management strategies can be undertaken. In this paper, we describe several evolving strategies in the management of polytrauma.

* *Keywords: Polytrauma; Surgical damage control; Orthopedic damage control; Resuscitation damage control.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo Patel năm 1971, ĐCT (ĐCT) là những BN có từ hai tổn thương nặng do chấn thương trở lên ở các vùng hoặc hệ thống cơ quan (vùng giải phẫu) khác nhau; trong đó có ít nhất một tổn thương hoặc kết hợp các tổn thương gây ra rối loạn các chức năng sống quan trọng đe dọa tính mạng [1]. Để lượng hóa tiêu chuẩn về ĐCT, năm 2014, một hội nghị đồng thuận quốc tế tổ chức ở Berlin, Đức [2] đề xuất định nghĩa ĐCT bao gồm 2 yếu tố. Một là, có sự hiện diện của hai tổn thương do chấn thương với điểm tổn thương rút gọn AIS ≥ 3 ; Hai là, có một hoặc nhiều điều kiện bổ sung sau:

- Hạ huyết áp (huyết áp tâm thu ≤ 90 mmHg).
- Bất tỉnh (thang điểm hôn mê Glasgow ≤ 8 điểm).
- Nhiễm toan (thâm hụt bazơ $\leq 6,0$).
- Rối loạn đông máu (thời gian thromboplastin ≥ 50 giây hoặc INR $\geq 1,4$).
- Tuổi ≥ 70 tuổi.

Năm 1980, Baker và CS đề xuất mô hình tử vong do ĐCT được chia làm 3 giai đoạn: Giai đoạn thứ nhất tại hiện trường, xảy ra ngay lập tức hoặc vài phút sau tai nạn chiếm khoảng 50% trường hợp tử vong và thường do vỡ xương sọ, chảy máu ồ ạt do vỡ các mạch máu lớn. Giai đoạn thứ hai từ vài

giờ đến vài ngày sau tại nạn chiếm khoảng 30% các trường hợp tử vong mà nguyên nhân chủ yếu là sốc mất máu và thiếu oxy không hồi phục. Giai đoạn này còn gọi là "giờ vàng" trong cấp cứu chấn thương, bởi nếu hệ thống cấp cứu có thể tiếp cận và xử trí kịp thời sẽ làm giảm tỷ lệ tử vong. Giai đoạn thứ ba từ vài ngày đến vài tuần là giai đoạn sau can thiệp thủ thuật, phẫu thuật điều trị chảy máu hoặc chỉnh hình xương gãy, khi đó BN đang trong giai đoạn hồi sức tích cực, chiếm khoảng 20%, nguyên nhân thường gặp do nhiễm khuẩn huyết và suy đa tạng [3].

Do BN ĐCT có nhiều cơ quan bị chấn thương nặng làm xuất hiện những rối loạn sinh lý nghiêm trọng đe dọa tính mạng nên cấp cứu điều trị ĐCT không phải là xử trí các tổn thương riêng lẻ, mà là xử trí tổn thương trong mối liên hệ với rối loạn chung toàn thân. Chiến lược điều trị ĐCT chính là việc xác định thứ tự, thời điểm và phương pháp can thiệp xử trí các tổn thương trong bệnh cảnh nặng nề của ĐCT để đạt được hiệu quả điều trị tổng thể tốt nhất. Các chiến lược điều trị BN ĐCT đã trải qua nhiều thay đổi trong 4 đến 5 thập kỷ qua. Trong những năm 1980, khái niệm Chăm sóc tổng thể

sớm (ETC) đã trở nên phổ biến và là tiêu chuẩn trong chiến lược điều trị BN ĐCT, theo đó các tổn thương được phẫu thuật điều trị thực thụ ngay từ đầu (đặc biệt tổn thương xương chi thể) mà không quan tâm đến độ nặng của BN. Tuy nhiên, ngay sau đó nhiều tác giả thấy rằng ETC không phải luôn đem lại hiệu quả, tỷ lệ biến chứng toàn thân và tại chỗ ở nhóm tổng thể sớm thường cao, vì phương pháp này khi thực hiện ở những BN ĐCT không ổn định có thể làm tăng mức độ nghiêm trọng của phản ứng viêm hệ thống và có thể dẫn đến sự phát triển của hội chứng suy hô hấp cấp tính và suy đa tạng. Do đó, đến những năm 1990 và 2000 khái niệm phẫu thuật kiểm soát tổn thương (SDC) xuất hiện và phát triển. Với khái niệm này, các can thiệp phẫu thuật đòi hỏi thời gian thực hiện ngắn, tối thiểu, mục đích là giải quyết các rối loạn tuần hoàn và hô hấp, tạo điều kiện cho cơ thể phục hồi sinh lý. Sau đó, khi tình trạng BN ổn định sẽ tiến hành phẫu thuật điều trị thực thụ [4, 5]. Trong nghiên cứu của Glass N.E. và CS, việc lựa chọn thời điểm thích hợp để cố định xương gãy đã cải thiện kết quả điều trị lâm sàng của những BN ĐCT nặng có tổn thương tạng trong ổ bụng [6].

Sự thay đổi chiến lược điều trị ĐCT từ ETC sớm đến SDC đến từ những hiểu biết mới về sinh lý bệnh của ĐCT cũng như sự đáp ứng của cơ thể khi phản ứng với chấn thương và với can thiệp phẫu thuật. Như vậy, bên cạnh sự phát triển của hệ thống cấp cứu, việc nắm chắc những thay đổi sinh lý bệnh ĐCT và lựa chọn chiến lược điều trị thích hợp là những thành tố quan trọng để cấp cứu, điều trị ĐCT thành công. Mục đích của bài báo nhằm: Cung cấp những hiểu biết mới về sinh lý bệnh và các chiến lược điều trị ĐCT đang được áp dụng hiện nay.

SINH LÝ BỆNH ĐA CHẤN THƯƠNG

1. Phản ứng ban đầu đối với chấn thương nặng

Phản ứng tại chỗ và toàn thân được bắt đầu ngay sau khi bị chấn thương nặng. Gãy xương, chấn thương mô mềm, tổn thương cơ quan (phổi, gan, ruột, ..), tình trạng thiếu oxy, nhiễm toan và các kích thích đau đớn là các tác nhân kích hoạt những phản ứng này. Đây chính là phản ứng sinh lý nhằm mục đích ngăn chặn xuất huyết và duy trì lưu lượng máu đến các cơ quan quan trọng được đặc trưng bởi sự

giải phóng các adreno-corticosteroid và catecholamine bởi hệ thống thần kinh, nội tiết gây ra tăng nhịp tim và nhịp hô hấp cùng với tăng bạch cầu và sốt. Nếu tình trạng xuất huyết không cải thiện sẽ kích thích các thụ cảm thể ở động mạch chủ và động mạch cảnh làm kích hoạt hệ thống renin-angiotensin để nỗ lực duy trì huyết áp thông qua co mạch ngoại vi dẫn đến thiếu oxy tổ chức và nhiễm toan. Đồng thời, tốc độ trao đổi chất được giảm xuống để giảm thiểu tiêu hao năng lượng dẫn đến tình trạng hạ thân nhiệt.

Các tác nhân trên sau chấn thương nếu không được điều chỉnh sẽ kích hoạt hệ thống miễn dịch gây ra sự phát triển của cả hội chứng đáp ứng viêm hệ thống (SIRS-Systemic inflammatory response syndrome) và hội chứng đáp ứng chống viêm bù trừ (CARS-Compensatory anti-inflammatory response syndrome). Trong điều kiện lý tưởng, sự cân bằng tốt giữa hai phản ứng miễn dịch viêm - chống viêm được duy trì kéo theo cân bằng nội môi của cơ thể được đảm bảo và sự hồi phục tổn thương diễn ra ổn định. Nhưng nếu các thông số sinh lý không nhanh chóng khôi phục có thể dẫn đến rối loạn điều hòa hệ thống miễn dịch, mở

đường cho SIRS phát triển quá mức, giải phóng các enzyme độc hại gây tổn thương cơ quan ở xa như: Huyết khối tắc mạch, hội chứng suy hô hấp cấp tiến triển (ARDS) hoặc hội chứng rối loạn chức năng đa cơ quan (MODS) và dẫn đến tử vong. Trong khi đó, nếu CARS phát triển mất bù có thể góp phần tê liệt miễn dịch và dẫn đến nhiễm trùng huyết sớm [7].

2. Phản ứng với "cú đánh thứ hai" (Second Hit).

Phản ứng đầu tiên đối với chấn thương liên quan đến việc điều chỉnh một số quá trình miễn dịch-sinh lý để duy trì cân bằng nội môi và cung cấp oxy cho các cơ quan sống còn, có thể gọi là "cú đánh thứ nhất" đối với cơ thể người bệnh. Việc giải phóng các chất trung gian và cảm ứng của SIRS phụ thuộc chủ yếu vào mức độ nghiêm trọng của chấn thương đầu tiên. Bất kỳ sự tác động tiếp theo trong quá trình can thiệp phẫu thuật điều trị hoặc thủ thuật chẩn đoán, hay sự xuất hiện các biến chứng sau chấn thương hoặc hậu phẫu... được gọi là "cú đánh thứ hai" vào cân bằng nội môi của cơ thể. Và "lần thứ hai" này sẽ làm tăng nguy cơ chảy máu và tăng khả năng phóng đại

SIRS vốn đã phát triển. Trong một số trường hợp, điều này trở nên không kiểm soát được và dẫn đến sự phát triển của ARDS và MODS.

3. Bộ ba tử vong (Lethal Triad of Death)

- Rối loạn đông máu cùng với sự xuất hiện của nhiễm toan và hạ thân nhiệt là ba rối loạn sinh lý theo sau quá trình sốc xuất huyết do chấn thương nặng. Chúng liên quan mật thiết với nhau, tạo thành vòng xoắn bệnh lý "luẩn quẩn" và được gọi là "bộ ba tử vong" vì làm tăng tỷ lệ tử vong trong ĐCT. Nhận biết sớm và điều trị các rối loạn này trong chấn thương là điều cần thiết để đạt được thành công của công tác hồi sức.

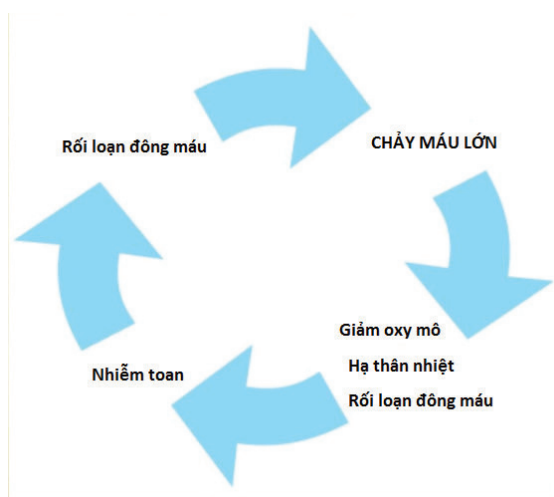
- Rối loạn đông máu cấp tính sau chấn thương (non-dilutional acute traumatic coagulopathy - ATC) là rối loạn đông máu gặp từ 25 - 35% BN ĐCT, thường phát triển sớm, trước khi các yếu tố đông máu bị pha loãng. Đó là do sự kết hợp của các yếu tố bao gồm:

- + Sốc giảm thể tích do chảy máu.
- + Tổn thương nội mô mạch máu.
- + Tạo phức hợp thrombin-thrombomodulin trong các mô bị thương.

+ Giảm protein C hoạt hóa. Protein C hoạt hóa là một protease serine làm cạn kiệt các chất hoạt hóa plasminogen, ức chế các yếu tố đông máu V và VIII, do đó ngăn ngừa đông máu và tăng cường quá trình tiêu sợi huyết.

- Kích hoạt các con đường chống đông máu và tiêu sợi huyết khác.

- Ngoài ra rối loạn đông máu ở BN ĐCT còn có thể là hậu quả của tình trạng hạ thân nhiệt (do hạ thân nhiệt làm giảm sản xuất thromboxan dẫn đến cản trở sự kết dính tiểu cầu và rối loạn điều hòa các yếu tố đông máu) và nhiễm toan (khi độ pH giảm; ví dụ, pH giảm từ 7,4 xuống 7,0 làm giảm hoạt tính của yếu tố VIIa) [8].



Hình 1: Ba rối loạn gây tử vong ở BN ĐCT [7].

PHÂN LOẠI BỆNH NHÂN ĐA CHẤN THƯƠNG

BN ĐCT sau khi được tiến hành hồi sức cấp cứu, dựa vào các thông số đánh giá tiêu chí về tình trạng sốc (gồm các chỉ số: Mạch, huyết áp, phân loại mức độ xuất huyết, mức độ lactase, thâm hụt kiềm, số lượng nước tiểu...), rối loạn đông máu (gồm các chỉ số: Số lượng tiểu cầu, yếu tố đông máu II và V, định lượng Fibrinogen và D-Dimer), thân nhiệt (đo nhiệt độ lõi), mức độ tổn thương mô (Điểm số chấn thương ngực, chấn thương bụng, chấn thương khung chậu...), người ta phân loại thành 4 nhóm để tạo cơ sở cho lựa chọn chiến lược điều trị [9].

- + Nhóm I: Ổn định (Stable), không có triệu chứng đe dọa tính mạng, huyết động ổn định.

- + Nhóm II: Ranh giới (Borderline), có đáp ứng ban đầu với hồi sức nhưng có thể xấu đi.

- + Nhóm III: Không ổn định (Unstable), huyết động vẫn không ổn định mặc dù đã được hồi sức ban đầu.

- + Nhóm IV: Khó hồi phục (In Extremis), cận kề cái chết, mất máu không thể kiểm soát.

CÁC CHIẾN LƯỢC ĐIỀU TRỊ ĐA CHẤN THƯƠNG

1. Chăm sóc tổng thể sớm (Early Total Care - ETC)

Trước đây, điều trị ĐCT thường diễn ra trong một thời gian dài vì BN ĐCT được coi là quá yếu để phẫu thuật lớn. Tuy nhiên, ở những trường hợp này, đặc biệt là những BN bị chấn thương nặng, có nguy cơ bị nhiều biến chứng bao gồm nhiễm trùng, viêm phổi, nhiễm khuẩn huyết, rối loạn chức năng đa tạng do không được phẫu thuật kết xương sớm phải nằm điều trị kéo dài, ít vận động. Điều này dẫn đến sự ra đời của phương pháp ETC, được sử dụng rộng rãi vào những năm 80, liên quan đến việc ổn định phẫu thuật sớm (trong vòng 24 - 48 giờ) đối với các trường hợp gãy xương đùi và xương chậu. Sự phát triển của ETC là nhờ sự cải tiến ngày càng nhiều của các kỹ thuật kết xương và hồi sức sau chấn thương, liên quan đến việc theo dõi tim mạch tốt hơn và khả năng thực hiện thông khí nhân tạo kéo dài [10].

* *Mục đích:* Chăm sóc tích cực kết hợp tiến hành phẫu thuật chỉnh hình thực thụ càng sớm càng tốt để hỗ trợ chăm sóc điều dưỡng, giảm các biến chứng.

* *Chỉ định:* ETC thường được áp dụng trên BN ĐCT được phân loại ở nhóm I - nhóm ổn định.

* *Ưu điểm:* Giảm biến chứng phổi và thuyên tắc mỡ, giảm thời gian nằm chăm sóc hồi sức tích cực (ICU) và giảm thời gian nằm viện, vận động sớm, sự phục hồi cải thiện tốt hơn.

Nhược điểm: Có thể gây bất lợi cho những BN ĐCT nặng, nhất là các chấn thương ở ngực hoặc đầu do hậu quả cơ chế "cú đánh thứ hai" [11].

2. Kiểm soát thiệt hại

Nhược điểm của phương pháp ETC cũng như thất bại trong việc điều trị phẫu thuật một lần ở BN ĐCT có mất máu lớn (đặc biệt tổn thương trong ổ bụng) là cơ sở để đề ra khái niệm Kiểm soát thiệt hại (Damage Control) trong điều trị ĐCT.

* *Phẫu thuật kiểm soát thiệt hại (Damage Control Surgery - DCS):*

Phẫu thuật kiểm soát thiệt hại (DCS) là can thiệp phẫu thuật để giữ cho BN sống (ổn định về sinh lý) hơn là chỉnh sửa về giải phẫu. Nó giúp giải quyết "bộ ba tử vong" đối với những BN ĐCT nặng, cũng như tình trạng xuất huyết nghiêm trọng ảnh hưởng đến cân bằng nội môi. Phẫu thuật kiểm

soát thiệt hại là thuật ngữ do Rotondo M.F. đề xuất năm 1993, ban đầu được thiết kế để xử trí ĐCT cần can thiệp phẫu thuật vùng bụng, nhưng về sau các tiêu chí kiểm soát tổn thương cũng áp dụng cho các vùng khác cơ thể như: phẫu thuật chấn thương lồng ngực, mạch máu, phẫu thuật thần kinh và chỉnh hình [1, 12].

* *Mục đích*: Nhanh chóng cầm máu, hạn chế ô nhiễm, giảm thiểu rối loạn sinh lý.

* *Nội dung*: bao gồm các giai đoạn sau:

- Giai đoạn 0: Thực hiện trước khi nhập viện và lúc đánh giá ban đầu.

- Giai đoạn 1: Phẫu thuật ngắn gọn thời gian phẫu thuật dưới 90 phút (mục tiêu là kiểm soát chảy máu và ô nhiễm).

- Giai đoạn 2: Hồi sức sau phẫu thuật (tại Khoa Hồi sức Tích cực - ICU).

- Giai đoạn 3: Phẫu thuật giải quyết triệt để tổn thương

- Giai đoạn 4: Đóng vết thương hoặc thành bụng

* *Chỉ định*: Được áp dụng cho các BN ĐCT thuộc nhóm 3 và nhóm 4 (nhóm có rối loạn sinh lý không ổn

định). Một số tác giả đề xuất tiêu chuẩn cụ thể sau [13]:

- Các yếu tố sinh lý quan trọng:

+ Hạ thân nhiệt - nhiệt độ < 34°C

+ Nhiễm toan - pH < 7,2 hoặc thiếu hụt bazơ > 8; lactate > 5 mmol/L.

+ Rối loạn đông máu - tăng prothrombin (PT) và/hoặc thời gian thromboplastin (aPTT) > 1,5 lần.

+ Giảm tiểu cầu, giảm fibrinogine máu hoặc cần truyền máu lớn (> 10 đơn vị hồng cầu khối) hoặc tổng lượng khối hồng cầu, chế phẩm máu, dịch tinh thể (> 12 L).

+ Không ổn định huyết động hoặc giảm tưới máu nhiều.

- Đặc điểm liên quan đến thương tích (khó kiểm soát hết tổn thương)

+ Cơ chế chấn thương năng lượng cao

+ Nhiều vết thương xuyên thấu cơ thể

+ Tổn thương nội tạng kết hợp với chấn thương mạch máu lớn

+ Các chấn thương trên khắp các khoang cơ thể, đặc biệt là những chấn thương cần phải ưu tiên điều trị, chẳng hạn như chấn thương mạch máu, chấn thương sọ não kín, chấn thương vùng chậu.

- Đặc điểm liên quan đến phẫu thuật
- + Thời gian phẫu thuật cần thiết để sửa chữa dứt điểm dài (> 120 phút)
- + Hội chứng khoang bụng/ngực khi cố gắng đóng thành bụng/ngực.
- + Cần đánh giá lại mức độ sống của ruột sau thời gian hồi sức tại ICU
- Các cân nhắc khác
- + Người già, nhiều bệnh mạn tính đi kèm.
- + Người trẻ, vận động viên (do khả năng bù trừ cao nên dễ che giấu rối loạn sinh lý lúc đánh giá ban đầu).

Tùy từng cơ quan tổn thương (sọ não, ngực, bụng, chi thể...), biện pháp cụ thể của các giai đoạn liên quan đến phẫu thuật có nội dung riêng. Giai đoạn 0 bao gồm thực hiện các biện pháp Hồi sức kiểm soát thiệt hại.

3. Hồi sức kiểm soát thiệt hại (Damage Control Resuscitation - DCR)

Hồi sức kiểm soát thiệt hại (DCR) là phương pháp điều trị xuất hiện từ năm 2005. Đây là phương pháp tiếp cận có hệ thống để xử trí BN chấn thương với các tổn thương nặng bắt đầu từ trước khi nhập viện, trong phòng cấp cứu, tiếp tục qua phòng phẫu thuật và đơn vị hồi sức tích cực (ICU). Nó được thiết kế, cùng với phẫu thuật kiểm soát thiệt hại, để đảo ngược kịp thời và tích

cực "bộ ba tử vong" và tình trạng xuất huyết. Khi kết hợp với DCS, DCR đã được chứng minh là làm giảm tỷ lệ tử vong của ĐCT [14, 15].

* *Mục tiêu:* Ổn định các rối loạn sinh lý, khôi phục cân bằng nội môi của BN đủ để phẫu thuật.

* *Nội dung:* DCR bao gồm các biện pháp sau:

- Làm ấm cơ thể.
- Hạ huyết áp cho phép.
- Hạn chế truyền dịch.
- Hồi sức cầm máu.
- Kiểm soát xuất huyết.
- Điều chỉnh nhiễm toan.
- Hạ huyết áp cho phép là một trong những thành phần trung tâm của DCR. Hạ huyết áp cho phép là quyết định chiến lược để trì hoãn việc bắt đầu hồi sức dịch và hạn chế thể tích dịch hồi sức bằng cách nhằm huyết áp mục tiêu thấp hơn bình thường, thường là huyết áp tâm thu 90 - 100 mmHg hoặc huyết áp động mạch trung bình (MAP) là 50 - 55 mmHg. Với BN có chấn thương sọ não thì huyết áp mục tiêu cần đạt cao hơn với huyết áp tâm thu 100 - 110 mmHg. Cơ sở của biện pháp hạ huyết áp cho phép là khi huyết áp mục tiêu thấp hơn (và do đó thể tích dịch hồi sức thấp hơn) sẽ cải thiện kết quả bằng cách làm giảm tần suất và mức độ

nghiêm trọng của rối loạn đông máu do pha loãng và tránh bị “làm tan cục máu đông”, một hiệu ứng xảy ra khi cục máu đông mới và không ổn định bịt kín vết rách mạch máu bị bong ra khi áp lực nội mạch tăng lên.

- Hồi sức cầm máu cũng là một biện pháp chính của DCR bao gồm:

+ Truyền máu: Khi phát hiện BN có xuất huyết ồ ạt (tốc độ chảy máu nhanh hoặc cần hơn 10 đơn vị máu), việc sử dụng máu, các sản phẩm của máu càng nhanh càng tốt. Nó giúp ngăn ngừa rối loạn đông máu liên quan đến chấn thương. Thứ tự ưu tiên truyền máu trong DCR là:

++ Máu toàn phần.

++ Huyết tương, tiểu cầu và hồng cầu (RBCs) theo tỷ lệ 1:1:1.

++ Huyết tương và hồng cầu theo tỷ lệ 1:1.

++ Huyết tương hoặc hồng cầu đơn thuần.

+ Thuốc chống tiêu sợi huyết: Sử dụng sớm axit tranexamic (Transamin) trong vòng 3 giờ sau khi bị chấn thương xuất huyết nặng. Nó có thể gây xuất huyết nặng hơn nếu tiêm sau 3 giờ.

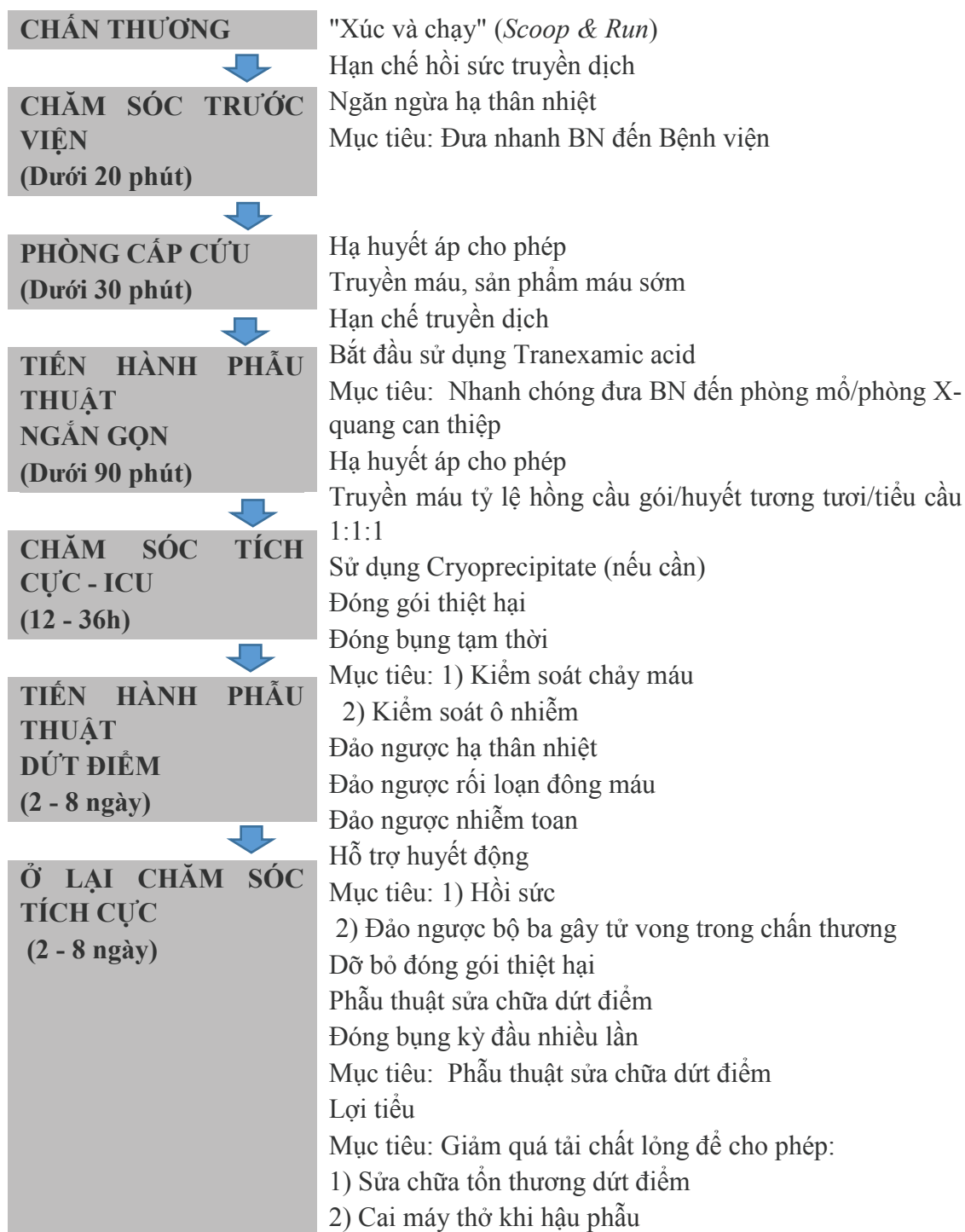
+ Bổ sung canxi: Canxi clorua và canxi gluconat đều được chấp thuận dùng làm thuốc thay thế canxi khi bị thiếu hụt do truyền máu lớn, canxi

gluconat là dạng được ưa thích để truyền tĩnh mạch ngoại vi, do ít gây tổn thương mô do phóng điện hơn so với canxi clorid.

- Kiểm soát xuất huyết là các biện pháp làm ngừng, giảm xuất huyết sau chấn thương càng nhanh càng tốt. Có thể sử dụng băng ép, băng chèn, garo để cầm máu, với trường hợp mạch máu ở các tạng ổ bụng có thể sử dụng REBOA (Resuscitative Endovascular Balloon Occlusion of the Aorta) là một quả bóng được đưa vào nội mạch làm tắc động mạch chủ để ngăn dòng máu đến phần dưới cơ thể cho đến khi nạn nhân có thể tiến hành phẫu thuật.

4. Chính hình kiểm soát thiệt hại (Damage Control Orthopedic - DCO)

Chính hình kiểm soát thiệt hại (DCO) là phương pháp điều trị dựa trên nguyên tắc kiểm soát thiệt hại do Scalea T.M. mô tả năm 2000, ban đầu được áp dụng để xử trí các BN ĐCT bị gãy xương dài (chủ yếu là xương đùi). Trong những năm gần đây, các vị trí mới đã được thêm vào khái niệm DCO, chẳng hạn như gãy xương chậu, gãy xương cột sống và chấn thương chi trên. Sự ra đời của DCO diễn ra sau những tiến bộ đáng kể trong hiểu biết về cơ chế sinh lý bệnh và phản ứng miễn dịch của cơ thể đối với chấn thương, đặc biệt là hậu quả của cơ chế "cú đánh thứ hai".



Hình 2: Phác đồ kết hợp hồi sức và phẫu thuật kiểm soát tổn thương.

(Các khoảng thời gian là ước tính và phải được điều chỉnh cho phù hợp với nhu cầu và tình trạng lâm sàng cụ thể của BN) [15]

* *Mục tiêu:* Tránh phản ứng viêm miễn dịch nghiêm trọng, ổn định đủ chỗ gãy để ngăn ngừa tổn thương mô mềm và hội chứng khoang, giúp nhanh ổn định rối loạn sinh lý.

* *Nội dung:* DCO bao gồm 4 giai đoạn là:

- Giai đoạn 1: Thực hiện các kỹ thuật cứu sống tính mạng nếu cần.

- Giai đoạn 2: Kiểm soát tình trạng xuất huyết, làm ổn định ổ gãy xương dài thường thông qua việc sử dụng các dụng cụ cố định bên ngoài và xử trí các tổn thương mô mềm nếu có.

- Giai đoạn 3: Hồi sức tích cực trong cơ sở ICU.

- Giai đoạn 4: Phẫu thuật cố định gãy xương dứt điểm.

Trong giai đoạn 2, cố định bên ngoài đã trở thành công cụ của DCO, vì tính nhanh chóng, cũng như giảm mất máu và xâm lấn. Tuy nhiên, các thủ thuật ít xâm lấn hơn như nẹp và kéo xương vẫn có thể đóng một vai trò quan trọng trong sự ổn định ban đầu của BN ĐCT. Đối với hầu hết các chấn thương ở chi trên, chỉ cần ổn định đơn giản bằng nẹp hoặc đai đeo là đủ. Đối với gãy xương kín dưới đầu gối, nẹp thường là lựa chọn tốt nhất. Đối với gãy xương đùi, việc nẹp không có lực kéo sẽ không có tác dụng vì khớp phía trên ổ gãy (hông) không thể bất động được. Trong trường hợp này, kéo liên tục và khung cố định ngoài được lựa chọn.

Trong giai đoạn 4, về thời gian của phẫu thuật kết xương dứt điểm thì “thời điểm cơ hội” được xác định theo chu kỳ phản ứng viêm, miễn dịch đã được thiết lập là từ ngày thứ 5 đến ngày thứ 10. Các ngày sau chấn thương từ 2 - 4 ngày đã được báo cáo là không thích hợp để thực hiện quá trình kết xương dứt điểm [5, 16].

* *Chỉ định:*

- DCO được chỉ định cho BN ĐCT nhóm 3 và 4.

- Với BN thuộc nhóm 2, còn được gọi là nhóm ‘có nguy cơ’, tiếp tục gây ra tranh luận trong cộng đồng chính hình. Phản ứng của những BN nhóm này đối với phẫu thuật có thể không dự đoán được vì các thông số sinh lý không bất thường nhưng vẫn có thể dễ bị hậu quả của cơ chế "cú đánh thứ hai". Do đó, việc chỉ DCO hay ETC phụ thuộc vào kinh nghiệm và sự quyết định của bác sĩ phẫu thuật. Theo một số tác giả có thể tham khảo thêm một số chỉ tiêu sau để lựa chọn DCO:

+ ĐCT điểm ISS > 20 + CT ngực (AIS > 2)

+ ĐCT có CT bụng, GX chậu, sốc mất máu (HATT < 90).

+ Điểm ISS > 40 không có CT ngực

+ Áp lực ĐMP > 24 mmHg

+ Áp lực ĐMP tăng > 6 mmHg khi đóng đinh nội tủy

+ Dập phổi, tràn dịch màng phổi hai bên trên phim Xquang

+ Chấn thương sọ não kín có tổn thương.

+ Đáp ứng kém với hồi sức trong 12 giờ đầu.

* *Hạn chế:* Làm tăng nguy cơ nhiễm trùng, nằm điều trị ICU kéo dài, bỏ lỡ cơ hội được phẫu thuật kết xương sớm [10].

5. Chăm sóc thích hợp sớm (Early Appropriate Care - EAC)

Chăm sóc thích hợp sớm (EAC) là mô hình điều trị do Vallier H.A. và cộng sự khởi xướng năm 2011. EAC là sự kết hợp các ưu điểm của ETC và tính an toàn của DCO dựa trên ý tưởng rằng nếu rối loạn cân bằng acid - base (mức thâm hụt Kiềm và Lactat) có thể được khôi phục, BN sẽ có khả năng chống chọi tốt hơn với các phẫu thuật sửa chữa dứt điểm [17].

* *Mục tiêu:* Xác định và nhanh chóng điều chỉnh các rối loạn sinh lý làm trì hoãn điều trị thực thụ đối với gãy xương chậu, xương đùi, xương chày, cột sống. Tiến hành điều trị thực thụ gãy xương lớn khi BN đủ điều kiện.

* *Nội dung:* EAC quy định rằng việc phẫu thuật sửa chữa dứt điểm gãy xương lớn không ổn định nên được thực hiện trong vòng 36 giờ nếu đáp ứng đầy đủ với hồi sức được chứng minh bằng:

- pH $\geq 7,25$.

- Lactate ≤ 4 mmol/L.

- BD $> 5,5$ mmol/L.

* *Hạn chế:* Theo một số tác giả các thông số của EAC (pH, BD, Lactate) có thể bị sai lệch ở những BN tiểu đường, người già và suy thận, do đó đặc điểm sinh lý thực sự của những BN này có thể bị che lấp. Ngay cả loại chất lỏng nhận được trong quá trình hồi sức cũng có thể ảnh hưởng đến mức lactate, nên chỉ dựa 3 thông số này chưa đủ an toàn để thực hiện phẫu thuật kết xương thực thụ [18].

6. Phẫu thuật thực thụ an toàn (Safe Definitive Surgery approach)

Phẫu thuật thực thụ an toàn (SDS) là mô hình điều trị do Pape H.C. đề xướng năm 2016. Theo chiến lược này, ngoài các thông số của EAC, Pape đề xuất cần đánh giá thêm các thông số về rối loạn đông máu, các yếu tố đông máu, chức năng tuần hoàn và hô hấp và thần kinh.

Nếu BN được tuyên bố là ổn định, có thể áp dụng phương pháp điều trị thực thụ, nhưng nếu BN tiếp tục không ổn định, nên lựa chọn DCO. Sau 24 giờ đánh giá lại là cần thiết để kiểm tra đông máu, cân bằng dịch, chức năng phổi và nhu cầu thuốc vận mạch. Nếu BN được coi là đã 'ổn định' trở lại, phẫu thuật viên có thể tiến hành SDS. Mặt khác, nếu tình trạng của BN

vẫn còn ở mức giới hạn, cần đánh giá lại hàng ngày cho đến khi BN ổn định và đủ sức khỏe để phẫu thuật dứt điểm [18].

7. Xử trí kịp thời - Cá nhân hóa - An toàn (Prompt-Individualised-Safe Management - PR.I.S.M.)

Xử trí kịp thời - Cá nhân hóa - An toàn là một khái niệm được đưa ra trong những năm gần đây trong chiến lược xử trí ĐCT. Phương thức điều trị này dựa trên các nguyên tắc không làm "tổn hại thêm cho BN", can thiệp kịp thời và quy trình đưa ra quyết định điều trị phải dựa trên từng BN cụ thể

(cá nhân hóa). Mỗi BN có cấu tạo di truyền khác nhau, phản ứng theo một cách khác nhau với cùng một mức độ chấn thương. Thực tế, việc cung cấp các nguồn lực điều trị bao gồm cả con người và trang thiết bị là khác nhau giữa các cơ sở y tế, nên chiến lược PR.I.S.M. cho rằng không quan trọng quyết định tuân theo chiến lược điều trị nào (ETC, EAC, DCO hay SDS) miễn là nó phù hợp với các thông số lâm sàng và sinh lý cụ thể của từng BN và áp dụng các chiến lược khác nhau có sẵn vì lợi ích tốt nhất của người bệnh [19].

* <i>Prompt</i>: Kịp thời - Cân nhắc nhân lực và trang bị - Cấp cứu không chậm trễ - Không hạn chế thời gian 8 giờ, 24 giờ, 36 giờ.	* <i>Safe</i>: An toàn Đánh giá chi tiết: - Cơ chế chấn thương. - Phân loại chấn thương. - Tình trạng sinh lý. - Sử dụng marker. - Chẩn đoán sớm.
* <i>Individualised</i>: Cá nhân hóa Cân nhắc: - Các triệu chứng của BN. - Tuổi. - Giới. - Mang thai. - Bệnh nền. - Hồi sức thích hợp.	* <i>Management</i>: Xử trí - Tiếp tục đáp ứng với hồi sức. - Xquang can thiệp. - ETC. - DCO. - EAC. - Đánh giá liên tục.

KẾT LUẬN

Hiện nay, các chiến lược điều trị ĐCT đã nhấn mạnh sự cần thiết của việc xác định sớm và xử trí kịp thời, thích hợp các rối loạn trong sinh lý bệnh ĐCT như hạ thân nhiệt, rối loạn đông máu, nhiễm toan và các can thiệp phẫu thuật có thể đe dọa tính mạng BN nếu chọn sai thời điểm cũng như phương pháp xử trí dứt điểm tổn thương.

Hồi sức kiểm soát tổn thương, điều chỉnh về rối loạn đông máu và thanh thải lactate là những yếu tố quan trọng trong điều trị ĐCT.

Lựa chọn chiến lược xử trí phẫu thuật dựa trên đánh giá các thông số sinh lý, khả năng đáp ứng của từng cá nhân cụ thể sẽ giúp việc điều trị BN ĐCT cải thiện kết quả.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bộ môn Ngoại dã chiến - Học viện Quân y (2019). Giáo trình Ngoại khoa dã chiến (Sách chuyên khảo). *Cấp cứu và điều trị ĐCT*. Nhà xuất bản Quân Đội nhân dân, Hà Nội; 71.
2. Pape H.C., Lefering R., Butcher N., Peitzman A., et al. (2014). The definition of polytrauma revisited: An international consensus process and proposal of the new 'Berlin definition' J. *Trauma Acute Care Surg*; 77:780-786.

3. Baker C.C., Oppenheimer L., Stephens B., Lewis F.R., Trunkey D.D (1980). Epidemiology of trauma deaths. *Am J Surg*; Jul; 140(1):144-150.

4. Nguyễn Trường Giang, Nghiêm Đình Phàn, Mai Xuân Hiên, Nguyễn Văn Sơn (2007). Chiến thuật điều trị BN ĐCT. *Y học Thực hành*; 571+572(5): 70-73.

5. Volpin G., Pfeifer R., Saveski J., et al. (2021). Damage control orthopaedics in polytraumatized patients-current concepts. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*; 12(1):72-82.

6. Glass N.E., Burlew C.C., Hahnhaussen J., et al. (2017). Early definitive fracture fixation is safely performed in the presence of an open abdomen in multiply injured patients. *J Orthop Trauma*; Dec; 31(12):624-630.

7. Trentz, O. (2014). Polytrauma: Pathophysiology, priorities, and management. *General Trauma Care and Related Aspects* (pp. 69-76). Springer, Berlin, Heidelberg.

8. Fecher, A., Stimpson, A., Ferrigno, L. and Pohlman, T.H. (2021). The pathophysiology and management of hemorrhagic shock in the polytrauma patient. *Journal of Clinical Medicine*; 10(20):4793.

9. Pape, H.C., Giannoudis, P.V., Krettek, C. and Trentz, O. (2005). Timing of fixation of major fractures in blunt polytrauma: role of conventional indicators in clinical decision making. *Journal of Orthopaedic Trauma*; 19(8):551-562.
10. Nicola, R. (2013). Early total care versus damage control: Current concepts in the orthopedic care of polytrauma patients. *International Scholarly Research Notices*.
11. Pape, H.C., Moore, E.E., Mckinley, T. and Sauaia, A. (2022). Pathophysiology in patients with polytrauma; *Injury*; May 14.
12. Duchesne, J., Inaba, K. and Khan, M.A. eds. (2018). Damage control in trauma care: an evolving comprehensive team approach. Springer International Publishing.
13. Roberts, D.J., Ball, C.G., Feliciano, D.V., Moore, E.E., et al. (2017). History of the innovation of damage control for management of trauma patients: 1902-2016. *Annals of Surgery*; 265(5):1034-1044.
14. Lamb, C.M., MacGoey, P., Navarro, A.P. and Brooks, A.J. (2014). Damage control surgery in the era of damage control resuscitation. *British Journal of Anaesthesia*; 113(2): 242-249.
15. Kaafarani H.M.A., Velmahos G.C. (2014). Damage control resuscitation in trauma. *Scandinavian Journal of Surgery*; 103(2):81-88.
16. Stahel, P.F., Heyde, C.E., Wyrwich, W. and Ertel, W. (2005). Current concepts of polytrauma management: From ATLS to "damage control". *Der Orthopade*; 34(9): 823-836.
17. Vallier, H.A. and Nahm, N.J. (2012). Timing of definitive treatment of femoral shaft fractures in patients with multiple injuries: a systematic review of randomized and nonrandomized trials. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*; 73(5):1046-1063.
18. Pape H.C., Andruszkow H., Pfeifer R., Hildebrand F., Barkatali B.M. (2016). Options and hazards of the early appropriate care protocol for trauma patients with major fractures: Towards safe definitive surgery. *Injury*; Apr; 47(4):787-791.
19. Giannoudis, P.V., Giannoudis, V.P. and Horwitz, D.S. (2017). Time to think outside the box: Prompt-individualised-safe management' (PRISM) should prevail in patients with multiple injuries. *Injury*; 48(7):1279-1282.

**ĐẶC ĐIỂM HÌNH ẢNH VIÊM RUỘT THỪA CẤP
CÓ BIẾN CHỨNG TRÊN CẮT LỚP VI TÍNH ĐA DÂY**

*Phạm Thị Yến¹, Phạm Quốc Huy¹
Nguyễn Văn Đàn¹, Nguyễn Minh Hải¹, Lê Tuấn Cảnh²*

Tóm tắt

Mục tiêu: Mô tả đặc điểm hình ảnh của viêm ruột thừa cấp (VRTC) có biến chứng và xác định dấu hiệu có giá trị nhất trong chẩn đoán biến chứng VRTC trên cắt lớp vi tính (CLVT) đa dây. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, tiến cứu 83 bệnh nhân (BN) đau bụng cấp, theo dõi VRTC có biến chứng, được chụp CLVT và phẫu thuật tại Bệnh viện Quân y 103 từ 9/2021 - 8/2022. **Kết quả:** Dấu hiệu khuyết thuốc khu trú gặp nhiều nhất (37%), khí ngoài lòng và sỏi ngoài lòng chỉ gặp 1 BN (1,4%), áp xe ruột thừa gặp 2,7%, đám quánh ruột thừa gặp 11%. Dấu hiệu khuyết thuốc khu trú có độ nhạy 92%, độ đặc hiệu 91,7% trong chẩn đoán biến chứng, trong khi các dấu hiệu còn lại có độ đặc hiệu cao, nhưng độ nhạy thấp. **Kết luận:** Khuyết thuốc khu trú trên CLVT đa dây là dấu hiệu có giá trị nhất trong phân biệt VRTC có biến chứng hay không.

* *Từ khóa:* Viêm ruột thừa cấp; Biến chứng viêm ruột thừa cấp; Cắt lớp vi tính.

**IMAGING CHARACTERISTICS OF COMPLICATED ACUTE
APPENDICITIS ON MULTI-SLICE COMPUTED TOMOGRAPHY**

Summary

Objectives: To describe imaging characteristics of complicated acute appendicitis and to determine the most useful findings for diagnosing complicated acute appendicitis on MSCT. **Subjects and methods:** This is a descriptive cross-sectional, prospective study. From September 2021 to August 2022, 83 patients who presented acute abdominal pain, and were suspected with complicated acute appendicitis clinically underwent MSCT and surgery at Military Hospital 103.

¹Bệnh viện Quân y 103

²Bệnh viện Quân y 5

Người phản hồi: Nguyễn Minh Hải (email: nmhaidr@gmail.com)

Ngày nhận bài: 23/11/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 25/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.234>

Results: The most common finding was a focal defect in enhancing the appendiceal wall (accounting for 37%), extraluminal air and appendicolith were found in only one case (1.4%), abscess in 2.7%, and phlegmon in 11%. Sensitivity and specificity for a focal defect in enhancing the appendiceal wall were 92% and 91.7%, respectively while the remaining findings had high specificity but low sensitivity. **Conclusion:** Focal defect in enhancing the appendiceal wall is the most useful finding in differentiating complicated acute appendicitis.

* *Keywords: Acute appendicitis; Complicated appendicitis; Computed tomography.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm ruột thừa cấp là cấp cứu bụng ngoại khoa thường gặp nhất [1]. Ở Việt Nam, VRTC chiếm 53,38% các trường hợp mổ cấp cứu bụng tại Bệnh viện Việt Đức [2]. Chẩn đoán lâm sàng VRTC vẫn luôn là thách thức với các BN không có biểu hiện điển hình và không phải mọi BN có lâm sàng điển hình là VRTC. Chẩn đoán muộn ảnh hưởng tới điều trị và để lại hậu quả nặng nề. Siêu âm là phương pháp chẩn đoán hình ảnh được áp dụng rộng rãi để chẩn đoán VRTC. Tuy nhiên, kết quả siêu âm lại phụ thuộc vào người làm và khó quan sát ruột thừa trên những BN béo, chướng hơi và ruột thừa ở vị trí không điển hình. Vì những lý do đó, các bác sĩ khoa cấp cứu và phẫu thuật viên đã tăng việc sử dụng CLVT ổ bụng có tiêm thuốc cản quang để hỗ trợ chẩn đoán VRTC có biến chứng. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: *Mô tả đặc điểm hình ảnh của VRTC có biến*

chứng và xác định dấu hiệu có giá trị nhất trong chẩn đoán biến chứng VRTC trên CLVT đa dãy.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 83 BN được khám lâm sàng tại Khoa Khám bệnh, bệnh viện Quân y 103, nghi ngờ VRTC có biến chứng, được chỉ định chụp CLVT đa dãy để xác định nguyên nhân và tìm biến chứng (nếu có). Thời gian: Từ tháng 9/2021- 8/2022.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- BN đau bụng cấp, được chẩn đoán lâm sàng là theo dõi VRTC có biến chứng.
- Tất cả BN được chụp CLVT vùng bụng chậu có tiêm thuốc cản quang.
- BN được phẫu thuật và làm giải phẫu bệnh (khi cần thiết) để xác định nguyên nhân.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

** Tiêu chuẩn loại trừ:*

- Những trường hợp không đủ dữ liệu để chọn vào nhóm BN nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu:*

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, tiền cứu. Có đối chiếu hình ảnh CLVT với kết quả phẫu thuật và giải phẫu bệnh.

** Kỹ thuật chụp CLVT chẩn đoán VRTC:*

- Thực hiện trên máy CLVT 32 dãy (Access, hãng Philips, Hà Lan), tại khoa Xquang chẩn đoán, Bệnh viện Quân y 103. Thuốc cản quang: Tiêm thuốc cản quang iode không ion hóa (chúng tôi sử dụng loại thuốc sau: Omnipaque 300 mgI/100 mL), liều 1,5 mL/kg cân nặng, tốc độ bơm 4 mL /giây.

- Chuẩn bị BN: Hỏi thông tin về tiền sử dị ứng, giải thích về lợi ích và nguy cơ khi sử dụng thuốc cản quang.

- Các thông số chụp: Các thông số chụp được cài đặt là 100 kVp, 183 mAs. Chụp xoắn ốc từ vòm hoành đến khớp mu trong 1 lần nín thở theo hướng ngang ở tất cả các thì. Độ dày lớp cắt 5 mm. Thì động mạch: Chụp vào giây thứ 30 tính từ thời điểm bắt đầu tiêm thuốc. Thì tĩnh mạch: Chụp vào giây thứ 70 tính từ thời điểm bắt đầu tiêm thuốc.

** Phân tích hình ảnh:*

- Tái tạo độ dày lớp cắt 1 mm. Sử dụng hình ảnh tái tạo đa bình diện MPR (multiplanar reconstruction) để xác định các đặc điểm của ruột thừa.

- Đánh giá tính chất ngấm thuốc của thành ruột thừa ở thì tĩnh mạch.

** Tiêu chuẩn chẩn đoán VRTC trên CLVT:*

Chẩn đoán VRTC đơn thuần trên CLVT dựa vào các tiêu chuẩn theo tác giả Pinto Leite [3]:

- Đường kính ngang ruột thừa ≥ 7 mm.
- Thành ruột thừa dày ≥ 3 mm, ngấm thuốc mạnh sau tiêm.
- Các dấu hiệu viêm quanh ruột thừa: Thâm nhiễm mỡ, tụ dịch quanh ruột thừa, hạch mạc treo kích thước lớn, dày thành các tạng lân cận (manh tràng, quai tiểu tràng, bàng quang...).

Chẩn đoán VRTC có biến chứng trên CLVT theo các dấu hiệu của tác giả Horrow [4], gồm:

- Ổ khuyết thuốc khu trú ở thành ruột thừa.
- Khí bên ngoài lòng ruột thừa.
- Sỏi phân bên ngoài lòng ruột thừa.
- Áp xe ruột thừa.
- Đám quánh ruột thừa.

** Các biến số nghiên cứu:*

- Khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa: Ổ không bắt thuốc cản quang ở thành ruột thừa [5].

- Khí ngoài lòng ruột thừa được định nghĩa là các ổ tụ khí ngoài lòng ruột [6].

- Sỏi ruột thừa nằm ngoài lòng là cấu trúc tăng đậm độ không bắt thuốc nằm ngoài lòng ruột [6].

- Áp xe cạnh ruột thừa: Khối đậm độ dịch có viền ngấm thuốc mạnh, phân mủi [4].

- Đám quánh ruột thừa: Tổn thương đậm độ mô mềm dạng khối ở vùng hố chậu phải xung quanh ruột thừa viêm [5].

** Xử lý số liệu:*

Bằng phần mềm SPSS 22.0. So sánh hai giá trị trung bình sử dụng Test T - Student (hai nhóm). So sánh tỷ lệ bằng test chi bình phương (χ^2). Sự khác biệt giữa các nhóm có ý nghĩa thống kê khi

$p < 0,05$. Giá trị của các dấu hiệu trên CLVT được xác định bằng cách so sánh với kết quả sau phẫu thuật, từ đó tính độ nhạy (Se), độ đặc hiệu (Sp).

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

- Trong 83 BN, có 73 BN được chẩn đoán xác định là VRTC và 10 BN không VRTC (trong đó có 8 BN tắc ruột, 1 BN lồng ruột, 1 BN thủng tạng rỗng). Trong 73 BN VRTC, có 25 BN có biến chứng.

- 73 BN VRTC gồm 42 nam (57,5%) và 31 nữ (42,5%), tỷ lệ nam/nữ: 1,3/1.

- Tuổi trung bình của nhóm có VRTC là $38,5 \pm 16,7$ (12 - 87) tuổi, thấp hơn so với nhóm không VRT là $54,7 \pm 19$ (20 - 84) tuổi ($p < 0,05$).

2. Đặc điểm hình ảnh VRTC có biến chứng trên CLVT

Bảng 1: Giá trị của CLVT trong chẩn đoán VRTC có biến chứng.

CLVT \ CDXD	Có biến chứng	Không biến chứng	Tổng
Có biến chứng	23	4	27
Không biến chứng	2	44	46
Tổng	25	48	73

- Độ nhạy: $Se = 23/(23 + 2) = 92\%$.

- Độ đặc hiệu: $Sp = 44/(44 + 4) = 91,7\%$.

- Độ chính xác: $Acc = (23 + 44)/(23 + 2 + 44 + 4) = 91,8\%$.

- Giá trị dự báo dương tính: $PPV = 23/(23 + 4) = 85,2\%$.

- Giá trị dự báo âm tính: $NPV = 44/(44 + 2) = 93,6\%$.

Bảng 2: Các dấu hiệu biến chứng VRTC trên CLVT.

Dấu hiệu	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
Khuyết thuốc khu trú	27	37
Khí ngoài lòng ruột thừa	1	1,4
Sỏi ngoài lòng ruột thừa	1	1,4
Áp xe ruột thừa	2	2,7
Đám quánh ruột thừa	8	11

Trong các dấu hiệu chẩn đoán biến chứng VRTC trên CLVT, khuyết thuốc khu trú gặp nhiều nhất (37%).

Bảng 3: Mối liên quan của các dấu hiệu với chẩn đoán VRTC có biến chứng.

Dấu hiệu		Có biến chứng	Không biến chứng	p
Khuyết thuốc khu trú	Có	23	4	0,000
	Không	2	44	
Khí ngoài lòng ruột thừa	Có	1	0	0,163
	Không	24	48	
Sỏi ruột thừa ngoài lòng	Có	1	0	0,163
	Không	24	48	
Áp xe ruột thừa	Có	2	0	0,047
	Không	23	48	
Đám quánh ruột thừa	Có	7	1	0,001
	Không	18	47	

Các dấu hiệu gồm khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa, áp xe và đám quánh có liên quan đến biến chứng VRTC.

Từ bảng trên ta có được:

Bảng 4: Độ nhạy và độ đặc hiệu của các dấu hiệu trong chẩn đoán biến chứng VRTC

Dấu hiệu	Se (%)	Sp (%)
Khuyết thuốc	92	91,7
Khí ngoài lòng	4	100
Sỏi ngoài lòng	4	100
Áp xe	8	100
Đám quánh	28	97,9

Dấu hiệu khuyết thuốc khu trú có giá trị nhất trong chẩn đoán biến chứng với độ nhạy và độ đặc hiệu cao.

BÀN LUẬN

VRTC có thể gặp ở bất cứ độ tuổi nào, nhưng thường gặp nhất ở tuổi trẻ vì các nang bạch huyết ở tuổi này phát triển mạnh mẽ, dễ gây phản ứng viêm phì đại làm tắc nghẽn ruột thừa. Theo Doãn Văn Ngọc, tuổi trung bình là 38,5, thấp nhất 12 tuổi, cao nhất 84 tuổi [2]. Đối với nghiên cứu ở nước ngoài, theo Balthazar, độ tuổi VRTC trung bình là 38 tuổi [7].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ tuổi trung bình của nhóm BN VRTC là 38,5 tuổi, BN nhỏ nhất 12 tuổi, cao tuổi nhất 87 tuổi. Tuổi trung bình của nhóm không viêm ruột thừa là 54,7 tuổi, cao hơn nhóm viêm ruột thừa có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Như vậy tuổi trung bình của những BN VRTC

trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự so với các nghiên cứu trong và ngoài nước.

Theo y văn, VRTC gặp ở nam nhiều hơn nữ. Trong nghiên cứu, tỷ lệ nam và nữ ở nhóm BN VRTC là 57,5% và 42,5%, tỷ lệ nam/nữ là 1,3. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của Balthazar với tỷ lệ ở nam là 52% và ở nữ là 48% [7].

Chẩn đoán VRTC có biến chứng hay không quyết định cách thức điều trị của bác sĩ lâm sàng, phẫu thuật viên. Theo Balthazar [7] tỉ lệ VRTC biến chứng vỡ là 28%, theo Doãn Văn Ngọc [2] là 29,7%; còn trong nghiên cứu của chúng tôi thì tỷ lệ này cao hơn là 34,2%.

Trong nghiên cứu, trên CLVT 27/73 trường hợp (37%) VRTC được chẩn đoán có biến chứng. Trong đó, đặc điểm khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa gặp nhiều nhất (27 BN chiếm 37%), đám quánh gặp ở 8 BN (11%), áp xe gặp 2 BN (2,8%), 1 BN có khí và sỏi ngoài lòng ruột thừa (1,4%). Theo tác giả Jidapa Lamwat, tỷ lệ gặp khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa là 50,2% (101/201 BN VRTC), đám quánh gặp ở 11/201 BN (5,5%), sỏi ngoài lòng gặp 6 BN (3%), khí ngoài lòng gặp ở 41 BN (20,4%) [5]. Trong các nghiên cứu, tỷ lệ khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa cao nhất, nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn của tác giả Jidapa Lamwat, điều này có thể do số lượng BN trong nghiên cứu của chúng tôi ít hơn (73 so với 201 BN).

CLVT có thể giúp phân biệt chính xác viêm ruột thừa có biến chứng và

không biến chứng. Trong nghiên cứu của chúng tôi, 25/73 trường hợp có biến chứng trên giải phẫu bệnh, CLVT chẩn đoán đúng 23 trường hợp, chẩn đoán sai 4 trường hợp, trong 47 trường hợp chẩn đoán không biến chứng, đúng 44 trường hợp và sai 2 trường hợp. Theo nghiên cứu, các giá trị độ nhạy, độ đặc hiệu và độ chính xác của CLVT chẩn đoán biến chứng VRTC lần lượt là 92%, 91,7% và 91,8%. Dưới đây là một trường hợp âm tính giả trong phát hiện biến chứng VRTC trên CLVT, với kết quả phẫu thuật là viêm ruột thừa mủ và kết quả giải phẫu bệnh là viêm ruột thừa hoại tử, do những trường hợp tổn thương hoại tử thành nhỏ và sớm rất khó quan sát được khuyết thuốc thành ruột thừa trên CLVT hay đại thể trên phẫu thuật, giải phẫu bệnh phân tích vi thể thì dễ dàng hơn để xác định biến chứng này.

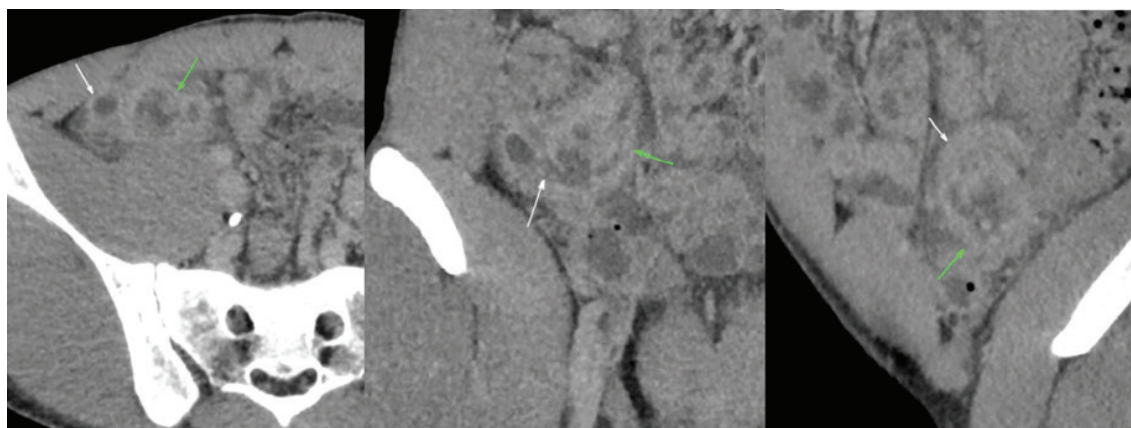


Hình 1: Ruột thừa viêm với sỏi phân trong lòng ruột thừa (mũi tên trắng), không quan sát thấy các dấu hiệu của VRTC có biến chứng

(BN Đặng Trí D. 42 tuổi, MBN:22044635).

Trong 5 dấu hiệu trên CLVT chẩn đoán biến chứng, dấu hiệu khuyết thuốc khu trú có giá trị chẩn đoán tốt nhất [8]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 92% và 91,7%. Các dấu hiệu còn lại có độ đặc hiệu cao (97,9 - 100%) nhưng độ nhạy thấp (4 - 28%). Theo tác giả Tsuboi [8], dấu hiệu khuyết thuốc khu trú thành ruột thừa có độ nhạy 95%, độ đặc hiệu 96,8% và độ chính xác 96,1%. Các dấu hiệu của các dấu hiệu còn lại có độ nhạy từ 22,5 -

40%, độ đặc hiệu cao từ 96,2 - 100%. Theo Sarah D. [9] khuyết thuốc khu trú có độ nhạy và độ đặc hiệu lần lượt là 64% và 80%, các dấu hiệu áp xe, khí ngoài lòng có độ đặc hiệu cao lần lượt 99% và 98%, nhưng độ nhạy thấp là 34% và 35%. Như vậy trong các nghiên cứu, dấu hiệu khuyết thuốc khu trú có giá trị cao trong phân biệt có hay không có biến chứng VRTC, điều này có thể được giải thích: do đây là dấu hiệu trực tiếp trên ruột thừa, dễ đánh giá, trong khi các dấu hiệu còn lại là dấu hiệu gián tiếp.



Hình 2: Áp xe ruột thừa

BN Nguyễn Tiến Đ. 19 tuổi, MBN 22068583.

Trên CLVT sau tiêm thuốc thì tĩnh mạch, thấy hình ảnh khối chứa dịch ngấm thuốc viên, bờ không đều (mũi tên xanh), nằm bên cạnh ruột thừa ngấm mạnh, có ổ khuyết ngấm thuốc khu trú (mũi tên trắng).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu hình ảnh CLVT 83 BN đau bụng cấp, theo dõi VRTC có biến chứng, tại Bệnh viện Quân y 103 từ 9/2021 - 8/2022, chúng tôi rút ra một số kết luận sau: Trong các dấu hiệu của biến chứng VRTC trên CLVT, khuyết thuốc khu trú thường gặp nhất (37%), và cũng là dấu hiệu có giá trị nhất trong phân biệt VRTC có biến chứng, với độ nhạy 92% và độ đặc hiệu 91,7%.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Phạm Gia Khánh, Nguyễn Văn Xuyên, (2014). Viêm ruột thừa cấp. *Bệnh học ngoại khoa bụng*. Nhà xuất bản Quân đội Nhân dân; 10-12.

2. Doãn Văn Ngọc, Đào Danh Vĩnh, Lê Văn Khang, (2012). Nghiên cứu giá trị chụp CLVT trong chẩn đoán VRTC. *Điện quang Việt Nam*; 10:370-375.

3. Leite N Pinto, Pereira José M, Cunha R, et al. (2004). CT evaluation of appendicitis and its complications: Imaging techniques and key diagnostic findings; 185:406-417.

4. Horrow Mindy M, White Denise S, Horrow Jay C (2003). Differentiation of perforated from nonperforated appendicitis at CT; *Radiology*; 227(1):46-51.

5. Iamwat J, Teerasamit W, Apisarnthanarak P, et al. (2021). Predictive ability of CT findings in the differentiation of complicated and uncomplicated appendicitis: A retrospective investigation of 201 patients undergone appendectomy at initial admission. *Insights into Imaging*; 12(1):1-13.

6. Lai BMH, Chu CY, Leung BST, et al. (2015). Appendicitis computed tomography score: a useful tool for predicting perforation and surgical course of acute appendicitis. *Hong Kong J Radiol*; 18(4):267-276.

7. Balthazar Emil J, Rofsky Neil M, Zucker R (1998). Appendicitis: the impact of computed tomography imaging on negative appendectomy and perforation rates. *The American Journal of Gastroenterology*; 93(5): 768-771.

8. Tsuboi M, Takase K, Kaneda I, et al (2008). Perforated and nonperforated appendicitis: defect in enhancing appendiceal wall-depiction with multi-detector row CT. *Radiology*; 246(1):142-147.

9. Bixby Sarah D, Lucey Brian C, Soto Jorge A, et al. (2006). Perforated versus nonperforated acute appendicitis: Accuracy of multidetector CT detection, *Radiology*; 241(3):780-786.

**ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ PHẪU THUẬT CẮT TUYẾN TIỀN LIỆT NỘI SOI
QUA NIỆU ĐẠO ĐIỀU TRỊ BỆNH TĂNG SẢN LÀNH TÍNH
TUYẾN TIỀN LIỆT TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA XANH PÔN**

Nguyễn Minh An¹, Ngô Trung Kiên², Bùi Hoàng Thảo²

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá kết quả xa sau phẫu thuật cắt u phì đại lành tính tuyến tiền liệt (UPĐLTTL) nội soi tại Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 98 bệnh nhân (BN) tuổi trung bình $75,5 \pm 3,62$, cao nhất 95 tuổi, thấp nhất 55 tuổi. Bảng điểm ISPP trước phẫu thuật: $27,3 \pm 2,8$; Bảng điểm chất lượng cuộc sống (CLCS) trước phẫu thuật: $5,2 \pm 0,7$; Chỉ số IIEF trước phẫu thuật: $17,8 \pm 5,8$; **Kết quả:** Biến chứng sau phẫu thuật: Hẹp niệu đạo 3,1%; đái rỉ tạm thời 3,1%; xuất tinh ngược dòng 4,1%; Điểm IPSS trung bình sau mổ 1 tháng, 6 tháng và 12 tháng lần lượt là $7,6 \pm 3,3$; $5,1 \pm 2,1$ và $4,6 \pm 1,8$; Điểm CLCS trung bình sau mổ 1 tháng, 6 tháng và 12 tháng lần lượt là: $1,4 \pm 0,7$; $0,88 \pm 0,5$ và $0,8 \pm 0,4$; Chỉ số IIEF trung bình sau mổ 1 tháng, 6 tháng và 12 tháng lần lượt là $12,18 \pm 5,8$; $12,51 \pm 7,11$ và $12,9 \pm 7,1$. **Kết luận:** Phẫu thuật nội soi điều trị UPĐLTTL là phương pháp an toàn, hiệu quả, cải thiện CLCS của BN.

* *Từ khóa:* U phì đại lành tính tuyến tiền liệt; Rối loạn cương dương; Thang điểm IPSS; Chỉ số IIEF; Cắt đốt nội soi tuyến tiền liệt qua ngã niệu đạo.

**LONG TERM RESULT AFTER LAPAROSCOPY TRANSURETHRAL
RESECTION OF BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA PATIENT AT
SAINT PAUL HOSPITAL**

Summary

Objectives: To evaluate the long term result after laparoscopy transurethral resection of benign prostatic hyperplasia patients at Saint Paul General Hospital.

¹Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội

²Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn

Người phản hồi: Nguyễn Minh An (Dr_minhan413@yahoo.com)

Ngày nhận bài: 27/9/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 10/10/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.237>

Subjects and methods: A cross-sectional description study on 98 patients. The mean age was 75.5 ± 3.62 years old, the highest age was 95 years old, the lowest age was 55 years old. The preoperative ISPP score was 27.3 ± 2.8 ; the preoperative QoL score was 5.2 ± 0.7 ; the preoperative IIEF score was 17.8 ± 5.8 ; **Results:** Postoperative complications: Urethral stricture 3.1%, temporary peeing 3.1%, retrograde ejaculation 4.1%; Average IPSS 1 month, 6 months and 12 months, respectively: 7.6 ± 3.3 ; 5.1 ± 2.1 and 4.6 ± 1.8 ; Average QoL after surgery 1 month, 6 months and 12 months, respectively were 1.4 ± 0.7 ; 0.88 ± 0.5 and 0.8 ± 0.4 ; the average IIEF after surgery 1 month, 6 months and 12 months, respectively were 12.18 ± 5.8 ; 12.51 ± 7.11 and 12.9 ± 7.1 . **Conclusion:** Laparoscopic surgery for benign prostatic hypertrophy is a safe and effective method to improve the quality of life of patients.

* **Keywords:** *Benign Prostatic Hyperplasia; Erectile dysfunction; International Prostate Symptom Score; Transurethral Resection of the Prostate; International Index of Erectile Function.*

ĐẶT VẤN ĐỀ

UPĐLTTL hay còn gọi tăng sản lành tính tuyến tiền liệt là một bệnh phổ biến ở các nước phát triển, tuổi càng cao tỷ lệ bệnh càng tăng. Khi bệnh phát triển có rối loạn tiểu tiện, sẽ ảnh hưởng nhiều đến CLCS, trầm trọng hơn có thể dẫn đến bí đái, suy thận, nhiễm khuẩn niệu... [1]. Phẫu thuật nội soi cắt UPĐLTTL được thực hiện trên thế giới từ những năm 1910 [1, 2]. Tại Việt Nam, phương pháp này đến nay được áp dụng hầu hết các bệnh viện trên toàn quốc. Việc đánh giá kết quả điều trị UPĐLTTL bằng cắt đốt nội soi đã được thực hiện ở nhiều bệnh viện. Tuy nhiên, để đánh giá toàn diện về kết quả điều trị sau phẫu thuật, sự cải thiện triệu chứng chủ quan cũng như đánh giá sự cải thiện

CLCS của BN so với trước phẫu thuật UPĐLTTL, chưa có nhiều đề tài tại Việt Nam nghiên cứu về vấn đề này. Với các lý do trên và để có những luận cứ khoa học về kết quả CLCS của phương pháp điều trị này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài nhằm: *Đánh giá kết quả sau theo dõi phẫu thuật cắt tuyến tiền liệt nội soi qua niệu đạo điều trị tăng sản lành tính tuyến tiền liệt tại Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

98 BN UPĐLTTL được điều trị bằng phẫu thuật nội soi tại Khoa Phẫu thuật Tiết niệu - Bệnh viện Đa khoa Xanh Pôn từ tháng 6/2021 - 02/2022.

** Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- BN được chẩn đoán UPĐLT TTL.
- BN được điều trị bằng phẫu thuật cắt đốt nội soi.
- Hồ sơ bệnh án đầy đủ thông tin, hợp lệ.

** Tiêu chuẩn loại trừ:*

- UPĐLT TTL đi kèm với các nguyên nhân khác gây tắc nghẽn đường tiết niệu dưới (hẹp niệu đạo, u bàng quang sát cổ bàng quang, hẹp bao quy đầu...).
- UPĐLT TTL tái phát sau can thiệp ngoại khoa hoặc ít xâm lấn.
- Hồ sơ bệnh án thiếu thông tin hợp lệ.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu mô tả cắt ngang, không đối chứng.

** Cỡ mẫu nghiên cứu:* Được xác định theo phương pháp thuận tiện là tất cả các BN đảm bảo đủ các tiêu chuẩn trong thời gian nghiên cứu.

** Các chỉ tiêu nghiên cứu:*

- Đánh giá mức độ rối loạn tiểu tiện qua thang điểm quốc tế triệu chứng tuyến tiền liệt - IPSS (International Prostate Symptom Score).

- Đánh giá sự ảnh hưởng của rối loạn tiểu tiện lên CLCS của BN dựa trên thang điểm:

- + Từ 0 đến 2: Mức độ ảnh hưởng nhẹ.
- + Từ 3 đến 4: Mức độ ảnh hưởng trung bình.
- + Từ 5 đến 6: Mức độ ảnh hưởng nặng.

- Đánh giá chức năng cương dương qua chỉ số IIEF (International Index of Erectile Function). Phân loại mức độ rối loạn cương dương theo các mức tổng điểm sau:

- Biến chứng sau mổ: Chảy máu sau mổ, hội chứng nội soi, nhiễm khuẩn, bí đái cấp, đái rỉ sau mổ, hẹp niệu đạo: Sau rút sonde đái rất khó khăn, phải nong niệu đạo, Điểm IPSS, QoL.

- Đánh giá sự cải thiện IPSS sau phẫu thuật từ 6 - 12 tháng:

+ Điểm trung bình IPSS tại các thời điểm nghiên cứu.

+ Tỷ lệ (%) giảm IPSS:

$$\%IPSS_{\text{cải thiện}} = \frac{IPSS_{\text{trước PT}} - IPSS_{\text{sau PT}}}{IPSS_{\text{trước PT}}} \times 100\%$$

+ Đánh giá hiệu quả điều trị theo tỷ lệ $IPSS_{\text{sau PT}} / IPSS_{\text{trước PT}}$.

- Đánh giá sự cải thiện điểm QoL sau phẫu thuật từ 6 - 12 tháng:
- + Điểm QoL trung bình tại các thời điểm nghiên cứu.
- + Tính tỷ lệ (%) giảm QoL:

$$\%QoL_{\text{cải thiện}} = \frac{QoL_{\text{trước PT}} - QoL_{\text{sau PT}}}{QoL_{\text{trước PT}}} \times 100\%$$

- + Đánh giá hiệu quả điều trị theo hiệu số $QoL_{\text{trước PT}} - QoL_{\text{sau PT}}$.
- Đánh giá chức năng cương dương qua chỉ số IIEF thời điểm 6 tháng và 12 tháng sau phẫu thuật.
- Đánh giá tỷ lệ biến chứng xa sau phẫu thuật: Hẹp niệu đạo sau phẫu thuật, tiểu không kiểm soát, xuất tinh ngược dòng.

* *Thu thập và xử lý số liệu:*

- Số liệu được thu thập từ bệnh án, qua hỏi bệnh và phỏng vấn từ xa.
- Quản lý số liệu bằng phần mềm Excel 2011.
- Xử lý số liệu bằng phần mềm SPSS 20.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung

- Tuổi trung bình $75,5 \pm 3,62$, cao nhất 95 tuổi, thấp nhất 55 tuổi.
- Thời gian mắc bệnh trung bình: $31,08 \pm 6,62$ tháng.
- Trọng lượng u tuyến tiền liệt trung bình $64,2 \pm 11,6$ gram.
- Bảng điểm ISPP trước phẫu thuật là: $27,3 \pm 2,8$.
- Bảng điểm CLCS trước phẫu thuật là: $5,2 \pm 0,7$.
- Bảng điểm IIEF trước phẫu thuật là: $17,8 \pm 5,8$.

Bảng 1: Biến chứng trong vòng 1 tháng kể từ khi ra viện.

Biến chứng	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
Hẹp niệu đạo màng	3	3,1
Đái rỉ tạm thời	3	3,1
Xuất tinh ngược dòng	4	4,1
Tổng	10	10,2

Bảng 2: Tỷ lệ cải thiện trung bình của IPSS tại các thời điểm sau phẫu thuật so với trước phẫu thuật.

Thời điểm	Số BN (n)	IPSS trung bình	Tỷ lệ cải thiện trung bình (%)	p
Trước phẫu thuật	98	27,3 ± 2,9		
Sau phẫu thuật 1 tháng	90	7,6 ± 3,3	72,1 ± 11,6	0,0001
Sau phẫu thuật 6 tháng	73	5,1 ± 2,1	81,2 ± 8,1	
Sau phẫu thuật 12 tháng	44	4,6 ± 1,8	83,3 ± 6,4	

So sánh theo từng cặp giữa IPSS trung bình trước phẫu thuật lần lượt với IPSS trung bình tại các thời điểm sau phẫu thuật, cùng số BN tương ứng. Điểm IPSS trung bình tại các thời điểm sau phẫu thuật 1 - 6 - 12 tháng lần lượt là 7,6 - 5,1 - 4,6 thấp hơn rõ rệt so với IPSS trung bình trước phẫu thuật (27,3) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$; với tỷ lệ cải thiện IPSS trung bình lần lượt là 72,1% - 81,2% - 83,3%.

Bảng 3: So sánh mức độ điểm CLCS trước và sau phẫu thuật.

Điểm CLCS	Trước phẫu thuật		Sau phẫu thuật 1 tháng		Sau phẫu thuật 6 tháng		Sau phẫu thuật 12 tháng	
	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)	Số BN (n)	Tỷ lệ (%)
0 - 2 (nhẹ)	0	0	83	92,2	73	100	44	100
3 - 4 (vừa)	23	23,5	7	7,8	0	0	0	0
5 - 6 (nặng)	75	76,5	0	0	0	0	0	0
Tổng	98	100	90	100	73	100	44	100

Trước phẫu thuật, 76,5% BN có CLCS ở mức độ nặng và 23,5% BN có CLCS ở mức độ vừa. Sau phẫu thuật, không có BN nào CLCS ở mức độ nặng. Tỷ lệ BN có điểm CLCS mức độ nhẹ/vừa sau 1 tháng là 92,2% và 7,8%; sau 6 tháng và sau 1 năm 100% BN có CLCS ở mức độ nhẹ.

Bảng 4: Tỷ lệ cải thiện trung bình của CLCS tại các thời điểm sau phẫu thuật so với trước phẫu thuật.

Thời điểm	Số BN (n)	QoL trung bình	Tỷ lệ cải thiện trung bình (%)	p
Trước phẫu thuật	98	$5,2 \pm 0,7$		
Sau phẫu thuật 1 tháng	90	$1,4 \pm 0,7$	$72,8 \pm 14,3$	0,0001
Sau phẫu thuật 6 tháng	73	$0,88 \pm 0,5$	$82,4 \pm 11,3$	
Sau phẫu thuật 12 tháng	44	$0,8 \pm 0,4$	$84,3 \pm 8,4$	

So sánh theo từng cặp giữa CLCS trung bình trước phẫu thuật lần lượt với CLCS trung bình ở các thời điểm sau phẫu thuật, cùng số BN tương ứng. Điểm CLCS trung bình tại các thời điểm sau phẫu thuật 1 - 6 - 12 tháng lần lượt là 1,4 - 0,88 - 0,8 thấp hơn rõ rệt so với điểm CLCS trung bình trước phẫu thuật (5,2), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Tỷ lệ cải thiện CLCS trung bình lần lượt là 72,8% - 82,4% - 84,3%.

Bảng 5: Mức độ rối loạn cương dương theo thang điểm IIEF.

Thời điểm	Số BN (n)	Điểm IIEF trung bình	p
Trước phẫu thuật	55	$17,8 \pm 5,8$	
Sau phẫu thuật 1 tháng	55	$12,18 \pm 6,4$	0,021
Sau phẫu thuật 6 tháng	53	$12,51 \pm 7,11$	0,12
Sau phẫu thuật 12 tháng	40	$12,9 \pm 7,1$	0,14

Điểm trung bình IIEF của BN trước điều trị là $17,8 \pm 5,8$ điểm, kết quả sau điều trị 1 tháng là $12,18 \pm 6,4$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,021$.

BÀN LUẬN

Mục đích của việc điều trị UPĐLTTL là trả lại chức năng đi tiểu bình thường cho BN. Điều này được đánh giá dựa vào sự cải thiện triệu chứng sau phẫu thuật, bao gồm sự cải thiện triệu chứng chủ quan được đánh giá dựa vào thang điểm IPSS của Tổ chức Y tế Thế giới và sự cải thiện triệu chứng khách quan được đánh giá chủ yếu dựa vào cung lượng nước tiểu trung bình và tối đa.

Theo tổng kết của EAU năm 1997, sự cải thiện triệu chứng sau phẫu thuật là rất sớm. 90% BN cải thiện triệu chứng sau 1 tháng, sự cải thiện đạt mức tối đa là sau 3 tháng [1, 3].

1. Cải thiện triệu chứng chủ quan

Kết quả nghiên cứu cho thấy, cải thiện IPSS khác nhau giữa các nghiên cứu. Mức độ cải thiện thấp nhất là trong nghiên cứu của Robert G. tại thời điểm sau 1 tháng (40%), và cao nhất là nghiên cứu của Ahmad M. (sau 3 tháng) là 89% [2, 7]. Sự cải thiện IPSS có xu hướng tăng lên theo thời gian, hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy tỷ lệ cải thiện IPSS cao nhất đạt được thường ở thời điểm 3 tháng hoặc 6 tháng sau phẫu thuật. Nghiên cứu này cũng phù hợp với kết quả của các tác giả khác: Sau 1 tháng, tỷ lệ cải thiện IPSS là 72,1% và ổn định sau 6 tháng - 12 tháng với tỷ lệ lần lượt là 81,2% và

83,3%, điểm IPSS trung bình tại các thời điểm sau phẫu thuật khác biệt có ý nghĩa thống kê so với điểm IPSS trung bình trước phẫu thuật. Trước phẫu thuật 100% các BN có IPSS ở mức độ nặng; sau phẫu thuật, không có trường hợp nào IPSS còn ở mức độ nặng; tỷ lệ BN có điểm IPSS mức độ vừa và nhẹ sau 1 - 6 - 12 tháng tương ứng lần lượt là 49% - 51% - 13,7% và 86,3% - 6,8% - 93,2%.

Như vậy, có thể nhận định rằng sự cải thiện điểm IPSS đạt tỷ lệ cao nhất và ổn định sau 3 tháng. Điều này cũng hợp lý vì hóc tuyến tiền liệt cần 4 - 8 tuần sau phẫu thuật mới có thể được biểu mô phủ hoàn toàn. Trong khoảng thời gian trên, BN vẫn có thể còn một số triệu chứng khó chịu như đái buốt, đái rắt. Sau đó, nếu không có diễn biến bất thường, tình trạng tiểu tiện sẽ dần thông thoáng và thoải mái.

2. Cải thiện về điểm CLCS

Điểm CLCS ít được các tác giả quan tâm hơn so với điểm IPSS trong đánh giá hiệu quả điều trị. Có lẽ là vì điểm CLCS được đánh giá chỉ với một câu hỏi duy nhất, hoàn toàn phụ thuộc và cảm xúc, tâm lý của BN. Tuy vậy, hướng dẫn của các Hội Nội khoa trên thế giới và của Việt Nam (VUNA), cũng như theo ICBPH 5th, đều coi CLCS là một chỉ số quan trọng để đánh giá mức độ bệnh và hiệu quả điều trị sau phẫu thuật [1, 3, 7].

Điểm CLCS trung bình trước phẫu thuật của nghiên cứu này là 5,2; trong đó 76,5% ở mức độ nặng. Như vậy, tình trạng rối loạn tiểu tiện đã ảnh hưởng nặng nề tới CLCS của các BN trong nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu cho thấy CLCS của BN sau phẫu thuật cải thiện rõ rệt. Sau phẫu thuật 1 tháng, không có BN nào có điểm CLCS ở mức độ nặng; mức độ vừa và nhẹ lần lượt là 6,9% và 93,1%; sau 6 tháng và sau 1 năm, 100% BN có điểm CLCS mức độ nhẹ.

3. Tình trạng rối loạn cương dương sau phẫu thuật

Rối loạn cương dương sau điều trị là tình trạng có thể gặp trong các can thiệp ngoại khoa điều trị tăng sinh lành tính tuyến tiền liệt. Có nhiều yếu tố liên quan đến rối loạn cương dương như: Tuổi, tình trạng bệnh tật trong đó bản thân các rối loạn tiểu tiện trong bệnh tăng sinh lành tính tuyến tiền liệt cũng gây nên rối loạn cương dương, sang chấn tâm lý sau các thủ thuật can thiệp ngoại khoa điều trị tăng sinh lành tính tuyến tiền liệt.

Các BN được đánh giá rối loạn cương dương bằng bảng điểm quốc tế rối loạn cương dương IIEF-5 tại các thời điểm trước điều trị, sau 1 tháng - 6 tháng - 12 tháng. Kết quả nghiên cứu trước điều trị điểm trung bình thang điểm IIEF-5 là $17,8 \pm 5,8$; sau 1 tháng: $12,18 \pm 6,4$; sau 6 tháng: $12,51 \pm 7,11$;

sau 12 tháng: $12,9 \pm 7,01$. Sau điều trị 1 tháng, điểm số trung bình bảng điểm IIEF-5 giảm nhẹ, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Sau 6 tháng và 12 tháng, sự thay đổi điểm số trung bình bảng điểm IIEF-5 không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Phân tích nhóm rối loạn cương dương nhẹ và không bị rối loạn cương dương theo kết quả nghiên cứu trước điều trị có 29/55 BN trong nhóm này, điểm số thang điểm IIEF-5 là $19,25 \pm 1,61$; sau 1 tháng: $17,09 \pm 1,41$; sau 6 tháng: $17,38 \pm 1,76$; sau 12 tháng: $17,43 \pm 1,58$. Sau điều trị 1 tháng điểm số trung bình thang điểm IIEF-5 giảm nhẹ, có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Sau 6 tháng và 12 tháng, sự thay đổi điểm số trung bình bảng điểm IIEF-5 của nhóm này không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Nghiên cứu của Chen Q và CS (2015) thì sự thay đổi bảng điểm IIEF-5 là tương đương (điểm trước điều trị: $11 \pm 6,5$, sau điều trị 1 tháng: 10 ± 4 , sau điều trị 3 tháng: 10 ± 4 , sau điều trị 6 tháng: 12 ± 3 , sau điều trị 12 tháng: 13 ± 2) [3].

4. Biến chứng xa sau phẫu thuật

** Hẹp niệu đạo:*

Biến chứng hẹp niệu đạo sau phẫu thuật gặp khá thường xuyên trong các nghiên cứu, với tỷ lệ từ 0,9 - 7,5%. Vị trí hẹp thường gặp ở niệu đạo hành, thời điểm phát hiện cũng rất khác nhau.

Nghiên cứu của Botto H. (2001) có 2 BN hẹp niệu đạo hành phát hiện 1 tháng sau phẫu thuật và được điều trị bằng nội soi xẻ niệu đạo [4]; Kaya C. (2007) có 1 BN hẹp niệu đạo hành sau 3 năm theo dõi và Nuhoglu B. (2011) có 1 BN hẹp niệu đạo sau 3 tháng cũng điều trị hẹp niệu đạo bằng nội soi xẻ niệu đạo [5].

Nghiên cứu của Otsuki H. gặp 8 BN hẹp niệu đạo (7,5%; bao gồm 4 BN hẹp miệng sáo, 3 BN niệu đạo hành và 1 BN ở niệu đạo dương vật, phát hiện sau 1 tháng đến sau 4 tháng, điều trị bằng nong niệu đạo) [6].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi gặp 3 BN hẹp niệu đạo màng, trong đó có 2 BN phát hiện sau 1 tháng và được nong niệu đạo, BN còn lại phát hiện sau 11 tháng, được nội soi xẻ niệu đạo.

** Đái rĩ tạm thời:*

Đái rĩ là một biến chứng tệ hại nhất của phẫu thuật nội soi. Nó làm ảnh hưởng rất lớn tới cuộc sống sinh hoạt và lao động của BN. Nguyên nhân của hiện tượng này do cơ thắt vân hoạt động chưa hiệu quả sau khi rút sonde, BN bị rĩ nước tiểu khi vận động và đặc biệt là khi gắng sức. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có 3 BN có biểu hiện đái rĩ tạm thời ở thời điểm theo dõi sau phẫu thuật 6 tháng (3,1%).

Để đề phòng biến chứng này, cần phải hết sức thận trọng khi cắt và đốt

cầm máu xung quanh ụ núi. Tuyệt đối tôn trọng giới hạn dưới của quá trình cắt đốt, đó là ụ núi. Đối với một cơ sở có nhiều phẫu thuật viên, chỉ nên kết thúc cuộc phẫu thuật bằng các phẫu thuật viên đã có kinh nghiệm.

Hiện nay, cách xử trí biến chứng đái rĩ vẫn còn rất nan giải. Trên thế giới, việc sử dụng cơ thắt nhân tạo đang được ứng dụng rộng rãi để điều trị các loại đái rĩ sau phẫu thuật u tuyến tiền liệt. Các biện pháp khác như bơm Silicon ít có giá trị. Đối với các BN còn sót u, thì phải tiến hành cắt lại, đặc biệt phải chống nhiễm khuẩn thật tốt cho BN.

** Xuất tinh ngược dòng:*

Xuất tinh ngược là tình trạng rối loạn xuất tinh mà trong quá trình giao hợp bình thường khi đạt cực khoái, tinh dịch thay vì được phóng ra bên ngoài cơ quan sinh dục nam, thì lại xuất ngược vào bên trong bàng quang, sau đó đi ra bên ngoài theo con đường nước tiểu. Sau khi giao hợp, đi tiểu thấy nước tiểu có lẫn những lợn cợn màu trắng đục.

Nguyên nhân gây xuất tinh ngược là do tổn thương các sợi thần kinh giao cảm trung gian vùng cổ bàng quang và cơ thắt tuyến tiền liệt, khiến cho các cơ vòng ở vùng này bị mất khả năng co thắt, đây là một biến chứng thường gặp sau phẫu thuật cắt UPĐLTTL.

Kết quả nghiên cứu cho thấy có 4 BN sau phẫu thuật được phỏng vấn ghi nhận có biến chứng xuất tinh ngược dòng, đây là những BN còn nhu cầu quan hệ tình dục, có biểu hiện xuất tinh ngược dòng đã đi khám và được chẩn đoán tại các trung tâm nam khoa.

KẾT LUẬN

Đánh giá kết quả xa của 98 BN được phẫu thuật cắt UPĐLTTLTTL nội soi cho thấy biến chứng sau phẫu thuật: Hẹp niệu đạo 3,1%, sỏi rỉ tạm thời 3,1%, xuất tinh ngược dòng 4,1%; Điểm IPSS trung bình sau mổ 1 tháng, 6 tháng và 12 tháng lần lượt là: $7,6 \pm 3,3$; $5,1 \pm 2,1$ và $4,6 \pm 1,8$; Chỉ số CLCS trung bình sau mổ 1 tháng, 6 tháng và 12 tháng lần lượt là: $1,4 \pm 0,7$; $0,88 \pm 0,5$ và $0,8 \pm 0,4$; Điểm IIEF trung bình sau mổ 1 tháng, 6 tháng và 12 tháng lần lượt là: $12,18 \pm 5,8$; $12,51 \pm 7,11$ và $12,9 \pm 7,1$.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hội Tiết niệu-Thận học Việt Nam (2019). Hướng dẫn xử trí tăng sinh lành tính tuyến tiền liệt, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
2. Ahmad M., Khan H., Aminullah, Masood I., Masood W., Malik A. (2016). Comparison of bipolar and monopolar cautery use in turp for

treatment of enlarged prostate. *J Ayub Med Coll Abbottabad*; 28(4): 758-761.

3. Chen Q., Zhang L., Liu Y.J., Lu J.D., Wang G.M. (2009). Bipolar transurethral resection in saline system versus traditional monopolar resection system in treating large - volume benign prostatic hyperplasia. *Urol Int*; 83(1): 55-59.

4. Botto H., Lebreton T., Barré P., Orsoni J.L., Hervé J.M., Lugagne P.M. (2001). Electrovaporization of the prostate with the Gyrus device. *J Endourol*; 15(3): 313-316.

5. Kaya C., Yuen K.K.S., Ng C.M., Cheng C.H., Chu S.K.P. (2017). Metabolic syndrome and benign prostatic hyperplasia: An update. *Asian J Urol*; 4(3): 164-173.

6. Otsuki H., Reissigl A., Schwab C., et al. (2013). Bipolar versus monopolar transurethral resection of the prostate: Results of a comparative, prospective bicenter study - perioperative outcome and long-term efficacy. *Urol Int*; 90(1): 62-67.

7. Robert G., Descaseaud A., Delongchamps N.B., et al. (2012). Transurethral plasma vaporization of the prostate: 3-month functional outcome and complications. *BJU Int*; 110(4): 555-560.

EVALUATION OF MEMBRANE AND SOLUBLE PD-L1
EXPRESSION IN ADVANCED-STAGE NON-SMALL
CELL LUNG CANCER PATIENTS

*Pham Thi Kim Nhung¹, Ta Ba Thang¹, Do Quyet²
Dao Ngoc Bang¹, Nguyen Thanh Tung¹, Dong Phu Cau¹*

Summary

Objectives: To evaluate membrane and soluble PD-L1 expression in advanced-stage non-small cell lung cancer (NSCLC) patients. **Subjects and methods:** A prospective, cross-sectional study on 50 advanced-stage NSCLC patients treated at the Respiratory Center, Military Hospital 103 from January to September 2019; the control group consists of 30 normal people who had personal periodic health examination at the Outpatient Department, Military Hospital 103. Membrane PD-L1 (mPD-L1) expression assay was carried out applying immunohistochemistry on cancer tissue samples, using PD-L1 73 - 10 antibody. The serum level of soluble PD-L1 (sPD-L1) was measured using the ELISA technique. **Results:** 62% of lung cancer tissue samples were positive for mPD-L1 (TPS $\geq$ 1%), of which 51.6% were highly positive and 48.4% low positive. The concentration of sPD-L1 in NSCLC group was significantly higher than that of the control group (2.11 ± 1.48 and 0.73 ± 0.57 ng/mL; $p < 0.001$). sPD-L1 concentration in the mPD-L1 negative group (1.61 ± 1.37 ng/mL) was statistically significantly lower than that in the mPD-L1 positive group (2.42 ± 1.49 ng/mL) ($p = 0.03$). At the cut-off value of 1.815 ng/mL, sPD-L1 had a diagnostic value for mPD-L1 positive with a sensitivity of 65% and specificity of 68%, area under the curve was 0.678 (95% CI: 0.521 - 0.835; $p = 0.036$). **Conclusion:** The rate of mPD-L1 positive expression in NSCLC tissue was 62%. The concentration of sPD-L1 in NSCLC patients was significantly higher than that in the control group. No significant relationship was found between the two forms of PD-L1 expression.

* *Keywords:* Non-small cell lung cancer (NSCLC); Membrane-bound programmed death ligand - 1 (mPD-L1); Soluble programmed death ligand - 1 (sPD-L1).

¹Military Hospital 103

²Military Medical University

Corresponding author: Pham Thi Kim Nhung (khanhnhu106@gmail.com)

Date received: 15/12/2022

Date accepted: 29/12/2022

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.236>

INTRODUCTION

Lung cancer is one of the leading malignant diseases with high incidence, high mortality, and poor prognosis in the world. According to the statistics of the World Health Organization, cancer was the leading cause of death worldwide, accounting for nearly 10 million deaths in 2020, or nearly one in six deaths, in which death from lung cancer ranked first with 1.8 million cases. Many studies showed that more than two-thirds of lung cancer patients were diagnosed when the disease was at the late stage. PD-1/PD-L1 targeted treatment is a novel immunotherapy that has been proven effective in NSCLC patients. PD-L1 (programmed death ligand - 1) is a type 1 transmembrane protein, belonging to the B7 ligand family, that binds to the PD-1 receptor - expressed on the surface of activated T lymphocytes. The interaction of the PD-1 and PD-L1 transmits an immunosuppressive signal to the T cells, resulting in an "inactivated" state of the T cells. Among the ligands of the B7 family, PD-L1 is the most studied in NSCLC. Many studies and clinical trials have demonstrated that PD-L1 expression in tumor tissue was an important key for selecting PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitor therapy.

There are two forms of PD-L1: Membrane-bound PD-L1 (mPD-L1), mainly determined on tumor cell membranes, and soluble PD-L1 (sPD-L1) found in peripheral blood. Many studies have demonstrated that high mPD-L1 expression in tumor tissue is associated with a short survival time in cancer patients [1, 2]. Similarly, it was suggested that sPD-L1 in peripheral blood could also bind to the PD-1 receptor on T cells, reducing the antitumor activity of T cells. Therefore, our study was conducted with the following objectives: *To evaluate membrane and soluble PD-L1 expression in advanced-stage non-small cell lung cancer patients.*

SUBJECTS AND METHODS

1. Subjects

The patient group was 50 advanced-stage non-small cell lung cancer treated at Military Hospital 103 from January to September 2019.

* *Selection criteria:* Patients who were confirmed diagnosed with NSCLC by histopathology and immunohistochemistry assay agreed to participate in the study.

* *Exclusion criteria:* Patients who had been treated, had autoimmune diseases, immunodeficiency, co-morbidity with other organ cancers, and used immunosuppressive drugs or corticosteroids within 1 month.

The control group consists of 30 normal people who had personal periodic health examinations at the Outpatient Department, Military Hospital 103.

2. Methods

* *Study design:* A prospective, descriptive study.

Membrane PD-L1 assay was conducted on cancer tissue samples applying immunohistochemistry technique using PD-L1 antibody 73 - 10. The results were calculated by the Tumor Proportion Score (TPS), which is the percentage of tumor cells that picked up color after being stained. mPD-L1 was positive if $TPS \geq 1\%$, negative if $TPS < 1\%$, high positive if $TPS \geq 50\%$ and low positive if $TPS < 50\%$.

Soluble PD-L1 expression was measured on serum samples separated from peripheral blood samples, based on the ELISA method, using SEA788HU Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) Kit For Programmed Cell Death Protein 1 Ligand (PDL1), Lot L190410338 and Lot L210517534, from Cloud-Clone Corp. The measurement unit is ng/mL.

Using the 7th TNM classification for lung cancer staging.

* *Data processing:* The data were analyzed using IBM SPSS Statistics 28.0.

RESULTS

* *General characteristics of the study group:*

Our study was conducted on 50 NSCLC patients and 30 normal people with average ages of 67.14 ± 13.08 and 61.23 ± 15.85 , respectively; the male and female ratio is 38/12 and 14/16, respectively.

There were 39/50 cancer patients (78%) diagnosed with stage IV according to the 7th TNM classification. The predominant histopathological type was adenocarcinoma (68%). EGFR mutation test was performed in 29/50 samples (58%). The mutation rate was 9/29 (31.03%), of which 3 mutation sites were exon 18 (1/9), 19 (6/9), and exon 21 (2/9).

Table 1: Characteristics of disease stage, histopathology, and EGFR mutation.

Characteristics	n (%)
Stage:	
IIIB	11 (22)
IV	39 (78)
Histopathology:	
Adenocarcinoma	34 (68)
Squamous cell	12 (24)
Adenosquamous cell	4 (8)
EGFR mutation	9/29 (31.03)

** Membrane PD-L1 expression:*

An immunohistochemistry assay was performed on the tumor tissues of 50 NSCLC patients to determine the level of membrane PD-L1 expression. The result showed that 19/50 samples (38%) were negative with TPS < 1%; 31/50 samples (62%) were positive (TPS ≥ 1%). The degree of positivity was calculated by TPS, of which 16/31 (51.6%) showed high positivity (≥ 50%) and 15/31 (48.4%) showed low positivity (< 50 %).

** Soluble PD-L1 expression:*

Table 2: Comparison of mean sPD-L1 concentration between 2 study groups.

	NSCLC	Control group
Number (n)	50	30
X ± SD (ng/mL)	2.11 ± 1.48	0.73 ± 0.57
Min - max	0.24 - 5.56	0.25 - 2.48
p	p < 0.001	

sPD-L1 concentration in NSCLC group was 2.11 ± 1.48 ng/mL (minimum 0.24; maximum 5.56 ng/mL), significantly higher than that in the control group (0.73 ± 0.57 ng/mL) (p < 0.001).

** The relationship between the membrane and soluble PD-L1:*

Table 3: Comparison of mean sPD-L1 concentration by subgroup mPD-L1.

mPD-L1	Number (Rate)	Mean sPD-L1 concentration (ng/mL)	p
Positive	31/50 (62%)	2.42 ± 1.49	0.03
Negative	19/50 (38%)	1.61 ± 1.37	
High positive	16/31 (51.61%)	2.23 ± 1.41	0.23
Low positive	15/31 (48.39%)	2.61 ± 1.59	

sPD-L1 concentration in the mPD-L1 positive group (2.42 ± 1.49 ng/mL) was significantly higher than in the mPD-L1 negative group (1.61 ± 1.37 ng/mL) (p = 0.03). However, there was no significant difference in sPD-L1 value between the high and low mPD-L1 positive group (2.23 ± 1.41 vs. 2.61 ± 1.59; p = 0.23).

There was no significant correlation between sPD-L1 and mPD-L1 ($r = 0,085$; $p = 0,559$). Figure 1 shows a scatter plot of sPD-L1 and mPD-L1.

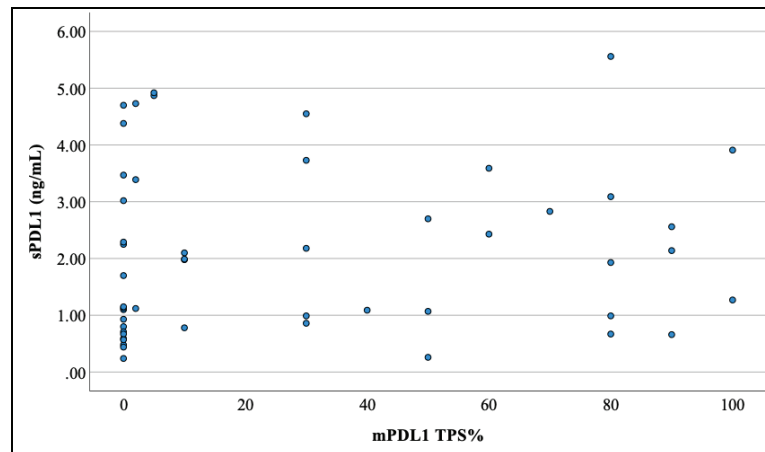


Figure 1: Scatter plot of sPD-L1 and mPD-L1.

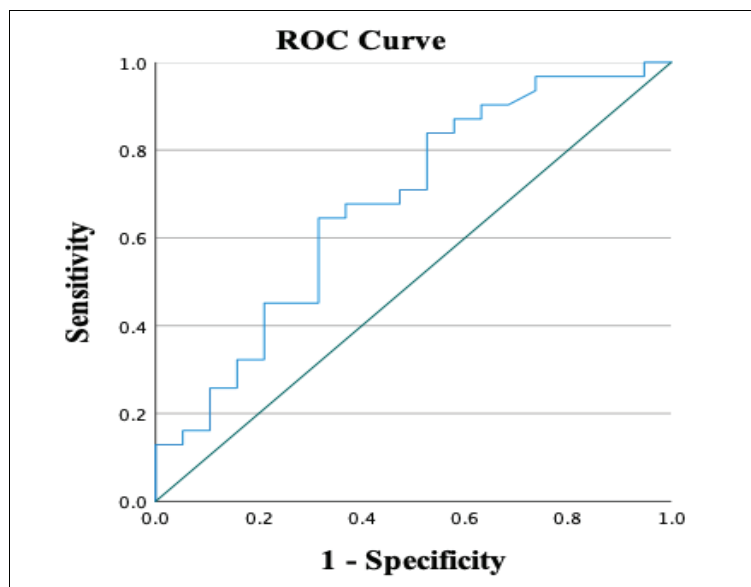


Figure 2: ROC analysis of the diagnostic value of sPD-L1 for mPD-L1 expression status.

ROC analysis showed that: At the cut-off value of 1.815 ng/mL, sPD-L1 had a diagnostic value for mPD-L1 positive with a sensitivity of 65% and specificity of 68%, area under the curve was 0.678 (95% CI: 0.521 - 0.835; $p = 0.036$). sPD-L1 had poor value in determining mPD-L1 expression status.

DISCUSSION

** Membrane PD-L1 expression on tumor tissue:*

Among the 50 studied patients, mPD-L1 expression was positive in 31/50 tissue samples (62%). The high and low mPD-L1 expression rates ($\geq 50\%$ and $< 50\%$) were 15/31 (48.4%) and 16/31 (51.6%), respectively.

The rate of mPD-L1 positive fluctuated depending on the studies, objectives and the type of PD-L1 antibody used in the immunohistochemistry technique. In a series of CheckMate clinical trials, the PD-L1 antibody was 28-8. Clinical trial CheckMate 057 - phase 3, randomized, open-label, multinational trial in non-squamous NSCLC patients progressed during or after platinum-based chemotherapy, comparing the efficacy of Nivolumab with Docetaxel, the mPD-L1 positive rate was 455/582 (78%) [3]. The CheckMate 017 trial compared the efficacy of Nivolumab with Docetaxel in patients with stage IIIB or IV squamous cell lung cancer progressed after first-line platinum-based chemotherapy, the mPD-L1 positive rate was 225/272 (83%) [4]. This rate was 70% in the CheckMate 012 trial [5].

The TPS was evaluated by consensus with two thresholds, $TPS \geq 1\%$ (positive) and $TPS < 1\%$ (negative), despite using

different PD-L1 monoclonal antibodies. It was divided into two subgroups in a positive group with cut-off points $\geq 50\%$ and $< 50\%$. In CheckMate 057 and CheckMate 017 trials, with a large number of enrolled patients, the authors also analyzed mPD-L1 TPS with some smaller cut-off points, such as $\geq 5\%$ and $< 5\%$; $\geq 10\%$ and $< 10\%$ [3, 4]. Our study used the PD-L1 antibody 73 - 10, which was the same antibody used in the JAVELIN Lung 100 and JAVELIN Lung 200 clinical trials with the mPD-L1 positive rate was 56.4% and 66%, respectively. The rates were also quite similar and tended to be high as approximately 60%.

Currently, immunotherapy targeting PD-1/PD-L1 pathway is one of the new and effective approaches in NSCLC treatment. In Vietnam, the immune checkpoint inhibitor PD-1/PD-L1 has been approved by the Ministry of Health for NSCLC treatment. Therefore, mPD-L1 assay has been deployed in medical facilities with immunohistochemical testing systems. This is an important basis for the indications of PD-1/PD-L1 immune checkpoint inhibitor drugs. However, this is a new assay with limited data and scientific evidence. Our study adds small data on a subgroup of patients with advanced-stage NSCLC.

** Soluble PD-L1 expression in peripheral blood:*

Up to now, the expression of PD-L1 in tumor tissue has been proven to be an important key in the indication of immune checkpoint inhibitor PD-1/PD-L1 pathway drugs in cancer treatment. It was also considered a prognostic factor for cancer patients in general and lung cancer in particular. The interaction of PD-L1 with PD-1 (negative regulatory receptor) transmits an inhibitory signal to T lymphocytes, resulting in a T-cell inactivation state. With advances in liquid biopsy techniques, the question is whether the interaction between sPD-L1 and PD-1 is similar to that of mPD-L1 with PD-1; whether the inhibitory signal is introduced with T cells and whether the prognostic significance of mPD-L1 expression in tumor tissue is similar to sPD-L1 expression in peripheral blood? It is an issue that is still being studied and discussed.

There are some initial studies demonstrating the role of sPD-L1 quantitative test in lung cancer, such as a study on 109 advanced NSCLC patients and a control group of 65 healthy people at the Beijing Cancer Hospital from January 2012 to March 2014. It showed that the sPD-L1 concentration in the two groups was 0.723 ± 0.081 ng/mL and $0.565 \pm$

0.048 ng/mL, respectively ($p < 0.001$). The mean overall survival was significantly higher in the low sPD-L1 group than in the high sPD-L1 group (26.8 vs. 18.7 months; $p < 0.001$) [6].

Soluble PD-L1 is also expressed in healthy people's serum and tends to increase with age. The lowest sPD-L1 concentrations were observed in children from 3 - 10 years old (0.725 ± 0.181 ng/mL) and the highest in adults from 51 - 70 years old (1.04 ± 0.681 ng/mL) [7]. In our study, the mean value of sPD-L1 concentration of advanced-stage NSCLC patients was 2.11 ± 1.48 ng/mL ($n = 50$), significantly higher than that in the control group (0.73 ± 0.57 ng/mL) ($p < 0.001$). It was also higher than the average value in healthy adults observed in previous studies [6, 8]. These results were similar to some studies, such as a study conducted by Cheng et al. on 288 NSCLC patients and a control group of 300 people, showing that the concentration of sPD-L1 in the NSCLC group was higher than that in the control group (1.92 ng/mL vs. 0.91 ng/mL; $p < 0.001$) [8]. Studies on sPD-L1 levels in NSCLC patients suggested that sPD-L1 could be used as a tumor marker with increasing sPD-L1 concentration compared with controls.

** The relationship between membrane and soluble PD-L1 expression:*

The sPD-L1 concentration in the mPD-L1 negative group (1.61 ± 1.37 ng/mL) was statistically significantly lower than in the mPD-L1 positive group (2.42 ± 1.49 ng/mL) ($p = 0.03$). In the mPD-L1 positive expression group, when taking the cut-off point of the 50% to divide the high (TPS $\geq 50\%$) and low (TPS $< 50\%$) expression levels, the sPD-L1 concentrations in the two subgroups was non-significantly different (2.23 ± 1.41 ng/mL vs. 2.61 ± 1.59 ng/mL, $p = 0.23$).

Shuji Murakami et al. conducted a study to evaluate the relationship between sPD-L1 and prognosis in 223 patients with advanced or recurrent metastatic NSCLC who were treated with anti-PD-1 immunotherapy from first-line to third-line with pembrolizumab or nivolumab, at National Cancer Center Hospital, Tokyo, Japan from December 1, 2015 to August 31, 2018, showed sPD-L1 levels in 3 mPD-L1 TPS subgroups $< 1\%$; $1 - 49\%$; $\geq 50\%$ were 64.4 ± 17.5 pg/mL, 70.6 ± 18.0 pg/mL, and 77.7 ± 28.9 pg/mL, respectively ($p = 0.0101$), implying that higher TPS corresponds to higher sPD-L1 concentration [9]. In this study, mPD-L1 assay was carried out applying immunohistochemistry technique, using PD-L1 antibody 22C3, and sPD-L1

assay was conducted based on ELISA principle; the patients were also similar to our study.

Adrien Costantini et al. carried out a study to assess the prognostic value of biomarkers on 43 NSCLC patients treated with Nivolumab and found no relationship between sPD-L1 levels and mPD-L1 expression levels. There was no significant difference between sPD-L1 levels in patients with mPD-L1 positive and negative (30.86 pg/mL (IQR: $22.13 - 48.23$) versus 36.68 pg/mL (IQR: $26.10-55.34$); $p = 0.604$) [10].

There was a limited number of simultaneous studies of both mPD-L1 and sPD-L1. The initial result showed a trend towards higher sPD-L1 concentrations in the group with high mPD-L1 expression.

CONCLUSION

62% of lung cancer tissue samples were positive for mPD-L1 (TPS $\geq 1\%$), of which 51.6% were highly positive and 48.4% low positive. The concentration of sPD-L1 in the NSCLC group was statistically significantly higher than that of the control group (2.11 ± 1.48 versus 0.73 ± 0.57 ng/mL; $p < 0.001$). sPD-L1 concentration in the mPD-L1 negative group (1.61 ± 1.37 ng/mL) was statistically significantly lower than in the mPD-L1 positive group (2.42 ± 1.49 ng/mL) ($p = 0.03$).

REFERENCES

1. Jr P.A., Santoro I., et al. (2015). The role of PD-L1 expression as a predictive biomarker in advanced non-small cell lung cancer: A network meta-analysis. *European Journal of Cancer*; 51:S644.
2. Wu P., Wu D., et al. (2015). PD-L1 and Survival in Solid Tumors: A Meta-Analysis. *PLoS One*; 10(6): e0131403.
3. Borghaei H., Paz-Ares L., et al. (2015). Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non-Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*; 373(17): 1627-1639.
4. Brahmer J., Reckamp K.L., et al. (2015). Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer; *N Engl J Med*; 373(2): 123-135.
5. Gettinger S., Rizvi N.A., et al. (2016). Nivolumab Monotherapy for First-Line Treatment of Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*; 34(25): 2980-2987.
6. Zhang J., Gao J., et al. (2015). Circulating PD-L1 in NSCLC patients and the correlation between the level of PD-L1 expression and the clinical characteristics. *Thorac Cancer*; 6(4): 534-538.
7. Chen Y., Wang Q., et al. (2011). Development of a sandwich ELISA for evaluating soluble PD-L1 (CD274) in human sera of different ages as well as supernatants of PD-L1+ cell lines. *Cytokine*; 56(2): 231-238.
8. Cheng S., Zheng J., et al. (2015). PD-L1 gene polymorphism and high level of plasma soluble PD-L1 protein may be associated with non-small cell lung cancer; *Int J Biol Markers*. 30(4): e364-368.
9. Murakami S., Shibaki R., et al. (2020). Association between serum level soluble programmed cell death ligand 1 and prognosis in patients with non-small cell lung cancer treated with anti-PD-1 antibody. *Thorac Cancer*; 11(12): 3585-3595.
10. Costantini A., Julie C., et al. (2018). Predictive role of plasmatic biomarkers in advanced non-small cell lung cancer treated by nivolumab; *Oncoimmunology*; 7(8): e1452581.

EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS
OF STEREOTACTIC BIOPSY OF SUPRATENTORIAL TUMORS
AT MILITARY HOSPITAL 103

*Nguyen Thanh Bac¹, Hoang Manh Linh¹
Tran Manh Cuong¹, Pham Ngoc Hao¹*

Summary

Objectives: To evaluate the histological diagnostic results using stereotactic biopsy of supratentorial tumors at Military Hospital 103. **Subjects and methods:** A retrospective cross-sectional study on 9 stereotactic biopsies of supratentorial tumors at Military Hospital 103 from 6/2021 - 9/2022. **Results:** 9 patients in the study included 5 men and 4 women, aged from 29 to 79 years old. The clinical features were dominated by headache (77%), hemiplegia (22.2%), and epilepsy (11.1%). The deep lesions (capsula interna lesions and thalamic lesions) were 44.4%. The histological diagnostic accuracy rate was 88.9%. Histological types include low-grade astrocytoma (44.4%), high-grade astrocytoma (11.1%), oligodendroglioma (11.1%), lymphoma (22.2%), metastatic carcinomas (0%), and brain tissue (11.1%). The mortality rate was 0%. **Conclusion:** Stereotactic biopsy of supratentorial tumors is a safe procedure that provides a very accurate histological diagnostic result with a low incidence of complications and mortality rate.

** Key words: Biopsy; Stereotactic biopsy; Brain tumor; Supratentorial.*

INTRODUCTION

Today, with the development of imaging tools, especially computed tomography and magnetic resonance imaging, the number of patients with brain disease, who want to have a better treatment, is increasing. The choice of treatment method and

prognosis of a disease depends on the nature of the lesion. The nature of the lesion is the result of histopathology from a brain tumor, which is the "gold standard" for diagnosis. Nowadays, brain tumor biopsy can be performed by craniotomy or stereotactic biopsy. A craniotomy is easily performed for the lesions of the brain surface.

¹ Military Hospital 103, Military Medical University

Corresponding author: Pham Ngoc Hao (phamngochao12081996@gmail.com)

Date received: 16/12/2022

Date accepted: 01/01/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i1.230>

However, for lesions in deep or functional brain locations, it is difficult to obtain tissue samples accurately without causing damage. Besides, brain tumor biopsies under neurogenic positioning are minimally invasive, relatively safe surgery with high histological accuracy and a very low mortality and complication rate. Our study was conducted: *To evaluate the results of histopathological diagnosis and the rate of complications of stereotactic brain biopsy at Military Hospital 103.*

SUBJECTS AND METHODS

1. Subjects

9 patients treated at Military Hospital 103 from 6/2021 - 9/2022,

2. Clinical and visual symptoms

who had brain tumor with clinical and visual symptoms. They were operated on by frameless stereotactic brain biopsy.

2. Methods

The study followed a retrospective cross-sectional method.

Data were processed using SPSS 20.

RESULTS

1. Age and sex

There were 5 males and 4 females in the study. The rate of male/female is 1.25.

The youngest is 29 years old, and the oldest is 79 years old. Most patients are in the age group of 40 - 60, accounting for 5/9 (55.5%).

Table 1: Clinical and visual symptoms.

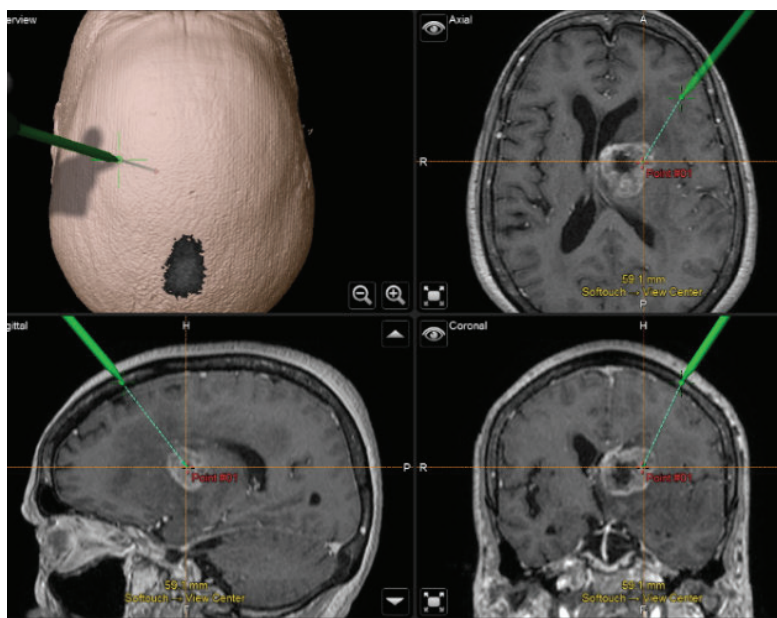
		Number of cases	Percentage
Clinical symptoms	Headache	7	77.8
	Epilepsy	1	11.1
	Hemiplegia	2	22.2
	Aphasia	1	11.1
	Consciousness	2	22.2
Location of brain tumor	Frontal	2	22.2
	Temporal	2	22.2
	Parietal	1	11.1
	Thalamus	3	33.4
	Capsula interna	1	11.1

The clinical symptoms of patients are quite diverse. In which, headache symptoms have 7/9 cases, accounting for 77.8%. There are 2/9 cases of hemiplegia. In addition, 1/9 of cases have epilepsy and aphasia.

Patient status before surgery was based on the Glasgow coma scale. There were 7 patients with a Glasgow

coma score of 15, only 1 patient score of 14, and 1 patient score of 13.

The majority of cases were deeply located in the brain. There were 4 patients who had tumors in the thalamus and capsula interna region, accounting for 44.4%. Tumors in the frontal lobe were 2/9 cases, the temporal lobe was 2/9 cases and the parietal was 1/9 cases.



Picture 1: Brain tumor biopsy in the left thalamus.

(Source: Photo taken at the operating room of Military Hospital 103)

3. Result of surgery

* Anesthesia methods and surgical time: All patients received endotracheal anesthesia (100%). The average surgery time was 61.6 ± 2.3 minutes

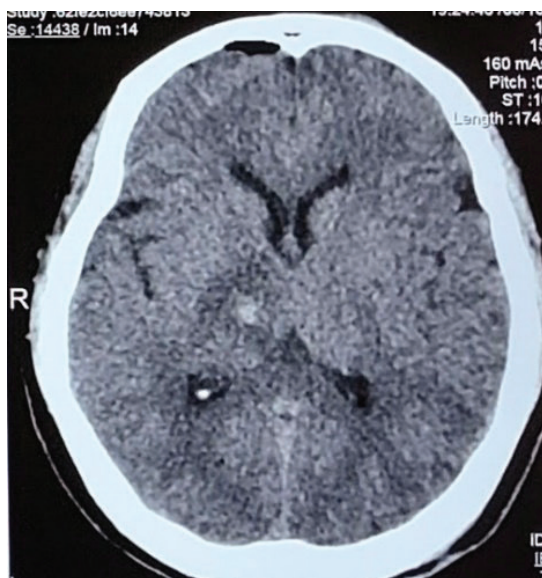
* *Complications of surgery:* Hemorrhage during surgery: There was no patient who had a hemorrhage during the operation after taking tissues. There was no case re-operated by craniotomy.

Table 2: Complications and mortality after surgery.

Symptoms	Number of cases	Percentage
Epilepsy	0	0
Brain hemorrhage	1	11.1
Hemiplegia	0	0
Cerebral edema	0	0
Reduced consciousness	0	0
Re-operating	0	0
Dead	0	0
Total	1	

In out of 9 cases, only one had complications after operating, accounting for 11.1%. This complication is brain hemorrhage.

There were no cases of re-operating by a craniotomy, as well as death after brain biopsy surgery.



Picture 2: Hemorrhagic lesions at the biopsy site on CT.
(Source: Photo taken at Military Hospital 103)

* *Histopathologic diagnoses:*

Table 3: Histopathological results.

Histopathological	Number of cases	Percentage
Low-grade astrocytoma	4	44.4
High-grade astrocytoma	1	11.1
Oligodendroglioma	1	11.1
Lymphoma	2	22.2
Carcinoma	0	0
Brain tissue	1	11.1
Total	9	100

The positive histopathological result was 8/9 cases, reaching 88.9%. The majority of cases were astrocytoma, with 5/9 cases accounting for 55.5%. There was no case of carcinoma.

There was one patient with brain tissue. This patient was not allowed to have biopsy again because the patient's relatives asked to be discharged.

DISCUSSION

1. Clinical symptoms

Most of the patients in the study were aged 40 - 60, and the oldest was 79.

The most common symptoms were headache 7/9 (77.8%) and hemiplegia 2/9 (22.2%). Before surgery, there were 2 patients with Glasgow coma scores of 13 and 14. Both cases were given corticosteroids, anti-cerebral edema, and these patients did not reduce consciousness after surgery.

2. Location of brain tumors

The tumor location is commonly located in the thalamus and capsula interna region, accounting for 44.4%. With deep lesions, performing a craniotomy

to pick the tumor is high risk. Therefore, stereotactic brain biopsy for these cases is a better choice, as well as limiting risks during and after surgery.

3. Results of surgery

* *Anesthesia and surgical time:*

All patients in the study received endotracheal anesthesia. With frameless stereotactic brain biopsy, it is very important to fix the patient and the frame positioning nerve. That helps to limit errors and reduces the risk of complications. Out of 9 cases, there was no case of complications during surgery.

The average surgery time was 61.6 ± 2.3 minutes, which is similar to Sciortino et al.'s study [1].

** Complications and death:*

According to Table 2, the rate of hemorrhagic complications is 11.1%. This result is consistent with the rate of hemorrhagic complications (0 - 11.5%) in studies by Hall, Grossman and Noer [2, 3, 4]. This patient had a small hemorrhage at the biopsy site, and there was no clinical symptom.

The mortality rate in the study was 0%, consistent with the mortality rate of 0 - 2% in other studies [2, 3, 4].

** Histopathological diagnosis:*

In our study, the histopathological diagnostic efficiency reached 88.9%. The report of Khatab et al. [5] reviewed 16 different studies, which showed that the average diagnostic rate is 93.8% (approximately 87 - 100%). In comparison with Khatab's study, our study had good diagnostic efficiency.

One patient had a histopathological diagnostic with brain tissue. It is possible that the positioning system was displaced because it was not surely fixed or the selection of the biopsy site was not within the brain tumor. The patient was explained to have another biopsy. However her family did not wish and asked for her to be discharged.

CONCLUSION

Stereotactic biopsy of supratentorial tumors is a safe procedure that provides a very accurate histological

diagnostic result with a low incidence of complications and mortality rate.

REFERENCES

1. Sciortino T., Fernandes B., Conti Nibali M., Gay L.G., Rossi M., Lopci E., Colombo A.E., Elefante M.G., Pessina F., Bello L., et al. (2019). Frameless stereotactic biopsy for precision neurosurgery: Diagnostic value, safety, and accuracy. *Acta neurochirurgica*; 161(5): 967-974.
2. Æbelø A.M., Noer V.R., Schulz M.K., Kristensen B.W., Pedersen C.B., Poulsen F.R. (2019). Frameless stereotactic neuronavigated biopsy: A retrospective study of morbidity, diagnostic yield, and the potential of fluorescence: A single-center clinical investigation. *Clinical neurology and neurosurgery*; 181: 28-32.
3. Grossman R., Sadetzki S., Spiegelmann R., Ram Z. (2005). Haemorrhagic complications and the incidence of asymptomatic bleeding associated with stereotactic brain biopsies. *Acta neurochirurgica*; 147(6):627-631; discussion 631.
4. Hall W.A. (1998). The safety and efficacy of stereotactic biopsy for intracranial lesions. *Cancer*; 82(9): 1749-1755.
5. Khatab S., Spliet W., Woerdeman P.A. (2014). Frameless image-guided stereotactic brain biopsies: emphasis on diagnostic yield. *Acta neurochirurgica*; 156(8): 1441-1450.

THẺ LỆ GỬI BÀI ĐĂNG TRONG TẠP CHÍ Y - DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

Tạp chí Y - Dược học quân sự xuất bản 9 số/năm, đăng tải các công trình nghiên cứu, các bài tổng quan về y dược học quân sự, y sinh học và y xã hội học, những thông tin Y - Dược học trong nước và quốc tế, thông tin về nghiên cứu và đào tạo.

I. Một số yêu cầu về bài đăng công trình nghiên cứu khoa học.

1. Bài gửi đăng công trình nghiên cứu khoa học chưa đăng ở bất kỳ tạp chí quốc gia nào.
2. Các thuật ngữ thống nhất theo từ điển Bách khoa Việt Nam.
3. Bài gửi đăng đánh máy bằng tiếng Việt, rõ ràng, cách dòng, một bài không dài quá 7 trang khổ A4, kể cả bảng biểu và tài liệu tham khảo. Các danh từ tiếng Việt nếu dịch từ tiếng nước ngoài viết kèm theo tiếng nước ngoài. Các chữ viết tắt phải có chú thích các từ gốc của các chữ viết tắt.
4. Trình tự các mục trong bài:
 - a) Đầu đề.
 - b) Họ và tên tác giả: Không ghi học hàm, học vị, chức danh. Có ghi chú đơn vị công tác của từng tác giả ở cuối trang thứ nhất bài báo.
 - c) Nội dung:

Tóm tắt tiếng Việt và tiếng Anh, bao gồm mục tiêu, đối tượng và phương pháp nghiên cứu, kết quả và kết luận. Ghi từ khóa tiếng Việt và tiếng Anh.

Đặt vấn đề: bao gồm cả phần mục tiêu nghiên cứu.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu.

Kết quả nghiên cứu và bàn luận.

Kết luận.

Tài liệu tham khảo.

Chỉ sử dụng những bảng, biểu, hình ảnh cần thiết và phải có chú thích rõ. Mỗi bài viết không quá 5 hình. Cuối bài phải nêu rõ xuất xứ của công trình, làm tại đâu, thời gian.

Tài liệu tham khảo (không quá 10 tài liệu và phải mang tính cập nhật): Tài liệu tiếng Việt ghi trước, sau đó là tài liệu tiếng nước khác. Tài liệu tham khảo ghi theo thứ tự sau: họ tên tác giả, tên cuốn sách (bài báo), tên tạp chí, năm xuất bản, tập, số và trang tài liệu tham khảo. Dùng font Unicode.
5. Mỗi tác giả đứng tên đầu của bài báo chỉ được đăng tối đa một bài trong một số.
6. Bài gửi đăng không trả lại bản thảo.
7. Cuối mỗi bài báo, tác giả ghi số điện thoại cá nhân và địa chỉ email của người chịu trách nhiệm chính.

II. Đối với các bài tổng quan, thông tin, bài dịch.

- Đối với các bài tổng quan cần có đầy đủ các tài liệu tham khảo và nguồn số liệu đã được trích dẫn trong bài. Tác giả bài tổng quan ghi rõ chức danh, học hàm, học vị, chuyên ngành, cơ quan và hội chuyên khoa ở phần ghi chú cuối trang đầu tiên của bài tổng quan. Bài tổng quan cũng được đánh máy trên khổ A4 và không dài quá 7 trang kể cả biểu bảng và tài liệu tham khảo.
- Các thông tin, bài dịch cần ghi rõ xuất xứ của nguồn dữ liệu. Đối với bài dịch cần chụp toàn văn bài báo tiếng nước ngoài gửi kèm theo bản dịch.

*** BÀI VIẾT XIN GỬI VỀ BAN THÔNG TIN KH - PHÒNG THÔNG TIN KHQS - HỌC VIỆN QUÂN Y**
SỐ 160 ĐƯỜNG PHÙNG HƯNG, HÀ ĐÔNG - HÀ NỘI
DIỆN THOẠI: 069. 566. 255 HẶC GỬI THEO ĐỊA CHỈ EMAIL: tcydhqs@vmmu.edu.vn



TRUNG TÂM NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG SẢN XUẤT THUỐC HỌC VIỆN QUÂN Y

Add: 158 Phùng Hưng - Hà Đông - Hà Nội/Tel: 043.6884077
Email: thuochvqy1@yahoo.com/Website: hocvienquany.vn

HOC VIEN QUAN Y



DANH MỤC CÁC SẢN PHẨM

Trà thảo dược TANAKA
Trà thảo dược BOGATRA
Trà thảo dược DAHATALA
Trà thảo dược TAM THẮT - XẠ ĐEN
Kem giảm đau OSAPAIN
SPERMENZOL - Tăng cường sinh lý nam
VIÊN NANG SÂM NGỌC LINH - Đãi bổ sức khỏe
SLIMTOSEN - Hạ mỡ máu, hỗ trợ điều trị béo phì
VITAXO - Chống oxy hóa, tăng cường sức đề kháng
BLAKGARLIC - Viên nang tỏi đen

AUFULYSON - Dự phòng và điều trị cảm cúm
Nước tăng lực VINATONIC
Thuốc bổ não MADUXIN
Thuốc bổ não B76
Kích trí kiện não CM8
Cốm dạ dày AMIPROGAST
EPOLIN - Thuốc chấm răng
DƯỠNG TÂM AN MẠCH -
TỎI ĐEN -
TỎI ĐEN SÂM NGỌC LINH - Đãi bổ sức khỏe

NANOCURCUMIN
KIẾN KHỚP TIÊU THỐNG COLLAGEN - Giảm đau xương khớp
GAMOSA - Điều trị tiểu đường
Huyết huyết an thần - NHẤT MINH KHANG
THỐNG PHONG KHANG
Cốm bổ SIFICAL IQ
UKATA - Hỗ trợ điều trị ung thư
ANTHRIN - Nhuận tràng
SIROLAROSIN - Giúp an thần, ngủ ngon giấc

www.hocvienquany.vn