

TẠP CHÍ



Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ

Journal of Military Pharmaco-medicine

ISSN 1859-0748

Vol 48, N^o 5 - 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 HDBT: 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

Tạp chí Y Dược học Quân sự - 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 5 - 2023

MỤC LỤC

	Trang
1	5
Nghiên cứu bào chế nano polymer chứa curcumin bằng phương pháp nhũ hoá bốc hơi dung môi	
<i>Nguyễn Hoàng Hiệp, Nguyễn Ngọc Thạch, Vũ Thị Trang Vũ Tiến Thắng, Phạm Văn Hiến, Nguyễn Trọng Điệp</i>	
Preparation of curcumin-loaded polymeric nanoparticles using emulsification-evaporation technique	
2	20
Nghiên cứu độc tính cấp và bán trường diễn của Viên Dạ dày 105 trên động vật thực nghiệm	
<i>Nguyễn Tô Hiệu, Hồ Cảnh Hậu Lê Thị Hồng Hạnh, Lê Thị Huyền Trang</i>	
Study on the acute toxicity and semi-chronic toxicity of 105 Stomach Tablet on experimental animals	
3	30
Ứng dụng PCR kỹ thuật số vi giọt trong định lượng tuyệt đối nồng độ ARN	
<i>Nguyễn Linh Toàn, Bùi Khắc Cường</i>	
Application of droplet digital PCR for RNA absolute quantification	
4	37
Nghiên cứu tạo gel huyết tương giàu tiểu cầu từ máu động mạch dây rốn người	
<i>Đỗ Xuân Hai</i>	
Research on the production of human umbilical cord platelet-rich plasma gel	
5	44
Đánh giá sự tuân thủ các biện pháp dự phòng viêm phổi liên quan đến thở máy của điều dưỡng tại Bệnh viện Đa khoa khu vực Phúc Yên năm 2022	
<i>Nguyễn Minh Toàn, Dương Minh Thảo Nguyễn Hữu Sâm, Nguyễn Thu Hương</i>	
Compliance rate with preventive measures for ventilator-associated pneumonia of nurses at Phuc Yen General Hospital in 2022	

	Trang	
6	Đặc điểm trầm cảm theo thang điểm PHQ-9 ở người bệnh loãng xương cao tuổi <i>Trần Viết Lực, Phạm Thị Thu Hà, Nguyễn Xuân Thanh Nguyễn Ngọc Tâm, Vũ Thị Thanh Huyền</i> Characteristics of depression according to the PHQ-9 scale in elderly patients with osteoporosis	52
7	Sự thay đổi nồng độ angiotensin-1 và angiotensin-2 ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp giai đoạn 2018 - 2020 <i>Lưu Thị Thanh Duyên, Bùi Văn Mạnh, Phạm Thái Dũng</i> Changes in angiotensin-1 and angiotensin-2 concentrations in patients with sepsis at Viet Tiep Friendship Hospital from 2018 - 2020	61
8	So sánh sự thay đổi nồng độ lactate máu giữa nhóm sống và tử vong ở bệnh nhân suy đa tạng <i>Lê Tiến Dũng, Phạm Thái Dũng, Bùi Văn Nhật, Bùi Khắc Vũ Nguyễn Thúy Như, Nguyễn Thanh Tùng, Đồng Thế Long</i> Study on blood lactate level changes and its relationship with mortality rate in patients with multiple organ failure	71
9	Thẩm định ngoại các mô hình dược động học quần thể của Tacrolimus trên bệnh nhân ghép thận tại Bệnh viện Quân y 103 <i>Nguyễn Thị Vân Anh, Lê Bá Hải, Nguyễn Thị Liên Hương Lê Việt Thắng, Vũ Dương Anh Minh</i> External evaluation of Tacrolimus population pharmacokinetic models in adult kidney transplant recipients at Military Hospital 103	79
10	Đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi tái tạo dây chằng chéo sau bằng mảnh ghép gân mạc dài tự thân <i>Nguyễn Tiến Thành, Nguyễn Quốc Dũng, Hà Thu Hương</i> Evaluation of the results of arthroscopic posterior cruciate ligament reconstruction using autologous peroneus longus tendon graft	91

		Trang
11	Study of rs1059513 <i>STAT6</i> polymorphism in HBsAg(+) hepatocellular carcinoma patients <i>Le Quang Nhut, Duong Quang Huy, Nguyen Xuan Kien</i>	100
12	Evaluation of the activity of peripheral blood Natural Killer cells in healthy subjects and breast cancer patients <i>Dieu Thi Thuy Chuyen, Phung The Hai</i> <i>Nguyen Hoang Phuong, Hoang Trung Kien</i> <i>Nguyen Ngoc Tuan, Nguyen Dang Dung, Do Khac Dai</i>	113
13	Study on changes in serum HBV RNA levels in patients with chronic hepatitis B treated with tenofovir disoproxil fumarate <i>Nguyen Dinh Ung, Le Van Nam, Nguyen Hong Thang</i> <i>Nguyen Trong Chinh, Ho Huu Tho</i>	124
14	Short-term surgical outcomes in patients with drug-resistant epilepsy due to lesional temporal lobe <i>Tran Dinh Van, Dong Van He</i> <i>Vu Van Hoe, Nguyen Thanh Bac</i>	137
15	Study on the treatment results of decompressive craniectomy in severe traumatic brain injury without mass lesion <i>Vu Tri Hieu, Dong Van He</i> <i>Bui Quang Tuyen, Nguyen Thanh Bac</i>	146

NGHIÊN CỨU BÀO CHẾ NANO POLYMER CHỨA CURCUMIN BẰNG PHƯƠNG PHÁP NHŨ HOÁ BỐC HƠI DUNG MÔI

Nguyễn Hoàng Hiệp¹, Nguyễn Ngọc Thạch¹, Vũ Thị Trang¹
Vũ Tiến Thắng^{1,2}, Phạm Văn Hiến¹, Nguyễn Trọng Điệp^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Bào chế được hệ tiểu phân nano polymer curcumin. **Phương pháp nghiên cứu:** Bào chế nano polymer bằng nhũ hoá bốc hơi dung môi, rắn hoá bằng phun sấy và đánh giá một số đặc tính của hệ tiểu phân nano polymer bằng các phương pháp hóa lý. **Kết quả:** Khảo sát xây dựng được công thức bào chế nano polymer curcumin gồm polymer là Eudragit RS 100 (tỷ lệ Eudragit/curcumin là 1/1 (kl/kl)); chất diện hoạt là Tween 80, nồng độ 2%; tỷ lệ pha nội/pha ngoại là 3/20 (tt/tt). Đã khảo sát lựa chọn được một số thông số quá quy trình là: tốc độ nhũ hóa 800 vòng/phút trong 5 phút; tốc độ đồng nhất 6000 vòng/phút trong 10 phút, thời gian bốc hơi dung môi 3 giờ. Hệ tiểu phân nano polymer được rắn hoá bằng phương pháp phun sấy thu được bột màu vàng, khô, to, đồng nhất, độ ẩm $2,38 \pm 0,01\%$, hàm lượng curcumin $9,39 \pm 0,1$ mg/g. Sau khi tái phân tán lại trong nước cho kích thước tiểu phân (KTTP) là $102,4 \pm 10,4$ nm; chỉ số đa phân tán là $0,45 \pm 0,04$; thế zeta là $4,6 \pm 0,34$; độ hoà tan *in vitro* sau 10 phút của curcumin đạt 85,41% và độ tan của curcumin là $582,7 \pm 21,9$ $\mu\text{g/mL}$. **Kết luận:** Đã bào chế và đánh giá được một số đặc tính của hệ tiểu phân nano polymer curcumin.

Từ khóa: Curcumin; Nano polymer; Nhũ hoá bốc hơi dung môi.

PREPARATION OF CURCUMIN-LOADED POLYMERIC NANOPARTICLES USING EMULSIFICATION-EVAPORATION TECHNIQUE

Abstract

Objectives: To prepare the curcumin-loaded polymeric nanoparticles. **Methods:** Preparation of curcumin-loaded polymeric nanoparticles using emulsification

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 110, Cục Hậu cần, Quân khu 1

* Tác giả liên hệ: Nguyễn Trọng Điệp (diepvmmu@gmail.com)

Ngày nhận bài: 30/3/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 15/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.337>

solvent evaporation technique, solidification by spray drying method, and evaluation of some physicochemical properties of prepared curcumin-loaded polymeric nanoparticles. **Results:** The formulation of curcumin-loaded polymeric nanoparticles was chosen, including the type of polymer was Eudragit RS100 (with the Eudragit/Curcumin ratio was 1/1 (w/w)); Tween 80 was chosen as the surfactant with the concentration at 2% in water; internal phase/external phase ratio was 3/20 (v/v). Some in-processing parameters were investigated and selected, including the emulsifying stirring speed at 800 r.p.m for 5 minutes, homogenization stirring speed at 6000 r.p.m for 10 minutes, and solvent evaporation time for 3 hours. The prepared curcumin-loaded polymeric nanoparticle suspensions were solidified using the spray drying method to obtain a yellow, dry, and homogenous powder; the moisture content was $2.38 \pm 0.01\%$; the curcumin content was 9.39 ± 0.1 mg/g. After re-dispersing in water, the particle size was 102.4 ± 1.04 nm, the polydispersity index was 0.45 ± 0.04 , and the Zeta potential was 4.6 ± 0.34 ; the *in-vitro* dissolution test of curcumin released from polymeric nanoparticles was 85.41% at 10th minute, and the solubility of curcumin from polymeric nanoparticle was 582.7 ± 21.9 $\mu\text{g/mL}$. **Conclusion:** The study prepared and evaluated some physicochemical properties of curcumin-loaded polymeric nanoparticles.

Keywords: Curcumin; Polymeric nanoparticle; Emulsification-evaporation technique.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Curcumin là hoạt chất thuộc nhóm polyphenol có trong thân rễ của một số loài nghệ, đặc biệt là nghệ vàng (*Curcuma longa* L.) đã được chứng minh có tác dụng chống oxy hóa, chống viêm, chống xơ vữa động mạch, làm liền các vết loét đường tiêu hóa, điều trị đầy hơi, vàng da, chống ung thư [9]. Tuy nhiên, curcumin thuộc nhóm IV trong hệ thống phân loại sinh dược học (BCS-biopharmaceutical classification system) có độ tan và tính

thấm kém, vì vậy các dạng bào chế thông thường chứa curcumin có sinh khả dụng thấp và tác dụng điều trị khi sử dụng theo đường uống là ít hiệu quả [10]. Do vậy, để cải thiện độ tan và tính thấm nhằm tăng sinh khả dụng của curcumin đang được nhiều nghiên cứu quan tâm. Một trong các hướng đi là bào chế dưới dạng nano với các ưu điểm như cải thiện độ tan, tính thấm cho những dược chất kém tan, kém thấm, bảo vệ và vận chuyển dược chất tới đích [9]. Ở nước ta hiện nay, việc

bào chế nano chứa curcumin đã được phát triển, một số đã được nghiên cứu sản xuất trên quy mô lớn, nhưng mức độ cung cấp cho thị trường vẫn còn hạn chế. Ngoài ra, các phương pháp đã công bố đều cơ bản tập trung vào việc bào chế các dạng tiểu phân nano bằng phương pháp nghiền, bằng phytosome hoá [1], bào chế nhũ tương nano [3], bào chế hệ nano sử dụng chất mang lipid [5], dạng PEG (polyethylenglycol) hoá [1], phương pháp đảo pha [4]. Chưa có công bố nào về việc bào chế hệ nano polymer chứa curcumin bằng phương pháp nhũ hoá bốc hơi dung môi. Để góp phần làm phong phú thêm cho việc bào chế các nguyên liệu nano chứa curcumin, nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Bào chế nano polymer chứa curcumin bằng phương pháp nhũ hoá bốc hơi dung môi và đánh giá một số đặc tính của sản phẩm bào chế được.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* Nguyên liệu:

Curcumin (hàm lượng 95,7%) được cung cấp bởi công ty Ambe Phytoextracts Pvt. Ltd, Ấn Độ. Chuẩn curcumin (số kiểm soát WS.0118341.01, hàm lượng 99,56%) được cung cấp bởi Viện Kiểm nghiệm thuốc Trung ương. Các nguyên liệu, hoá chất như Eudragit RS100, PEG

6000, PVP K30, Eudragit RL PO, ethyl acetat (EC), dicloromethan (DCM), cồn 96°, Tween 80, Span 80, maltodextrin, chloroform, methanol, aerosil đạt tiêu chuẩn dược dụng.

* *Thiết bị, dụng cụ thiết bị:*

Máy khuấy từ IK RW16 (Hàn Quốc), máy đồng nhất hoá, máy khuấy trộn IKA RW16 (Hàn Quốc), cân phân tích Satirius CP224S (Mỹ), cân kỹ thuật (Satirius-Mỹ), máy đo quang phổ UV-VIS UVD-2960 (Mỹ), máy đo KTTTP, thế zeta, chỉ số PDI Nanosizer SZ 100 (Nhật Bản), máy phun sấy cao tốc LPG5 (Trung Quốc), máy cắt quay chân không EYELA N1200B (Đức), máy lắc xoáy Vision VS-201P (Hàn Quốc), máy thử độ hòa tan NE6-COPD Copley (Anh), kính hiển vi điện tử quét HITACHI S-4800 (Nhật Bản) và các dụng cụ thông dụng khác.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Xây dựng công thức bào chế hệ tiểu phân nano polymer chứa curcumin:*

Cân 0,1g curcumin và một lượng polymer cần khảo sát theo các tỷ lệ khác nhau và hoà tan trong 30 mL DCM và thêm chất diện hoạt ở nồng độ thích hợp để thu được pha nội. Pha ngoại được chuẩn bị bằng việc hoà tan chất diện hoạt theo từng khảo sát trong nước cất. Thêm từ từ từng giọt pha nội vào pha ngoại, đồng thời sử dụng máy khuấy cơ với tốc độ và thời gian thích

hợp. Sau đó, chuyển sang bước đồng nhất hoá sử dụng máy trộn cao tốc với tốc độ và thời gian được khảo sát. Duy trì nhiệt độ 10 - 15°C trong suốt quá trình phối trộn và nhũ hoá. Sử dụng thiết bị khuấy từ, khuấy trộn ở điều kiện phòng trong 3 giờ để bốc hơi hết dung môi hữu cơ trong hệ. Các thông số cần khảo sát trong quá trình gồm: Loại polymer, tỷ lệ polymer/dược chất, loại chất diện hoạt trong pha ngoại, tỷ lệ chất diện hoạt, tỷ lệ pha nội/pha ngoại.

** Khảo sát lựa chọn một số thông số kỹ thuật trong giai đoạn phối trộn và đồng nhất hoá:*

Thực hiện bào chế theo công thức đã khảo sát lựa chọn. Các thông số của quá trình khảo sát lựa chọn trong giai đoạn này gồm: Tốc độ và thời gian phối trộn pha nội vào pha ngoại, tốc độ và thời gian đồng nhất hoá. Đánh giá qua một số chỉ tiêu: KTTP trung bình, thế zeta, chỉ số đa phân tán (PDI).

** Rắn hoá hệ tiểu phân nano polymer chứa curcumin bằng phương pháp phun sấy:*

Cân một 30g hệ bào chế được, thêm 7g maltodextrin và 7g aerosil và phân tán trong khoảng 600g nước để chuẩn bị dịch phun sấy. Phun sấy ở điều kiện nhiệt độ khí cấp đầu vào là 130°C (tương ứng nhiệt độ khí đầu ra khoảng 80°C), tốc độ cấp dịch 10 mL/phút,

áp suất khí nén quay ly tâm tạo bột là 2 Bar.

** Đánh giá một số đặc tính của bột hệ tiểu phân nano polymer chứa curcumin:*

Đánh giá một số đặc tính của hệ tiểu phân nano polymer curcumin bào chế được gồm: Cảm quan, hàm ẩm, hình thái kích thước tiểu phân qua đo SEM, hàm lượng curcumin trong bột, khả năng tái phân tán, KTTP, thế zeta, PDI, độ tan, độ hoà tan.

Định lượng curcumin trong hệ tiểu phân nano bào chế được bằng phương pháp UV-VIS ở bước sóng 425 nm. Chuẩn gốc được pha trong MeOH. Chuẩn làm việc được chuẩn bị bằng pha loãng dung dịch chuẩn gốc trong dung dịch Tween 80 nồng độ 2%. Mẫu thử được chuẩn bị ở nồng độ phù hợp bằng pha loãng trong dung dịch Tween 80 nồng độ 2%.

Bột hệ tiểu phân nano curcumin sau khi phun sấy được tái phân tán trong nước, lọc loại phần tá dược không tan qua giấy lọc Whatman. Pha loãng ở nồng độ thích hợp bằng nước. Tiến hành đo KTTP và PDI trên máy SZ 100, cuvet nhựa, nhiệt độ buồng đo 25°C. Sử dụng cuvet chuyên dụng điện cực bằng đồng để đo thế Zeta.

Độ tan, độ hoà tan của curcumin trong bột phun sấy và trong nguyên liệu: Thực hiện theo phương pháp của Dương Thị Hồng Ánh và CS [2].

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả nghiên cứu xây dựng công thức bào chế hệ tiểu phân nano polymer chứa curcumin

* *Kết quả khảo sát ảnh hưởng của loại polymer:*

Tốc độ nhũ hoá là 800 vòng/phút trong 5 phút, tốc độ đồng nhất hoá 4000 vòng/phút trong 10 phút, thời gian bốc hơi dung môi là 3 giờ. Tween 80 sử dụng cho pha ngoại là 4g. Các polymer khảo sát gồm: PEG 6000, PVP K30, Eudragit RL PO, ethylacetat, Eudragit RS 100. Sau khi bào chế, các mẫu được kiểm tra cảm quan, KTTP và PDI. Kết quả được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của loại polyme đến một số đặc tính của hệ nano polymer curcumin bào chế được ($\bar{X} \pm SD$, n = 3).

Loại polyme	Cảm quan	KTTP (nm)	PDI
PEG 6000	Không đạt (tủa curcumin)	-	-
PVP K30	Đạt	1460 ± 269	1,35 ± 0,12
Eudragit RL PO	Đạt	136 ± 13	1,11 ± 0,14
EC	Không đạt (tủa curcumin)	-	-
Eudragit RS 100	Đạt	259 ± 12	0,40 ± 0,04

Kết quả bảng 1 cho thấy sử dụng PEG 6000 và ethylacetat gây kết tủa curcumin trong pha nội, không đảm bảo yêu cầu thí nghiệm. Với các loại polymer còn lại đều có cảm quan đạt yêu cầu. Sử dụng PVP K30 cho KTTP quá lớn nên không phù hợp. Với 2 loại Eudragit đều cho KTTP tương đối nhỏ, tuy nhiên khi xét về thể PDI thì chỉ có Eudragit RS 100 là đạt yêu cầu (PDI nên < 0,5 để tạo hệ ổn định). Vì vậy, Eudragit RS 100 được lựa chọn để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

* *Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ polymer/dược chất:*

Thực hiện tương tự như khảo sát lựa chọn loại polymer, tá dược polymer sử dụng là Eudragit RS 100 với các lượng khác nhau từ 0,05 - 0,3g tương ứng với tỷ lệ polymer/dược chất từ 1:2 đến 3:1. Kết quả được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ polymer/dược chất đến một số đặc tính của hệ nano polymer curcumin bào chế được ($\bar{X} \pm SD$, n = 3).

Lượng Eudragit RS 100 (g)	Tỷ lệ Eudragit RS100/curcumin	Cảm quan	KTTP (nm)	PDI
0,05	0,5:1	Không đạt (tủa curcumin)	-	-
0,1	1:1	Đạt	240 ± 8	0,30 ± 0,05
0,15	1,5:1	Đạt	259 ± 21	0,40 ± 0,05
0,2	2:1	Đạt	227 ± 9	0,41 ± 0,06
0,3	3:1	Đạt	263 ± 22	0,42 ± 0,04

Kết quả bảng 2 cho thấy: Khi sử dụng với tỷ lệ 2:1, curcumin bị tủa trong pha nội. Khi sử dụng tỷ lệ polymer/dược chất từ 1:1 đến 3:1 đều cho hệ nhũ tương bền vững, KTTP và PDI đều đạt yêu cầu trong khoảng khảo sát. Tuy nhiên, khi sử dụng với tỷ lệ 1:1 thì đã đạt được độ ổn định vật lý về KTTP và chỉ số PDI, khi tăng lượng polymer lên thì KTTP và PDI thay đổi không đáng kể. Ngoài ra, khi sử dụng lượng lớn polymer còn xuất hiện nguy cơ các polymer trương nở, kết dính các tiểu phân, ảnh hưởng đến khả năng giải

phóng dược chất. Từ kết quả này, lựa chọn tỷ lệ Eudragit RS 100/curcumin là 1:1.

** Khảo sát lựa chọn tỷ lệ chất diện hoạt trong pha nội và pha ngoại:*

Thực hiện như khảo sát lựa chọn tỷ lệ polymer/dược chất, sử dụng Eudragit RS 100 là 0,1g. Pha nội sử dụng Span 80 với các lượng từ 0 - 1,2g. Tween 80 là chất diện hoạt sử dụng cho pha ngoại với lượng từ 4 - 2,8g. Tổng lượng chất diện hoạt ở cả 2 pha là 4g. Kết quả đánh giá được trình bày trong bảng 3.

Bảng 3. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ chất diện hoạt trong 2 pha đến một số đặc tính của hệ nano polymer curcumin bào chế được ($\bar{X} \pm SD$, n = 3).

Tỷ lệ Tween 80:Span (g/g)	Tween 80 (g)	Span 80 (g)	Cảm quan	KTTP (nm)	PDI
10/0	4	0	Đạt	240 ± 10	0,30 ± 0,03
9/1	3,6	0,4	Không đạt	-	-
8/2	3,2	0,8	Không đạt	-	-
7/3	2,8	1,2	Không đạt	-	-

Kết quả bảng 3 cho thấy, phối hợp Tween 80 và Span 80 với các tỷ lệ khác nhau có ảnh hưởng trực tiếp tới quá trình tạo nhũ tương. Trên thực tế khảo sát, khi thêm chất diện hoạt pha nội là Span 80 với bất cứ tỷ lệ nào đều không hình thành được nhũ tương hoàn chỉnh. Vì vậy, chỉ lựa chọn chất diện hoạt là Tween 80 cho pha ngoại

** Kết quả khảo sát lựa chọn nồng độ Tween 80 trong pha ngoại:*

Thực hiện tương tự khảo sát lựa chọn tỷ lệ chất diện hoạt trong pha nội và pha ngoại. Sử dụng 0,1g Eudragit 100. Tween 80 được sử dụng với các lượng từ 0,4 - 6g tương ứng với nồng độ trong pha ngoại từ 0,2 - 3%. Kết quả đánh giá được trình bày trong bảng 4.

Bảng 4. Kết quả khảo sát ảnh hưởng của nồng độ Tween 80 đến một số đặc tính của hệ nano polymer curcumin bào chế được ($\bar{X} \pm SD$, n = 3).

Tỷ lệ (%)	Cảm quan	KTTP (nm)	PDI
0,2	Phân lớp, không hình thành nhũ tương	-	-
0,5	Phân lớp, không hình thành nhũ tương	-	-
1	Phân lớp, không hình thành nhũ tương	-	-
2	Hình thành nhũ tương đồng nhất	240 ± 10	0,30 ± 0,03
3	Hình thành nhũ tương đồng nhất	102 ± 10	0,75 ± 0,13

Kết quả từ bảng 4 cho thấy, khi sử dụng nồng độ Tween từ 0,2 - 1%, do chưa đủ nồng độ chất diện hoạt pha ngoại để giảm sức căng bề mặt, giảm năng lượng giao thoa của pha nội phân tán vào pha ngoại, nên hệ nhũ tương chưa được hình thành và bị phân lớp ngay. Khi sử dụng Tween 80 với nồng độ 2 - 3% thì đã hình thành được dạng nhũ tương đồng nhất, có KTTP tương đối nhỏ (< 250 nm). Thực tế cho thấy, khi sử dụng Tween 80 với nồng độ 3% thì mặc dù KTTP bé hơn (102 nm), tuy nhiên chỉ số PDI là khá lớn (0,75) nên

hệ tiêu phân nano bào chế được sẽ kém ổn định, có xu hướng kết tập lại để tạo thành các hạt có kích thước lớn hơn. Vì vậy, lựa chọn tỷ lệ Tween trong pha ngoại là 2% để tiến hành các khảo sát tiếp theo.

** Khảo sát lựa chọn tỷ lệ pha nội/pha ngoại:*

Thực hiện tương tự như trên, sử dụng 0,1g Eudragit 100. Tween 80 được sử dụng với lượng 4g. Lượng nước pha ngoại được khảo sát từ 100 - 200 mL. Kết quả đánh giá được trình bày trong bảng 5.

Bảng 5. Tỷ lệ khảo sát ảnh hưởng của tỷ lệ pha nội/pha ngoại đến một số đặc tính của hệ nano polymer curcumin bào chế được ($\bar{X} \pm SD$, n = 3).

Tỷ lệ pha nội/ pha ngoại	Pha nội (mL)	Pha ngoại (mL)	Cảm quan	KTTPTB (nm)	PDI
3:10	30	100	Không đạt	-	-
3:15	30	150	Không đạt	-	-
3:20	30	200	Đạt	240 ± 10	0,30 ± 0,03

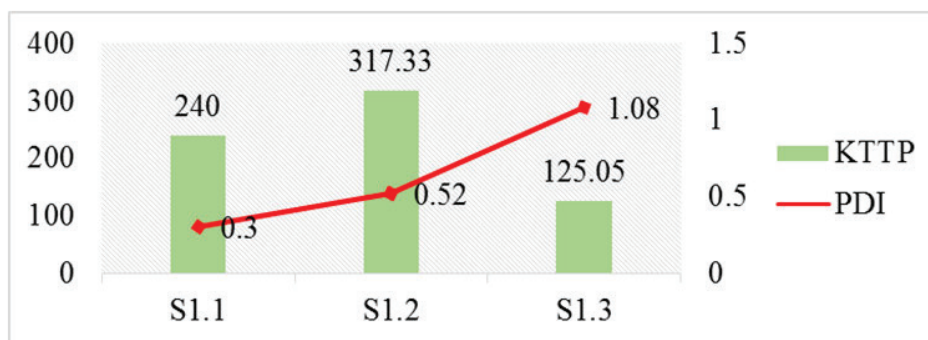
Kết quả ở bảng 5 cho thấy, khi sử dụng lượng pha ngoại ít từ tỷ lệ 3:10 đến 3:15, (tương đương tỷ lệ pha nội/pha ngoại ở mức cao), không đủ để dung nạp được lượng lớn pha nội, nên ảnh hưởng lớn tới việc hình thành nhũ tương. Mẫu N3 có sự ổn định cao về mặt thể chất, KTTP trung bình và PDI nhỏ. Vì vậy, lựa chọn tỷ lệ pha nội trên pha ngoại là 3:20 cho các khảo sát tiếp theo.

2. Kết quả khảo sát lựa chọn một số thông số kỹ thuật trong bào chế hệ nano polymer chứa curcumin

* *Kết quả khảo sát lựa chọn cách thức khuấy trộn:*

Thực hiện tương tự như phần khảo sát lựa chọn tỷ lệ pha nội/pha ngoại. Sử dụng 0,1g Eudragit RS100, 4g Tween 80 và 200 mL nước cất. Ở bước phối trộn pha nội vào pha ngoại, thực hiện khuấy trộn với các tốc độ khác nhau. Trong đó mẫu S1.1 sử dụng máy khuấy cơ (5 phút, tốc độ 800 vòng/phút) để phân tán pha nội vào pha ngoại, sau đó đồng nhất hóa bằng

máy đồng nhất hóa tốc độ cao (10 phút, tốc độ 4000 vòng/phút), cuối cùng bốc hơi dung môi pha nội để tạo hỗn dịch bằng máy khuấy từ (3 giờ). Mẫu S1.2 đồng nhất hóa tốc độ cao ở 2000 vòng/phút (5 phút), sau đó tăng lên 4000 vòng/phút (10 phút), bốc hơi dung môi pha nội để tạo hỗn dịch bằng máy khuấy từ (trong 3 giờ). Mẫu S1.3 sử dụng máy khuấy cơ (5 phút, tốc độ 800 vòng/phút) phối hợp pha, bốc hơi dung môi pha nội bằng máy khuấy từ (3 giờ). Sau đó sử dụng máy đồng nhất hóa tốc độ cao (10 phút, tốc độ 4000 vòng/phút). Kết quả đánh giá được trình bày trong hình 1.



Hình 1. Kết quả ảnh hưởng của cách thức phối trộn đến KTTP và PDI của hệ nano polymer chứa nano curcumin bào chế được.

Kết quả từ hình 1 cho thấy, mẫu S1.3 cho KTTP nhỏ nhất nhưng có PDI lớn (> 1), nguyên nhân ở đây là do chưa đủ thời gian và lực để đồng nhất hóa, dẫn đến khả năng phân tán và sự đồng đều về KTTP kém nên PDI cao. Với hai mẫu còn lại, mẫu S1.1 cho KTTP

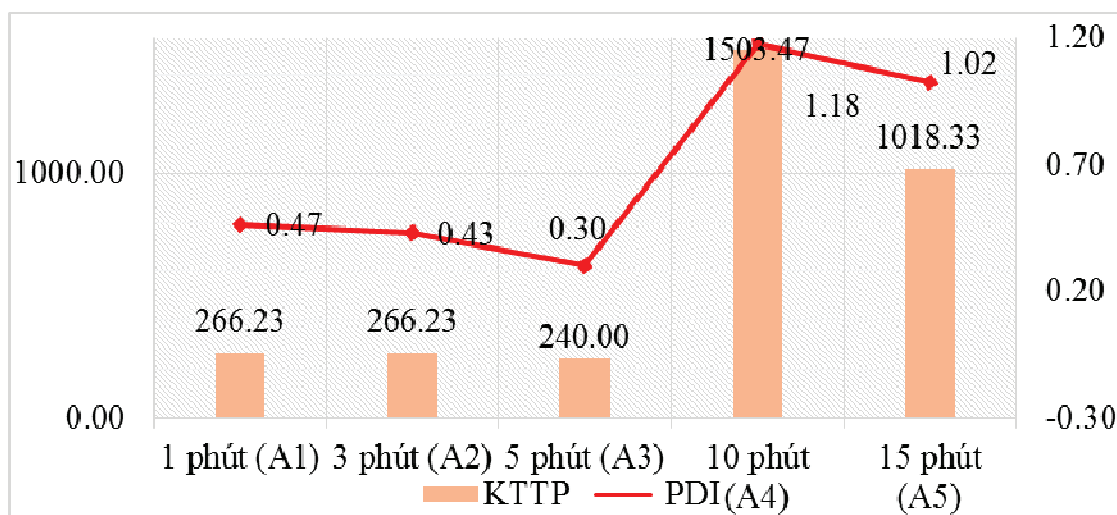
nhỏ hơn, đồng thời chỉ số PDI $< 0,5$ thể hiện các hạt tiểu phân là tương đối đồng nhất, có khả năng tạo ra hệ ổn định khi phân tán vào môi trường lỏng. Vì vậy, lựa chọn cách thức khuấy trộn là sử dụng máy khuấy cơ (5 phút, tốc độ 800 vòng/phút) để nhũ hóa tạo nhũ

tương, sau đó đồng nhất hóa bằng máy đồng nhất hóa tốc độ cao (10 phút, tốc độ 4000 vòng/phút), cuối cùng bốc hơi dung môi pha nội.

* *Kết quả khảo sát thời gian phân tán pha dầu vào pha nước:*

Thực hiện tương tự như phần khảo sát lựa chọn cách thức khuấy trộn. Sử dụng

máy khuấy cơ tốc độ 800 vòng/phút để phân tán pha dầu vào pha nước với các khoảng thời gian khác nhau, sau đó đồng nhất hóa bằng máy đồng nhất hóa với tốc độ 4000 vòng/phút × 10 phút, cuối cùng bốc hơi dung môi pha nội trong thời gian 3 giờ. Kết quả về KTTP và PDI được trình bày trong hình 2.

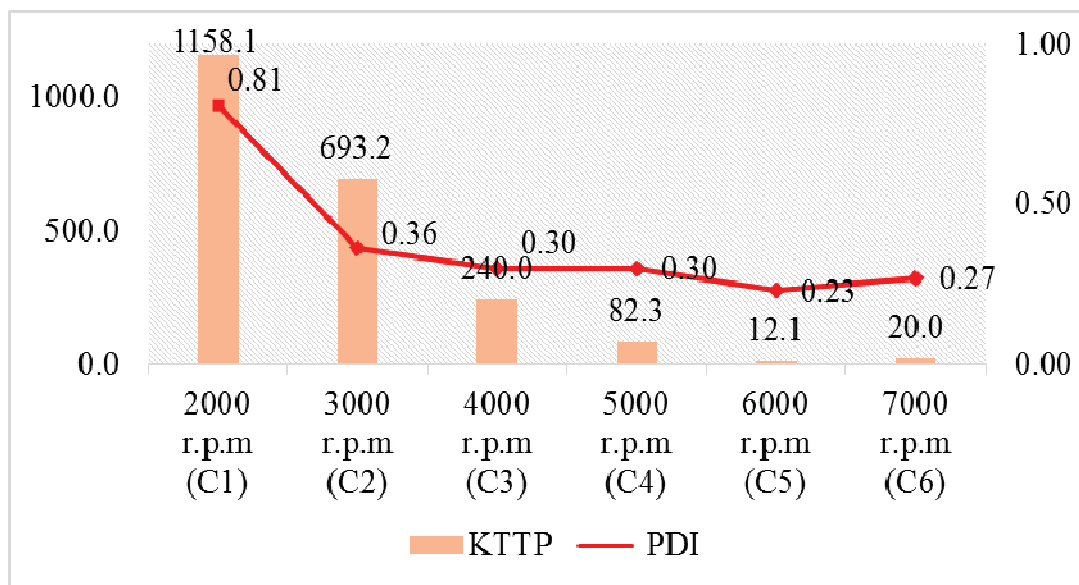


Hình 2. Kết quả ảnh hưởng của thời gian phân tán pha dầu vào pha nước đến KTTP và PDI của hệ nano polymer chứa nano curcumin bào chế được.

Kết quả hình 2 cho thấy khi tăng thời gian phân tán pha nội vào pha ngoại từ 1 phút lên 5 phút thì KTTP và PDI có xu hướng giảm. Tiếp tục kéo dài thời gian nhũ hóa lên 10 phút và 15 phút thì KTTP và PDI tăng lên (KTTP > 1000 nm, PDI > 1). Điều này có thể do khi tăng thời gian nhũ hóa, năng lượng sinh ra do ma sát lớn, nhiệt độ tăng lên, sẽ góp phần giúp pha nội phân tán đều trong pha ngoại, các tiểu phân được phân chia nhỏ và đồng đều hơn. Tuy nhiên, nếu thời gian nhũ hóa kéo dài (10 - 15 phút), một lượng lớn dung môi pha nội sẽ bay hơi, gây kết tập tiểu phân, làm cho KTTP và PDI tăng lên. Điều này là phù hợp với nghiên cứu của Rachmawati và CS [8]. Từ kết quả này, lựa chọn thời gian phân tán pha dầu vào pha nước là 5 phút.

* Kết quả khảo sát lựa chọn tốc độ đồng nhất hoá:

Thực hiện tương tự như khảo sát lựa chọn thời gian phân tán pha dầu vào pha nước. Sử dụng máy khuấy cơ tốc độ 800 vòng/phút × 5 phút, sau đó đồng nhất hóa bằng máy đồng nhất hóa với tốc độ khác nhau trong thời gian 10 phút, cuối cùng bốc hơi dung môi pha nội trong thời gian 3 giờ. Kết quả kiểm tra về KTTP và PDI được trình bày trong hình 3.

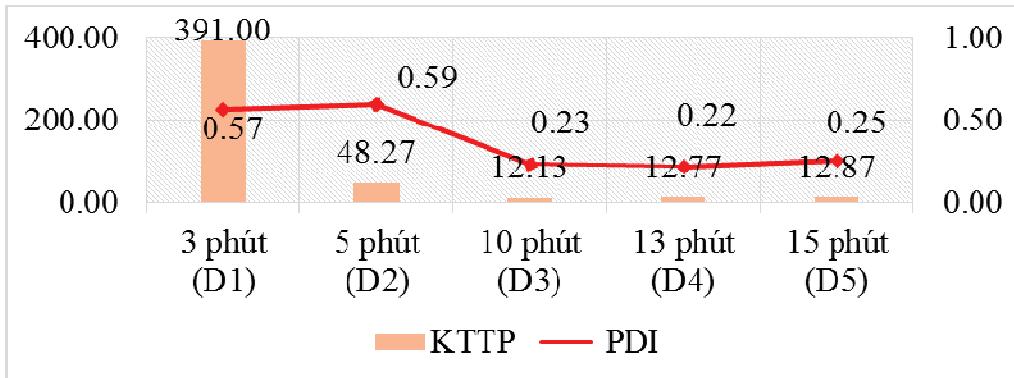


Hình 3. Kết quả ảnh hưởng của tốc độ đồng nhất hoá đến KTTP và PDI của hệ tiêu phân nano polymer bào chế được.

Kết quả từ hình 3 cho thấy, KTTP và PDI có xu hướng giảm mạnh khi tăng cường độ đồng nhất. Cụ thể, KTTP và PDI cao nhất ở mẫu C1 khi tốc độ đồng nhất là 2000 vòng/phút (1158,1 nm và 0,81) và thấp nhất ở mẫu C5 khi tốc độ đồng nhất là 6000 vòng/phút (12,1 nm và 0,23). Với mẫu C6, KTTP và PDI tăng trở lại (20 nm và 0,27). Điều này có thể do khi tăng cường độ đồng nhất, lực phân cắt tăng, dẫn đến tiểu phân được chia cắt nhỏ hơn, đồng đều hơn, từ đó KTTP và PDI thấp hơn. Tuy nhiên, việc tiếp tục tăng tốc độ đồng nhất lên 7000 vòng/phút sẽ gây tạo bọt trong quá trình đồng nhất làm cản trở lực tác động lên hỗn dịch, đồng thời lưu giữ các tiểu phân của pha phân tán trong bọt khí dẫn đến hạn chế quá trình phân tán. Kết quả nghiên cứu này là phù hợp với kết quả nghiên cứu của Quintanar-Guerrero D. và CS [7]. Vì vậy, lựa chọn tốc độ đồng nhất hoá là 6000 vòng/phút để thực hiện các khảo sát tiếp theo.

* Kết quả khảo sát ảnh hưởng của thời gian đồng nhất hoá:

Thực hiện như mô tả ở phần lựa chọn tốc độ đồng nhất hoá. Sử dụng máy khuấy cơ (5 phút, tốc độ 800 vòng/phút) để nhũ hóa tạo nhũ tương, sau đó đồng nhất hóa bằng máy đồng nhất hóa với tốc độ 6000 vòng/phút trong các khoảng thời gian khác nhau, cuối cùng bốc hơi dung môi pha nội trong thời gian 3 giờ. Kết quả kiểm tra về KTTP và PDI được trình bày trong hình 4.



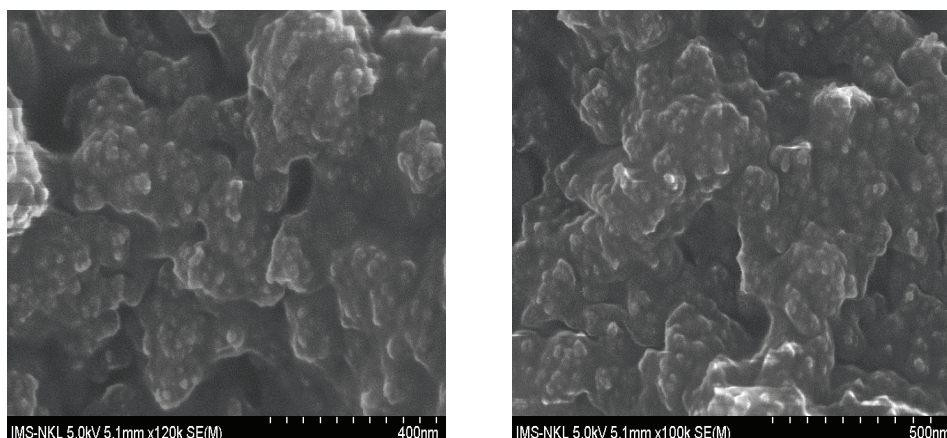
Hình 4. Kết quả ảnh hưởng của thời gian đồng nhất hoá đến KTTP và PDI của hệ tiêu phân nano polymer bào chế được.

Kết quả hình 4 cho thấy, khi tăng thời gian đồng nhất từ 3 phút lên 10 phút thì KTTP và PDI có xu hướng giảm dần. Từ 10 phút đến 15 phút, KTTP và PDI có thay đổi, tuy nhiên mức thay đổi này không có ý nghĩa thống kê. Kết quả này là phù hợp với nghiên cứu của Mora-Huertas và CS [6]. Vì vậy, thời gian đồng nhất hoá 10 phút là phù hợp.

Từ các nghiên cứu trên lựa chọn được công thức bào chế cho hệ tiêu phân nano polymer chứa curcumin gồm: Các thông số cho quá trình bào chế gồm tốc độ khuấy trộn để phân tán pha dầu vào pha nước là 800 vòng/phút

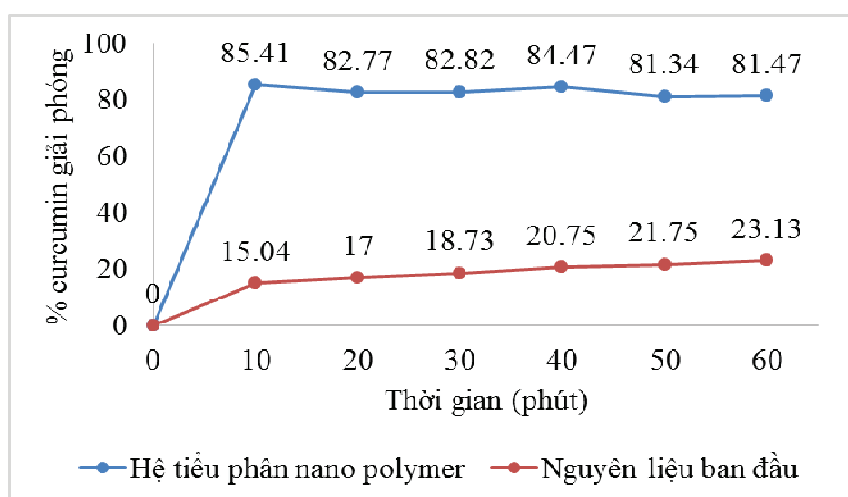
trong 5 phút, tốc độ đồng nhất hoá là 6000 vòng/phút trong 10 phút và thời gian bốc hơi dung môi pha nội là 3 giờ.

Hệ tiêu phân nano polymer chứa curcumin sau khi bào chế được rắn hoá bằng phương pháp phun sấy và xác định một số các đặc tính lý hoá. Kết quả cho thấy bột phun sấy có màu vàng, khô, tơi xốp, độ trơn chảy tốt, đồng nhất; hàm ẩm được xác định là $2,38 \pm 0,01$ %. Kiểm tra hình thái và kích thước tiêu phân bằng phương pháp chụp SEM cho thấy bề mặt tiêu phân có nhiều nếp gấp, sần sùi, kích thước hạt phun sấy trong khoảng 400 - 500 nm (Hình 5).



Hình 5. Hình ảnh chụp SEM của nano polymer curcumin.

Định lượng curcumin trong hệ tiểu phân bào chế được cho thấy hàm lượng curcumin đạt $9,39 \pm 0,1$ mg/g. Đo khả năng tái phân tán của hệ tiểu phân nanopolymer chứa curcumin dạng bột phun sấy cho thấy KTTP sau phân tán lại là 102 ± 10 nm; chỉ số PDI là $0,45 \pm 0,04$ và thế zeta của hệ phân tán trong nước là $4,6 \pm 0,3$. Kết quả thử độ hoà tan *in-vitro* (Hình 6) cho thấy, mức độ và tốc độ giải phóng curcumin của hệ tiểu phân nano polymer chứa curcumin cao hơn nhiều so với nguyên liệu.



Hình 6. Kết quả thử độ hoà tan của curcumin trong hệ tiểu phân nano polymer bào chế được và nguyên liệu ban đầu.

Đo độ tan của curcumin trong hệ tiểu phân nano polymer bào chế được có so sánh với nguyên liệu cho thấy độ tan của curcumin trong hệ tiểu phân nano polymer ($582,7$ $\mu\text{g/mL}$) là cao hơn hẳn so với nguyên liệu ban đầu ($1,22$ $\mu\text{g/mL}$).

KẾT LUẬN

Đã khảo sát xây dựng được công thức bào chế và một số thông số quy trình bào chế hệ tiểu phân nano polymer curcumin. Công thức bào chế sử dụng tá dược polymer là Eudragit RS 100, tỷ lệ polymer/dược chất 1:1 (kl/kl). Pha nội được pha trong DCM. Pha ngoại sử dụng Tween 80 pha trong nước có nồng độ 2%. Sử dụng máy khuấy cơ để phân tán pha nội vào pha ngoại ở 800 vòng/phút trong 5 phút. Đồng nhất hoá với tốc độ 6000 vòng/phút trong 10 phút. Bốc hơi dung môi trong 3 giờ. Hệ tiểu phân nano polymer chứa curcumin được rắn hoá bằng phun sấy. Bột tạo thành được xác định các đặc tính lý hoá: Độ ẩm, KTTTP, thế zeta, PDI, hàm lượng curcumin. Độ tan của bột khô nano curcumin là 582,6 µg/ml. Đo khả năng giải phóng trên *in-vitro* trong môi trường nước cho thấy sau 10 phút lượng curcumin giải phóng từ hệ tiểu phân nano polymer khoảng 85%, cao hơn nhiều lần so với nguyên liệu curcumin ban đầu (15%).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bùi Thanh Tùng, Nguyễn Thanh Hải, Phan Kế Sơn. Nghiên cứu bào chế curcumin dạng phytosome và dạng

PEG hóa. *Tạp chí Khoa học ĐHQGHN: Khoa học Y Dược*. 2018; 34(1): 29-41.

2. Dương Thị Hồng Ánh. Nghiên cứu hệ tiểu phân nano nhằm tăng sinh khả dụng của Curcumin dùng theo đường uống. *Luận án tiến sỹ*. Đại học Dược Hà Nội, Hà Nội. 2017

3. Dương Thị Hồng Ánh và Nguyễn Thị Tuyết. Nghiên cứu bào chế nhũ tương nano curcumin sử dụng β -cyclodextrin. *Tạp chí Dược học*. 2020; 60(5): 7-11.

4. Dương Thị Hồng Ánh và Nguyễn Xuân Đức. Bào chế nhũ tương nano curcumin bằng phương pháp đảo pha. *Nghiên cứu Dược & Thông tin Thuốc*. 2020; 11(1+2): 29-34.

5. Dương Thị Hồng Ánh và Phạm Thị Hằng. Nghiên cứu bào chế hệ nano chất mang lipid chứa curcumin. *Tạp chí Dược học*. 2018; 58(2): 59-63.

6. Mora-Huertas CE, Fessi H, and Elaissari A. Influence of process and formulation parameters on the formation of submicron particles by solvent displacement and emulsification - diffusion methods: Critical comparison. *Advances in colloid and interface science*. 2011; 163(2): 90-122.

7. Quintanar-Guerrero D, et al. Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly (D, L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996; 143(2): 133-141.

8. Rachmawati H, et al. Curcumin-loaded PLA nanoparticles: Formulation and physical evaluation. *Scientia Pharmaceutica*. 2016; 84(1): 191-202.

9. Urošević M, et al. Curcumin: Biological activities and modern pharmaceutical forms. *Antibiotics*. 2022; 11(2): 135.

10. Wahlang B., Pawar Y. B., and Bansal A. K. "Identification of permeability-related hurdles in oral delivery of curcumin using the Caco-2 cell model", *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2011; 77(2): 275-282.

NGHIÊN CỨU ĐỘC TÍNH CẤP VÀ BÁN TRƯỜNG DIỄN CỦA VIÊN DẠ DÀY 105 TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Nguyễn Tô Hiệu¹, Hồ Cảnh Hậu¹
Lê Thị Hồng Hạnh^{2*}, Lê Thị Huyền Trang³

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định được độc tính cấp trên chuột nhắt trắng và bán trường diễn trên chuột cống trắng của Viên Dạ dày 105. **Phương pháp nghiên cứu:** Sử dụng phương pháp Litchfield - Wilcoxon để đánh giá độc tính cấp trên chuột nhắt trắng. Đánh giá độc tính bán trường diễn của chế phẩm theo quy định OECD và Bộ Y tế Việt Nam trên đối tượng là chuột cống trắng. **Kết quả:** Với liều cao nhất cho chuột uống là 63,33 g/kg/24h chưa xác định được LD50 của Viên Dạ dày 105 trên chuột nhắt trắng. Chuột cống trắng uống chế phẩm liên tục trong 28 ngày với 2 mức liều 0,67 g/kg/24h và 2,02 g/kg/24h không gây ảnh hưởng đến số lượng hồng cầu, bạch cầu, hàm lượng hemoglobin, hoạt độ enzym AST, ALT, hàm lượng cholesterol, albumin và creatinin, không gây biến đổi về mô bệnh học của tế bào gan, thận trên chuột nghiên cứu. **Kết luận:** Viên Dạ dày 105 không gây độc tính cấp trên chuột nhắt trắng với liều cao nhất cho chuột uống là: 63,33 g/kg/24h và không ảnh hưởng đến chức năng tạo máu, chức năng gan, thận của chuột cống trắng thí nghiệm sau 28 ngày nghiên cứu.

Từ khoá: Viên Dạ dày 105; Độc tính cấp; Cơ quan tạo máu; Gan; Thận.

STUDY ON THE ACUTE TOXICITY AND SEMI-CHRONIC TOXICITY OF 105 STOMACH TABLET ON EXPERIMENTAL ANIMALS

Abstract

Objectives: To study acute and semi-chronic toxicity of the 105 Stomach Tablet in experimental animals. **Methods:** The acute toxicity of the preparation was evaluated by the Litchfield - Wilcoxon method on white mice.

¹Bệnh viện Quân y 105

²Học viện Quân y

³Viện Y học Cổ truyền Quân đội

*Tác giả liên hệ: Lê Thị Hồng Hạnh (lionqueenhvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 31/3/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 29/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.338>

The semi-chronic toxicity of the preparation on white rats was evaluated according to the OECD and the Ministry of Health of Vietnam. **Results:** LD50 was not found in the oral administration of 105 Stomach Tablet in white mice with the highest oral dose of 63.33 g/kg/24h. In a semi-chronic studying with 2 doses of 0.67 g/kg/24h and 2.02 g/kg/24h continuously for 28 days, the preparation did not affect the number of red blood cells, white blood cells, haemoglobin content, AST, ALT enzyme activity, cholesterol, Albumin and creatinine content, did not cause histopathological changes of liver and kidney cells in studied mice. **Conclusion:** The 105 Stomach Tablet did not cause acute toxicity in white mice with the highest oral dose of 63.33 g/kg/24h and did not affect the hematopoietic, liver, or kidney function of rats experimental blank after 28 days of study.

Keywords: 105 Stomach Tablet; Acute toxicity; Semi-chronic toxicity; Experimental animal.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm loét dạ dày tá tràng là bệnh phổ biến trên thế giới và Việt Nam. Ở các nước phát triển chiếm khoảng 35% các bệnh lý tiêu hóa. Trên thế giới khoảng 10 - 15% dân số bị mắc viêm loét dạ dày tá tràng [1]. Ở Việt Nam tỷ lệ này khoảng 7% dân số [2]. Trong y học cổ truyền, để điều trị viêm loét dạ dày tá tràng có nhiều bài thuốc, vị thuốc đã được ứng dụng hiệu quả. Viên Dạ dày 105 bao gồm: Cao benladon, bột mộc hương, bột hương phụ, bột cam thảo, tinh bột nghệ, gel nhôm, bột mai mực được bào chế dưới dạng viên nén có nhiều ưu điểm như tiện sử dụng, tác dụng nhanh, phân liều chính xác. Để sản phẩm có thể được ứng dụng trong thực tế cần có các nghiên cứu đánh giá trên thực nghiệm

và lâm sàng. Vì thế, Nghiên cứu này được thực hiện nhằm: *Đánh giá độc tính cấp và bán trường diễn của Viên Dạ dày 105 nhằm cung cấp dữ liệu cho những nghiên cứu tiếp theo.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* Viên Dạ dày 105 do Bệnh viện Quân y 105 cung cấp - đạt tiêu chuẩn cơ sở. Thành phần gồm có: Cao benladon 0,77 mg, bột mộc hương 7,69 mg, bột hương phụ 15,38 mg, bột cam thảo 11,54 mg, tinh bột nghệ 46,15 mg, gel nhôm 50 mg, bột mai mực 126,92 mg, tinh bột sắn 115,38 mg, Magie stearat 4 mg, hồ tinh bột 12%. Khối lượng viên: 400 mg.

* *Động vật thí nghiệm*: Chuột nhắt trắng và chuột cống trắng đạt tiêu chuẩn thí nghiệm. Chuột nhắt trắng dòng Swiss cân nặng 20 - 22g. Chuột cống trắng dòng Wistar, cân nặng 160 ± 15 g được cung cấp và nuôi dưỡng nhiệt độ 25 - 30°C, độ ẩm 60-70%, ăn thức ăn chuẩn tại Trung tâm Nghiên cứu Động vật Thực nghiệm - Học viện Quân y.

* *Trang thiết bị*: Máy xét nghiệm sinh hoá tự động (AU 480, serial: 96693 - Beckman coulter - USA), máy xét nghiệm huyết học tự động (Mindray BS - 240 - Tây Ban Nha), bộ dụng cụ phẫu thuật cho động vật cỡ nhỏ (Everbest, Pakistan).

* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu*:

- Địa điểm: Bộ môn Dược lý - Viện Đào tạo Dược - Học viện Quân y.

- Thời gian: Từ tháng 7 - 11/2022.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Xác định độc tính cấp theo đường uống*:

Độc tính cấp được xác định theo đường uống trên chuột nhắt trắng, thực hiện theo hướng dẫn của Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (OECD) và Bộ Y tế Việt Nam. Chuột nhắt trắng được chia ngẫu nhiên, mỗi lô 10 con. Sau khi dò liều, các lô chuột lần lượt uống chế phẩm với các mức liều tăng dần. Để tính được LD₅₀ cần xác định liều cao nhất không gây chết chuột và liều thấp nhất gây chết 100% số chuột.

Chuột được theo dõi liên tục trong 07 ngày. Các chỉ tiêu theo dõi: sự thay đổi tập tính (hoạt động, ăn, uống, lông, thần kinh, tiêu hóa...) và tỷ lệ chuột chết trong từng lô nghiên cứu trong 72 giờ để xác định liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm (LD₅₀). Tính toán: Liều gây chết 50% số động vật thí nghiệm LD₅₀ theo phương pháp cải tiến của Lichtfiel - Wilcoxon và CS [3, 4, 5, 6, 7].

Chuẩn bị mẫu: Mẫu chế phẩm được nghiền bằng cối thủy tinh, pha 30 viên có khối lượng 11,72g với 18 mL được thể tích 22,20 mL.

* *Đánh giá độc tính bán trường diễn của Viên Dạ dày 105 trên chuột cống trắng*:

Chuẩn bị mẫu: Mẫu chế phẩm nghiên cứu cân, tính toán liều và được pha với nước cất tạo hỗn dịch sau đó cho chuột uống với thể tích mỗi lô là 6 mL/kg/24h.

30 chuột cống trắng được sử dụng cho nghiên cứu, chia thành 3 lô, mỗi lô 10 con [3, 5, 8, 9]:

- Lô chứng (n = 10): Uống nước cất liên tục trong 28 ngày với thể tích 6 mL/kg/24h.

- Lô trị 1 (n = 10): Uống viên dạ dày 105 trong liên tục trong 28 ngày với liều 0,67g/kg/24h, thể tích uống 6 mL/kg/24h (tương ứng với liều dùng trên người, hệ số 7).

- Lô trị 2 (n = 10): Uống viên dạ dày 105 trong liên tục trong 28 ngày với liều 2,02 g/kg/24h, thể tích uống 6 mL/kg/24h (gấp 3 liều dùng trên người, hệ số 7).

* Các chỉ tiêu đánh giá:

- Chỉ tiêu theo dõi toàn thân: Cân nặng theo dõi trước nghiên cứu, sau 14 ngày và 28 ngày thí nghiệm, hoạt động, ăn uống, lông, tiêu hóa, thần kinh...

- Huyết học: Hồng cầu, hemoglobin, bạch cầu, tiểu cầu.

- Sinh hóa: AST, ALT, creatinin, cholesterol, albumine, bilirubin toàn phần.

- Mô bệnh học: Sau 28 ngày, phẫu tích chuột lấy gan, thận. Quan sát hình ảnh đại thể các cơ quan gan, thận và làm tiêu bản mô bệnh học 30% số chuột tại Khoa Giải phẫu bệnh - Bệnh viện Quân y 103.

Chuột được lấy mẫu nghiên cứu các chỉ số sinh hóa, huyết học tại 03 thời điểm: T0, sau 14 ngày và sau 28 ngày nghiên cứu [1, 4, 6].

* Xử lý và phân tích số liệu:

Sử dụng phần mềm SPSS 16.0 để xử lý thống kê. Các chỉ số được sử dụng để phân tích: Giá trị trung bình, độ lệch chuẩn, p.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Viên Dạ dày 105 theo đường uống trên chuột nhắt trắng

Bảng 1. Kết quả nghiên cứu độc tính cấp của Viên Dạ dày 105 trên chuột nhắt trắng theo đường uống.

Liều sử dụng (g/kg TLCT/24h)	n	Số lượng động vật chết (sau 1 tuần)	Số lượng động vật sống (sau 1 tuần)
63,33	10	0	10
52,78	10	0	10
42,23	10	0	10
31,67	10	0	10

Sau khi dùng Viên Dạ dày 105 từ mức liều 31,67 g/kg/24h (ngoại suy liều trên người là 131,95 g/50kg/24h, gấp từ 27,50 lần liều sử dụng trên người, với hệ số 12,

liều sử dụng trên người dự kiến của chế phẩm là 4,8g /50kg/24h) đến mức liều cao nhất có thể cho chuột uống là 63,33 g/kg/24h (ngoại suy liều trên người là 263,86 g/50kg/24h, gấp từ 54,97 lần liều sử dụng trên người, với hệ số 12). Sau 72 giờ theo dõi, tất cả các lô nghiên cứu đều không xuất hiện chuột chết. Sau 07 ngày theo dõi, chuột nhất trắng ăn uống đi lại hoạt động bình thường, không có rối loạn thần kinh, không có rối loạn về tiêu hóa, lông mượt, mắt trong, hậu môn khô, phân thành khuôn.

2. Kết quả nghiên cứu độc tính bán trường diễn của Viên Dạ dày 105 theo đường uống trên chuột cống trắng

** Ảnh hưởng của Viên Dạ dày 105 đến cân nặng của chuột cống trắng nghiên cứu:*

Bảng 2. Ảnh hưởng của Viên Dạ dày 105 đến cân nặng của chuột cống trắng.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ($\bar{x} \pm SD$), n = 10			P _{1,2,3}
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Cân nặng	Trước thí nghiệm (a)	161,3 ± 14,46	161,30 ± 12,78	161,30 ± 12,78	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	181,9 ± 16,97	179,5 ± 16,96	182,30 ± 17,00	
	Sau 04 tuần (c)	207 ± 14,91	203,8 ± 13,87	204,40 ± 14,26	
P _{a,b,c}		< 0,05	< 0,05	< 0,05	

Cân nặng của chuột cống trắng trong cùng một nhóm nghiên cứu sau 02 tuần và 04 tuần đều tăng nhiều so với thời điểm xuất phát điểm (p < 0,05). Khi so sánh các nhóm trong cùng một thời điểm nghiên cứu, cả 3 nhóm nghiên cứu cân nặng không có sự khác biệt (p < 0,05). Như vậy, chuột cống trắng uống 28 ngày Viên Dạ dày 105 với liều 1 và liều 2 không ảnh hưởng đến cân nặng chuột.

* Ảnh hưởng của Viên Dạ dày 105 đối với một số chỉ tiêu về huyết học của chuột cống trắng nghiên cứu:

Bảng 3. Ảnh hưởng của Viên Dạ dày 105 đến một số chỉ tiêu về huyết học của chuột cống trắng nghiên cứu.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ($\bar{x} \pm SD$), n = 10			P _{1,2,3}
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Hồng cầu (T/L)	Trước thí nghiệm (a)	7,68 ± 0,48	8,0 ± 0,4	7,78 ± 0,50	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	8,13 ± 0,46	8,06 ± 0,58	8,11 ± 0,45	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	8,73 ± 0,56	8,89 ± 0,41	8,79 ± 0,61	> 0,05
P _{a,b,c}		> 0,05	> 0,05	> 0,05	
HST (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	14,57 ± 0,94	15,1 ± 0,6	14,81 ± 1,28	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	14,75 ± 0,74	14,63 ± 1,06	14,80 ± 0,61	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	15,56 ± 1,01	15,77 ± 0,51	15,84 ± 1,03	> 0,05
P _{a,b,c}			> 0,05		
Bạch cầu (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	8,5 ± 2,40	9,4 ± 3,2	9,12 ± 2,80	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	15,22 ± 3,75	15,43 ± 4,19	14,81 ± 3,89	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	10,26 ± 2,03	12,71 ± 1,99	10,52 ± 2,08	> 0,05
P _{a,b,c}		p _{b-a,c} < 0,05 p _{a-c} > 0,05	p _{b-a,c} < 0,05 p _{a-c} > 0,05	p _{b-a,c} < 0,05 p _{a-c} > 0,05	
Tiểu cầu (G/L)	Trước thí nghiệm (a)	525,6 ± 141,03	462,7 ± 93,2	512,20 ± 119,77	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	613,30 ± 126,05	555,3 ± 104,84	578,30 ± 96,49	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	646,90 ± 67,56	564,60 ± 106,30	622,70 ± 74,08	> 0,05
P _{a,b,c}		p _{a-b,c} < 0,05 p _{b-c} > 0,05	p _{a-b,c} < 0,05 p _{b-c} > 0,05	p _{a-b,c} < 0,05 p _{b-c} > 0,05	

Số lượng hồng cầu và huyết sắc tố ở 3 nhóm nghiên cứu sau 02 và 04 tuần nghiên cứu đều tăng nhẹ, tuy nhiên không có sự khác biệt với thời điểm xuất phát điểm ($p > 0,05$). So sánh 3 nhóm tại cùng 1 thời điểm, các giá trị số lượng hồng cầu là tương đương ($p > 0,05$).

Số lượng bạch cầu ở 3 nhóm động vật sau 02 tuần nghiên cứu tăng ở cả 3 lô và khác biệt so với thời điểm xuất phát điểm ($p < 0,05$). Tại thời điểm sau 04 tuần nghiên cứu số lượng bạch cầu giảm hơn so với thời điểm

sau 02 tuần. Khi so sánh giữa các lô trong cùng một thời điểm sau 02 và 04 tuần cho thấy số lượng bạch cầu các nhóm nghiên cứu là tương đương nhau ($p > 0,05$). Các giá trị bạch cầu của chuột cống trắng vẫn nằm trong giá trị bình thường.

Số lượng tiểu cầu trong cùng một lô có thay đổi tại các thời điểm nghiên cứu, so sánh 3 lô tại cùng một thời điểm sau 02 tuần và sau 04 tuần không có sự khác biệt với $p > 0,05$. Các giá trị tiểu cầu đều nằm trong giá trị bình thường của chuột cống trắng.

** Ảnh hưởng của Viên Dạ dày 105 với chức năng gan, thận của chuột cống trắng:*

Bảng 4. Ảnh hưởng của Viên Dạ dày 105 đối với chức năng gan, thận của chuột cống trắng.

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$), n = 10			P _{1,2,3}
		Chứng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
AST (U/L)	Trước thí nghiệm (a)	93,93 ± 11,78	99,6 ± 13,7	99,84 ± 15,96	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	114,06 ± 33,95	102,95 ± 18,75	102,60 ± 18,11	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	105,96 ± 14,39	100,03 ± 32,69	114,05 ± 26,76	> 0,05
P _{a,b,c}		> 0,05			
ALT (U/L)	Trước thí nghiệm (a)	39,32 ± 14,25	33,7 ± 6,5	39,00 ± 9,19	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	52,17 ± 7,53	49,54 ± 10,31	55,24 ± 26,21	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	50,00 ± 11,97	54,08 ± 14,79	53,03 ± 11,44	p _{2,3-1} < 0,05
P _{a,b,c}		p _{a-,b,c} < 0,05; p _{b-c} > 0,05			

Chỉ tiêu nghiên cứu	Thời điểm xét nghiệm	Nhóm nghiên cứu ($\bar{X} \pm SD$), n = 10			P _{1,2,3}
		Chúng (1)	Lô trị 1 (2)	Lô trị 2 (3)	
Cholesterol (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	1,78 ± 0,25	1,70 ± 0,20	1,56 ± 0,31	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	1,59 ± 0,23	1,36 ± 0,23	1,35 ± 0,18	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	1,18 ± 0,18	1,02 ± 0,16	0,87 ± 0,14	> 0,05
P _{a,b,c}		< 0,05			
Albumine (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	34,35 ± 1,67	34,8 ± 2,6	34,61 ± 3,24	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	34,52 ± 1,11	33,77 ± 2,09	34,29 ± 1,54	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	33,96 ± 0,98	34,04 ± 1,91	34,12 ± 1,96	> 0,05
P _{a,b,c}		> 0,05	> 0,05	> 0,05	
Creatinin (μmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	41,35 ± 3,98	47,7 ± 2,4	44,57 ± 4,70	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	40,61 ± 2,83	42,27 ± 3,22	42,86 ± 2,28	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	38,20 ± 3,61	35,84 ± 8,71	40,71 ± 3,03	> 0,05
P _{a,b,c}		> 0,05			
Bilirubin TP (mmol/L)	Trước thí nghiệm (a)	4,23 ± 0,59	3,76 ± 0,74	3,89 ± 1,00	> 0,05
	Sau 02 tuần (b)	3,48 ± 0,81	3,24 ± 0,48	2,45 ± 0,69	> 0,05
	Sau 04 tuần (c)	2,27 ± 0,29	2,36 ± 0,72	2,1 ± 0,86	> 0,05
P _{a,b,c}		P _{a,b-c} < 0,05, P _{a-b} > 0,05			

Hoạt độ enzyme AST của 3 nhóm nghiên cứu sau 02 và 04 tuần nghiên cứu tăng nhẹ so với thời điểm trước thí nghiệm ($p > 0,05$). So sánh tại cùng một thời điểm nghiên cứu không có sự khác biệt giữa các nhóm nghiên cứu và nhóm chúng ($p > 0,05$). Hoạt độ enzyme ALT của cả 3 nhóm nghiên cứu tăng sau 02 và 04 tuần tăng khác biệt so với thời điểm trước nghiên cứu ($p < 0,05$). So sánh các nhóm tại cùng một thời điểm sau 02 tuần và 04 tuần

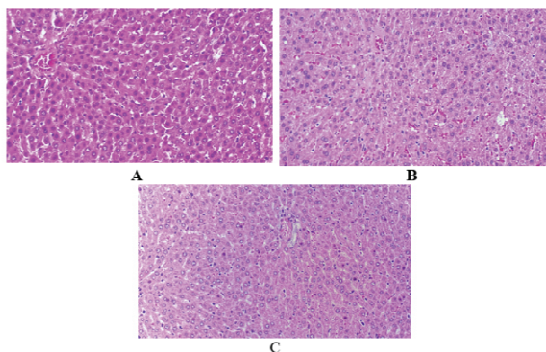
cho thấy, hoạt độ ALT cả 3 nhóm nghiên cứu là tương đương nhau ($p > 0,05$). Như vậy, chuột cống trắng sau 28 ngày uống Viên Dạ dày 105 với liều 1 và liều 2 không gây ảnh hưởng đến nồng độ AST và ALT máu chuột.

Nồng độ cholesterol ở các lô nghiên cứu sau 02 tuần và 04 tuần đều giảm khác biệt so với lô chứng ($p < 0,05$). So sánh giữa các lô trong cùng 1 thời điểm, nồng độ cholesterol là tương đương ($p > 0,05$).

So sánh nồng độ albumin ở lô chứng và hai lô uống thuốc giữa thời điểm trước nghiên cứu và thời điểm sau 02 tuần, 04 tuần nghiên cứu đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). So sánh nồng độ albumin giữa 3 lô tại một thời điểm đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Nồng độ bilirubin ở các lô nghiên cứu sau 02 tuần và 04 tuần đều giảm khác biệt so với lô chứng ($p < 0,05$). So sánh giữa các lô trong cùng 1 thời điểm, nồng độ bilirubin là tương đương ($p > 0,05$).

So sánh nồng độ creatinin của chuột cống trắng trước và sau nghiên cứu không có sự khác biệt ($p > 0,05$). So sánh tại cùng một thời điểm nồng độ creatinin của 2 nhóm được uống thuốc liều 1 và liều 2 tương đương với nhóm chứng ($p > 0,05$).



Hình 1: Hình ảnh mô bệnh học gan chuột cống trắng ở các nhóm nghiên cứu

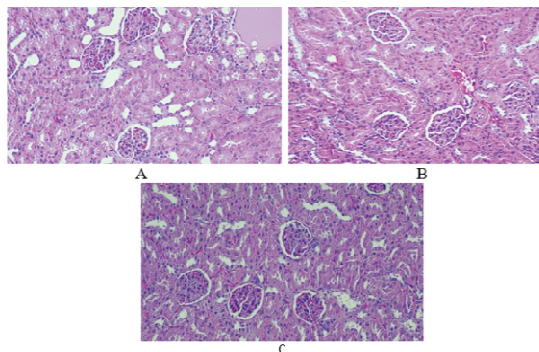
A: Lô chứng ; B: Lô trị 1; C: Lô trị 2.

Như vậy, chuột cống trắng sau 28 ngày uống Viên Dạ dày 105 với liều 1 và liều 2 không gây ảnh hưởng đến nồng độ AST và ALT máu chuột, albumin, creatinin, cholesterol, bilirubin toàn phần.

* *Kết quả mô bệnh học tạng của chuột cống trắng thí nghiệm:*

Hình ảnh đại thể 2 cơ quan gan và thận được quan sát cho thấy: Gan và thận ở lô chuột được uống liều 1 và liều 2 nghiên cứu có hình thái và màu sắc không khác biệt với lô chứng.

Kết quả mô bệnh học gan, thận chuột cống trắng ở các lô nghiên cứu cho thấy: Viên Dạ dày 105 dùng đường uống với liều 0,67 g/kg/24h TLCT/24 giờ và liều 2,02 g/kg/24h giờ liên tục trong 28 ngày, không gây tổn thương trên gan, thận của chuột cống trắng nghiên cứu.



Hình 2: Hình ảnh mô bệnh học thận chuột cống trắng ở các nhóm nghiên cứu

A: Lô chứng ; B: Lô trị 1; C: Lô trị 2.

KẾT LUẬN

1. Kết quả độc tính cấp của Viên Dạ dày 105 trên chuột nhắt trắng

Chưa xác định được LD50 của Viên Dạ dày trên chuột nhắt trắng theo đường uống với liều cao nhất có thể cho chuột nhắt trắng uống là: 63,33 g/kg/24h (ngoại suy liều trên người là 263,86 g/50kg/24h, gấp từ 54,97 lần liều sử dụng trên người, với hệ số 12). Chuột nhắt trắng sau 07 ngày dùng thuốc theo dõi không xuất hiện độc tính.

2. Kết quả bán trường diễn của Viên Dạ dày 105 trên chuột cống trắng sau 28 ngày nghiên cứu

Kết quả chuột cống trắng sau khi được cho uống thuốc liên tục Viên Dạ dày 105 trong 28 ngày với 2 mức liều: liều 1 là 0,67 g/kg/24h (tương đương với liều dự kiến dùng trên người) và liều 2 là 2,02 g/kg/24h: Viên Dạ dày 105 không ảnh hưởng đến cân nặng của chuột cống trắng, không ảnh hưởng đến cơ quan tạo máu, không ảnh hưởng chức năng gan, chức năng thận của chuột cống trắng nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hoàng Trọng Thăng. *Giáo trình sau Đại học Bệnh tiêu hóa gan-mật*. Nhà xuất bản Đại học Huế. 2014: 105-147.

2. Bộ Y tế. *Chẩn đoán và điều trị các bệnh ngoại khoa*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam 2013:329-364.

3. Bộ Y tế. *Hướng dẫn thử nghiệm tiền lâm sàng và lâm sàng thuốc đông y, thuốc từ dược liệu*. QĐ 141-QĐ-K2ĐT 27/10/2015.

4. Đỗ Trung Đàm. *Phương pháp nghiên cứu độc tính cấp của thuốc*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2014.

5. Viện Dược liệu. *Phương pháp nghiên cứu tác dụng dược lý của thuốc từ thảo dược*. Nhà xuất bản Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội. 2006.

6. OECD. Test No.425: Acute Oral Toxicity: UP- and-Down Procedure. OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4: *Health Effects*. 2008.

7. WHO. Research Guidelines for Evaluating the Safety and Efficacy of Herbal Medicines, Geneva: World Health Organization. 2000.

8. OECD. Test No.407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Section 4: *Health Effects*. 2008.

9. OECD. Test No.408: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents, OECD Guidelines for the testing of Chemicals, Section 4: *Health Effects*. 2018.

ỨNG DỤNG PCR KỸ THUẬT SỐ VI GIỌT TRONG ĐỊNH LƯỢNG TUYỆT ĐỐI NỒNG ĐỘ ARN

Nguyễn Linh Toàn^{1,2}, Bùi Khắc Cường^{1,2*}

Tóm tắt

Mục tiêu: PCR kỹ thuật số vi giọt (Droplet Digital PCR - ddPCR) là phương pháp PCR sử dụng hệ thống vi giọt, cho phép đo lường hàng nghìn sự kiện khuếch đại độc lập trong một phản ứng đơn lẻ. Kỹ thuật ddPCR cho phép sử dụng lượng mẫu và thuốc thử thấp hơn, đồng thời giảm chi phí tổng thể so với các phương pháp khác trong khi vẫn duy trì độ nhạy và độ chính xác cao. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiến hành theo phương pháp thực nghiệm, sử dụng ddPCR để định lượng RNA trong mẫu nghiên cứu. Quá trình định lượng trên hệ thống PCR kỹ thuật số vi giọt gồm các bước: Tạo vi giọt, khuếch đại, đọc vi giọt và phân tích dữ liệu để tính toán nồng độ RNA. **Kết quả:** Nồng độ RNA trong các mẫu không pha loãng, pha loãng với hệ số 10 và 100 lần lượt là 380 bản sao/ μ L; 40,7 bản sao/ μ L và 3,4 bản sao/ μ L. Biểu đồ phân bố tín hiệu cho thấy sự khác biệt rõ rệt về cường độ tín hiệu giữa hai quần thể vi giọt có và không có sản phẩm khuếch đại. Dữ liệu cho thấy mối tương quan tuyến tính thuận rất chặt chẽ giữa lượng RNA với hệ số pha loãng. **Kết luận:** PCR kỹ thuật số vi giọt là kỹ thuật có độ nhạy cao trong định lượng tuyệt đối nồng độ RNA.

Từ khóa: PCR kỹ thuật số vi giọt; ddPCR; Định lượng.

APPLICATION OF DROPLET DIGITAL PCR FOR RNA ABSOLUTE QUANTIFICATION

Abstract

Objectives: Droplet Digital PCR (ddPCR) is a PCR method using a microdroplet system that allows the measurement of thousands of independent amplification events in a single reaction. The ddPCR technique requires lower sample and reagent volumes,

¹Trung tâm Nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y

²Bộ môn Sinh lý bệnh, Học viện Quân y

* Tác giả liên hệ: Bùi Khắc Cường (buikhaccuong@gmail.com)

Ngày nhận bài: 24/4/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 02/6/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.358>

and reduces overall costs compared to other methods while maintaining high sensitivity and accuracy. **Methods:** The study was conducted by the experimental method, using ddPCR to quantify the number of RNA copies in research samples. The quantification process on the ddPCR system includes microdroplet generation, amplification, microdroplet reading and data analysis to calculate RNA concentration. **Results:** RNA concentration in undiluted, diluted samples by a factor of 10 and 100 were 380 copies/ μ L, 40.7 copies/ μ L and 3.4 copies/ μ L, respectively. The signal distribution histogram showed a significant difference in signal intensity between the two populations of microdroplets with and without amplification products. The data showed a very tight positive linear correlation between RNA concentration and the dilution factors. **Conclusion:** ddPCR is a highly sensitive technique for RNA absolute quantification.

Keywords: Droplet Digital PCR; ddPCR; Quantification.

ĐẶT VẤN ĐỀ

PCR kỹ thuật số vi giọt (Droplet Digital PCR - ddPCR) là phương pháp PCR sử dụng hệ thống vi giọt nhũ tương dầu nước. Các vi giọt được tạo thành trong nhũ tương dầu-nước để tạo các vách ngăn phân tách các phân tử DNA mẫu. Các vi giọt có chức năng giống như các ống nghiệm hoặc giếng riêng lẻ của một đĩa phản ứng PCR [1]. Trong PCR truyền thống, một mẫu duy nhất chỉ cung cấp một phép đo duy nhất nhưng trong PCR kỹ thuật số vi giọt, một mẫu được phân chia thành 20.000 vi giọt có kích thước nanolit. Sự phân chia này cho phép đo lường hàng nghìn sự kiện khuếch đại độc lập trong một phản ứng đơn lẻ. Sau khi

khuếch đại, các vi giọt được phân tích để xác định tỷ lệ vi giọt dương tính trong mẫu ban đầu. Những dữ liệu này sau đó được phân tích bằng thống kê Poisson để xác định nồng độ mẫu DNA/RNA mục tiêu trong mẫu ban đầu [1]. Kỹ thuật ddPCR cho phép sử dụng lượng mẫu và thuốc thử thấp hơn, đồng thời giảm chi phí tổng thể so với các phương pháp khác trong khi vẫn duy trì độ nhạy và độ chính xác cao [2, 3]. Kỹ thuật ddPCR có khả năng định lượng số lượng tuyệt đối các bản sao DNA/RNA mục tiêu trên mỗi mẫu đầu vào mà không cần sử dụng các đường cong tiêu chuẩn, làm cho kỹ thuật này trở nên lý tưởng để định lượng DNA/RNA mục tiêu, phân tích tải

lượng virus và định lượng vi khuẩn [4, 5]. Hiện tại, kỹ thuật này chưa được triển khai phổ biến ở nước ta. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá khả năng định lượng số lượng bản sao RNA của kỹ thuật ddPCR.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng định lượng là mẫu RNA được tổng hợp *in vitro* với trình tự như sau: CCGACGACGACUACUAGCGUGC CUUUGUAAGCACAAGCUGAUGA GUACGAACUUAUGUACUCAUUC GUUUCGGAAGAGACAGGUACGU UAAUAGUAAUAGCGUACUUCU UUUUCUUGCUUUCGUGGUAUUC UUGCUAGUUACACUAGCCAUCC UUACUGCGCUUCGAUUGUGUGC GUACUGCUGCAAUAUUGUUAAC GUGAGUCUUGUAAAACCUUCUU UUUACGUUUACUCUCGUGUUA AAAUCUGAAUUCUUCUAGAGUU CCUGAUCUUCUGGUCU.

2. Phương pháp nghiên cứu

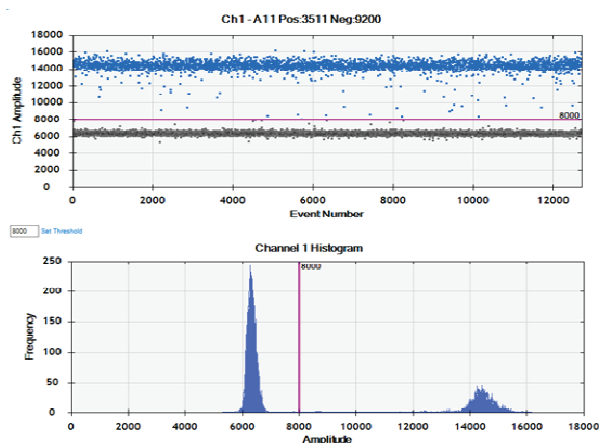
* *Phương pháp nghiên cứu:* Mẫu RNA được sử dụng để tổng hợp cDNA sử dụng RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermal Fisher). Sau khi tổng hợp cDNA, mẫu cDNA được

pha loãng với hệ số 10 và 100 để tạo ra các dung dịch cDNA có độ pha loãng khác nhau và được sử dụng để định lượng trên hệ thống ddPCR. Quá trình định lượng trên hệ thống PCR kỹ thuật số vi giọt của Bio-Rad gồm các bước: Tạo vi giọt, khuếch đại, đọc vi giọt và phân tích dữ liệu để tính toán nồng độ của RNA trong mẫu nghiên cứu. Quá trình khuếch đại mẫu và phát hiện sản phẩm khuếch đại sử dụng các cặp mồi và probe đặc hiệu. Mẫu sau khi khuếch đại được phân tích trên hệ thống đọc vi giọt QX200 (BioRad). Nghiên cứu được tiến hành tại Trung tâm Nghiên cứu động vật thực nghiệm, Học viện Quân y.

* *Xử lý số liệu:* Số liệu được phân tích và xử lý trên phần mềm QuantaSoft và GraphPad Prism 8.0. Số lượng bản sao trong phương pháp ddPCR được tính toán theo thuật toán phân phối Poisson dựa trên dữ liệu thu được từ tín hiệu của các vi giọt.

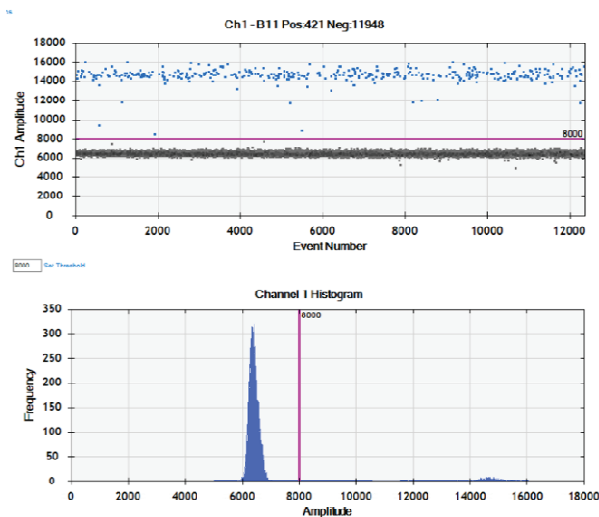
KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Các mẫu thử được định lượng thông qua các bước tạo vi giọt, khuếch đại, đọc vi giọt và phân tích dữ liệu để tính toán nồng độ của RNA trong mẫu nghiên cứu.



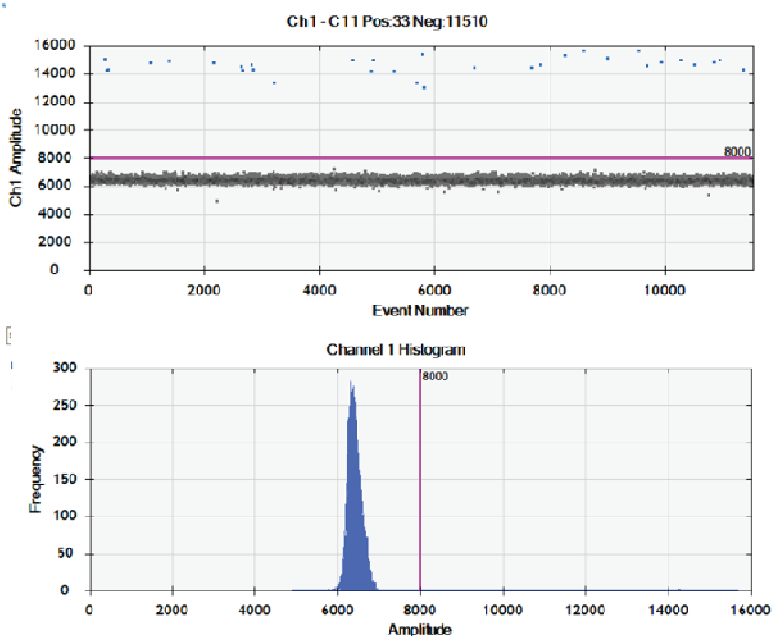
Hình 1. Kết quả phân tích mẫu RNA không pha loãng trên hệ thống ddPCR.

Kết quả định lượng mẫu RNA không pha loãng trên hệ thống ddPCR cho số lượng 380 bản sao/ μ L. Biểu đồ phân bố tín hiệu cho thấy sự khác biệt rõ rệt về cường độ tín hiệu giữa hai quần thể vi giọt có sản phẩm khuếch đại và không có sản phẩm khuếch đại. Trong đó, tín hiệu huỳnh quang của các giọt có sản phẩm khuếch đại dao động xung quanh 15.000 đơn vị, trong khi tín hiệu của các giọt không có sản phẩm khuếch đại chỉ dao động xung quanh 6.000 đơn vị. Đặc biệt, hai quần thể giọt này có sự phân tách rõ ràng trên biểu đồ (Hình 1).



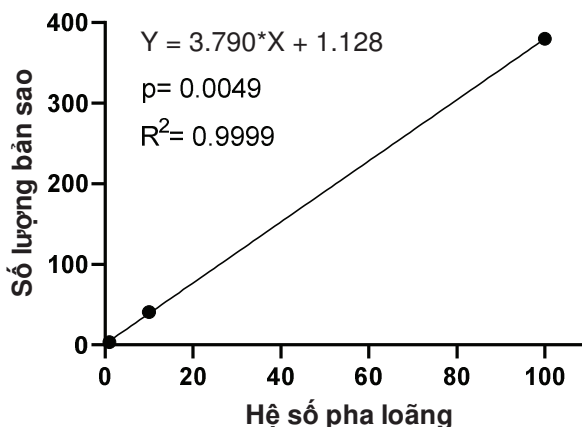
Hình 2. Kết quả phân tích mẫu RNA pha loãng 10 lần trên hệ thống ddPCR.

Kết quả định lượng mẫu RNA không pha loãng 10 lần trên hệ thống ddPCR cho số lượng 40,7 bản sao/ μ L. Biểu đồ phân bố tín hiệu cho thấy sự khác biệt rõ rệt về cường độ tín hiệu giữa hai quần thể vi giọt có sản phẩm khuếch đại và không có sản phẩm khuếch đại (Hình 2).



Hình 3. Kết quả phân tích mẫu RNA pha loãng 100 lần trên hệ thống ddPCR.

Kết quả định lượng mẫu RNA pha loãng 100 lần trên hệ thống ddPCR cho số lượng 3,4 bản sao/ μ L. Biểu đồ phân bố tín hiệu cho thấy sự khác biệt rõ rệt về cường độ tín hiệu giữa hai quần thể vi giọt có sản phẩm khuếch đại và không có sản phẩm khuếch đại. Như vậy, trên cả ba biểu đồ phân bố của ba nồng độ pha loãng khác nhau, cường độ tín hiệu của các vi giọt có và không có khuếch đại có độ ổn định, nhất quán và phân tách rõ về tín hiệu huỳnh quang (Hình 3).



Hình 4. Phương trình đường chuẩn xây dựng dựa trên hệ số pha loãng và số lượng bản sao định lượng trên hệ thống ddPCR (theo các kết quả cung cấp ở hình 1 - 3).

Dữ liệu cho thấy mối tương quan tuyến tính thuận rất chặt chẽ giữa kết quả định lượng RNA trên hệ thống ddPCR và các hệ số pha loãng với phương trình tuyến tính $Y = 3,790 * X + 1,128$, hệ số $R^2 = 0,9999$ và $p = 0,0049$. Kết quả này phản ánh độ chính xác và độ nhạy cao của phương pháp định lượng bằng kỹ thuật ddPCR. Trong thí nghiệm này, số bản sao thấp nhất được phát hiện là 3,4 bản sao/ μ L (Hình 4).

BÀN LUẬN

Về mặt lý thuyết, kỹ thuật ddPCR có thể phát hiện được số lượng bản sao thấp. Giới hạn phát hiện của kỹ thuật này là 0,25 bản sao/ μ L. Một số nghiên cứu gần đây cho thấy, ddPCR có độ nhạy cao hơn ngưỡng phát hiện là 0,066 bản sao/ μ L, cao hơn 180 lần so với kỹ thuật RT-qPCR truyền thống [6]. ddPCR cũng có thể phát hiện mẫu có số lượng bản sao thấp, ngay cả ở nồng độ pha loãng gấp nhiều lần. ddPCR cho thấy độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn so với RT-qPCR để chẩn đoán các bệnh truyền nhiễm như COVID-19 với tải lượng virus thấp [4]. Các thử nghiệm dựa trên ddPCR cũng cho phép phát hiện các đột biến liên quan đến các gen IDH1, IDH2, H3-3A, BRAF, PRKCA và TERT trong bệnh u thần kinh đệm. Ngoài ra, các xét nghiệm dựa trên ddPCR cũng đánh giá được sự thay đổi số lượng bản

sao của các gen có liên quan đến chẩn đoán bệnh [3]. ddPCR cho phép phát hiện đột biến trong các tế bào khối u không được chọn lọc, cho phép bỏ qua quy trình chọn lọc tế bào tốn thời gian và chi phí. Độ chính xác của ddPCR gần đây đã được chứng minh phù hợp để phát hiện đột biến trong các mẫu sinh thiết lỏng, có thể được sử dụng như một phương pháp thay thế không xâm lấn và thân thiện với bệnh nhân, đặc biệt trong quá trình theo dõi bệnh [2]. Các nghiên cứu cũng chứng minh ddPCR là phương pháp phát hiện đột biến có độ nhạy cao và chính xác. Ví dụ, sự hiện diện của đột biến T315I ở bệnh nhân lơ-xe-mi cấp dòng lympho [7]; các biến thể KRAS và GNAS liên quan đến quá trình bệnh sinh ung thư tuyến tụy [8]. PCR kỹ thuật số vi giọt là kỹ thuật có độ nhạy cao để phát hiện và theo dõi ctDNA. Với độ chính xác, độ nhạy cao, khả năng lặp lại và khả năng định lượng tuyệt đối cao, ddPCR ngày càng được sử dụng rộng rãi trong sinh thiết lỏng phục vụ theo dõi và quản lý bệnh nhân [5].

KẾT LUẬN

PCR kỹ thuật số vi giọt là kỹ thuật có độ nhạy cao trong định lượng tuyệt đối nồng độ RNA trong các mẫu nghiên cứu. Ứng dụng kỹ thuật này có tiềm năng mang lại nhiều lợi ích trong các nghiên cứu y sinh học và hoạt động thực hành lâm sàng.

* **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 108.02-2019.324.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Pinheiro LB, Coleman VA, Hindson CM, et al. Evaluation of a droplet digital polymerase chain reaction format for DNA copy number quantification. *Anal Chem*. Jan 17 2012; 84(2):1003-11. doi:10.1021/ac202578x.
2. Drandi D, Ferrante M, Borriero M, Ferrero S. MYD88 L265P mutation detection by ddPCR: Recommendations for screening and minimal residual disease monitoring : ddPCR for highly sensitive detection of MYD88 L265P mutation. *Methods Mol Biol*. 2023; 2621:57-72. doi:10.1007/978-1-0716-2950-5_5.
3. Wolter M, Felsberg J, Malzkorn B, Kaulich K, Reifenberger G. Droplet digital PCR-based analyses for robust, rapid, and sensitive molecular diagnostics of gliomas. *Acta Neuropathol Commun*. Mar 31 2022; 10(1):42. doi:10.1186/s40478-022-01335-6.
4. Falzone L, Musso N, Gattuso G, et al. Sensitivity assessment of droplet digital PCR for SARS-CoV-2 detection. *Int J Mol Med*. Sep 2020; 46(3):957-964. doi:10.3892/ijmm.2020.4673.
5. Gezer U, Bronkhorst AJ, Holdenrieder S. The Clinical Utility of Droplet Digital PCR for Profiling Circulating Tumor DNA in Breast Cancer Patients. *Diagnostics (Basel)*. Dec 5 2022;12(12)doi:10.3390/diagnostics12123042.
6. Dutton DG, Painter S. The battered woman syndrome: effects of severity and intermittency of abuse. *Am J Orthopsychiatry*. Oct 1993; 63(4):614-22. doi:10.1037/h0079474.
7. Wan L, Ma J, Gong X, et al. Droplet digital polymerase chain reaction improves the detection of BCR-ABL1 kinase domain mutation in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Int J Lab Hematol*. Mar 29 2023; doi:10.1111/ijlh.14069
8. Maeda C, Ono Y, Hayashi A, et al. Multiplex digital PCR assay to detect multiple KRAS and GNAS mutations associated with pancreatic carcinogenesis from minimal specimen amounts. *J Mol Diagn*. Mar 23 2023; doi:10.1016/j.jmoldx.2023.02.007.

NGHIÊN CỨU TẠO GEL HUYẾT TƯƠNG GIÀU TIỂU CẦU
TỪ MÁU ĐỘNG MẠCH DÂY RÓN NGƯỜI

Đỗ Xuân Hai^{1*}

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu điều chế gel huyết tương giàu tiểu cầu (platelet-rich plasma - PRP) từ máu động mạch dây rốn người. **Phương pháp nghiên cứu:** PRP được thu nhận từ máu động mạch dây rốn và được kích hoạt bằng hỗn dịch kích hoạt tiểu cầu CaCl_2 (10%)/Thrombin tỷ lệ 1/2 (mL) với tỷ lệ thích hợp. Gel PRP sau điều chế được đánh giá chất lượng theo bảng phân loại DEPA của Magalon J. **Kết quả:** PRP thu được có số lượng tiểu cầu trung bình là $6,5 \pm 1,5 \times 10^9$ tiểu cầu/mL, cao gấp 8 lần so với máu toàn phần. Tỷ lệ thu hồi tiểu cầu và độ tinh khiết đạt mức chất lượng cao theo bảng phân loại DEPA. Quá trình hoạt hoá đạt chất lượng gần như lý tưởng. Tỷ lệ PRP/ CaCl_2 (10%)/Thrombin tối ưu là 1/2/5. **Kết luận:** Điều chế thành công gel PRP từ máu cuống rốn với nồng độ tiểu cầu cao gấp 8 lần máu toàn phần, màu vàng nhạt và có độ tinh khiết 3,9+.

Từ khóa: PRP; Máu dây rốn; Hỗn dịch kích hoạt tiểu cầu.

RESEARCH ON THE PRODUCTION OF HUMAN UMBILICAL CORD
PLATELET-RICH PLASMA GEL

Abstract

Objectives: This study aimed to prepare platelet-rich plasma (PRP) gel from human umbilical cord artery blood. **Methods:** PRP were obtained from umbilical cord artery blood and activated by CaCl_2 (10%)/Thrombin 2/5 (mL) solution in the appropriate ratio. Platelet ratio and purity of good quality according to DEPA classification of Magalon J. **Results:** The obtained PRP had an average platelet count of $6.5 \pm 1.5 \times 10^9$ platelets/mL, eight times higher than whole blood. According to the DEPA classification, platelet recovery rate and purity reached a high-quality level. The activation process is of near-ideal quality. The optimal PRP/ CaCl_2 (10%)/Thrombin ratio is 1/2/5. **Conclusion:** Successfully prepared PRP gel from cord blood with platelet concentration 8 times higher than whole blood, light yellow color and purity from 3.9+.

Keywords: Platelet-rich plasma (PRP); Umbilical cord blood; Platelet activation.

¹Học viện Quân y

* Tác giả liên hệ: Đỗ Xuân Hai (doxuanhai@vmmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 09/5/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 15/6/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.369>

ĐẶT VẤN ĐỀ

Huyết tương giàu tiểu cầu là sản phẩm cô đặc tiểu cầu tự thân thu được từ máu toàn phần, chứa nồng độ tiểu cầu cao hơn bình thường và có chứa nhiều yếu tố tăng trưởng [1]. Các yếu tố tăng trưởng được dự trữ trong hạt alpha tiểu cầu, và được giải phóng khi tiểu cầu được hoạt hóa như: Yếu tố tăng trưởng nội mạc mạch máu, yếu tố tăng trưởng từ tiểu cầu, yếu tố biệt hóa và tăng trưởng... [2]. Do vậy, PRP có ảnh hưởng đến quá trình viêm, nhiễm trùng, thoái hóa khớp và chữa lành các mô mềm [3, 4]. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu cũng đưa ra kết luận rằng tiểu cầu cũng giải phóng nhiều protein có hoạt tính sinh học thu hút các đại thực bào, các tế bào gốc trung mô và tế bào tạo xương [5]. Bởi vậy, huyết tương giàu tiểu cầu không chỉ thúc đẩy loại trừ các mô bị thoái hóa và hoại tử mà còn tăng cường tái tạo mô và chữa lành vết thương.

Hiện nay, PRP thường được sử dụng ở dạng tiêm để tăng cường tái tạo mô, giúp tăng khả năng liền vết thương. Tuy nhiên, với những vết loét lâu liền thì cách thức tiêm PRP sẽ khó khăn và cần phải có loại gel PRP bôi sẽ phù hợp hơn. Một số trường hợp khác lại gặp khó khăn khi tạo PRP tự thân đòi hỏi phải tạo PRP từ đồng loài. Xuất phát từ những yếu tố trên chúng tôi tiến hành: *Nghiên cứu tạo gel PRP đồng loài, đánh giá chất lượng gel PRP ứng dụng trong điều trị vết thương lâu liền.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

Gồm 80 mL máu động mạch dây rốn người tươi từ sản phụ khỏe mạnh (nhóm máu O, A, B, AB), vô khuẩn và hỗn dịch kích hoạt tiểu cầu CaCl_2 (10%)/Thrombin tỷ lệ 2:5 (mL). Được thí nghiệm tạo gel PRP tại Bộ môn Phẫu thuật thực hành, thực nghiệm - Học viện Quân y trong thời gian từ tháng 3 - 10/2022.

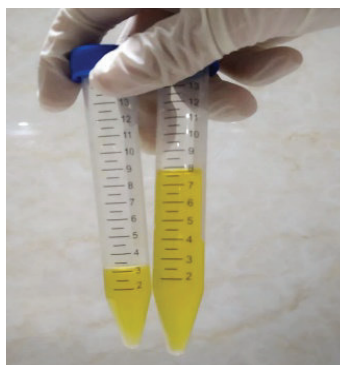
2. Phương pháp nghiên cứu

Tạo gel PRP từ máu dây rốn: Sử dụng bơm tiêm 10 mL lấy máu từ động mạch dây rốn bơm nhẹ vào 8 ống nghiệm đã chứa sẵn chất chống đông EDTA. Đặt 8 ống nghiệm này vào buồng ly tâm (Centrifuge) đối xứng nhau, quay tốc độ 3000 vòng/phút, trong 30 phút. Máu trong ống nghiệm sẽ tách ra thành 3 lớp: dưới cùng là hồng cầu, tiếp theo là lớp PRP và trên cùng là phần tiểu cầu lơ lửng trong huyết tương (PPP - huyết tương nghèo tiểu cầu). Dùng bơm tiêm vô khuẩn hút lấy PRP (thương 2 - 3 mL/10 mL máu toàn phần) bơm nhẹ vào ống nghiệm.

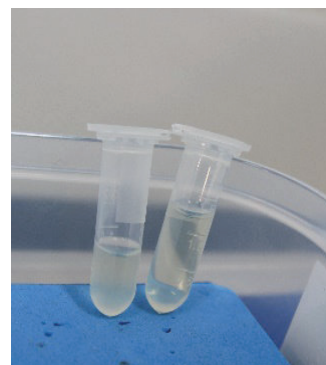
Trộn hỗn dịch CaCl_2 và Thrombin với PRP theo tỷ lệ 1:2:5 (mL) lắc đều và ủ ở nhiệt độ 4 - 6°C trong thời gian 10 phút, sau 30 phút sẽ thu được gel PRP.



Máu toàn phần



PRP



Gel PRP

Hình 1. Tạo gel PRP.

* Các chỉ tiêu nghiên cứu, đánh giá:

- Số mL PRP thu được so với máu toàn phần.
- Màu sắc gel PRP sau khi hoạt hóa: Vàng nhạt, trắng đục, trắng trong, trắng hồng.
- Số lượng tiểu cầu trong gel PRP: Số lượng tiểu cầu/mL gel PRP được đọc trên máy xét nghiệm huyết học Model Z3.
- Đánh giá chất lượng gel PRP: Bảng phân loại DEPA của Magalon J., và CS. (2016) [6]:

Bảng 1. Đánh giá chất lượng PRP.

Chỉ số	Điểm			
	1+	2+	3+	4+
Số lượng tiểu cầu (tỷ/mL)	< 1	1 - < 3	3 - < 5	≥ 5
Tỷ lệ (%) thu hồi tiểu cầu	< 30	30 - < 70	70 - < 90	≥ 90
Tỷ lệ (%) độ tinh khiết	< 30	30 - < 70	70 - < 90	≥ 90

+ Tỷ lệ hoạt hóa tiểu cầu và màu sắc gel PRP [2]: Hoạt hóa theo các tỷ lệ CaCl_2 và thrombin với PRP theo tổ hợp 3 chất từ 1 - 5 mL, xác định tỷ lệ tạo màu sắc trắng trong.

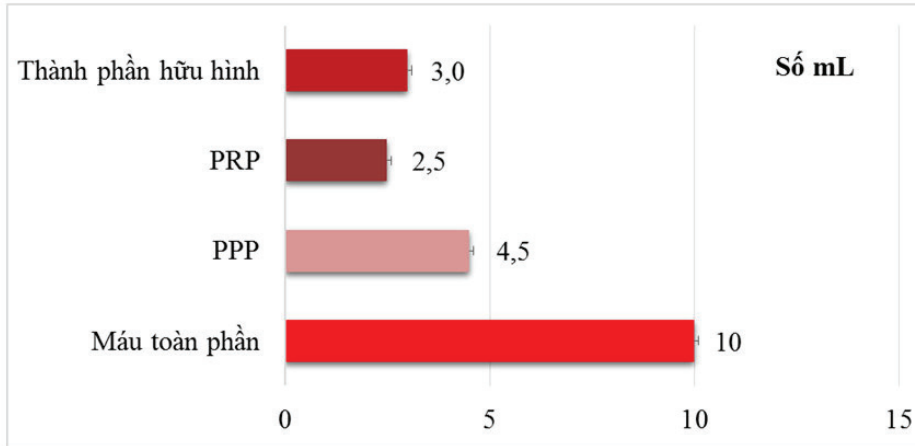
* *Xử lý số liệu:* Số liệu thu thập và các phân tích sẽ được thực hiện bằng phần mềm SPSS 20.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được sự chấp thuận của Hội đồng Đạo đức trong Nghiên cứu Y sinh học số 40/2020 QĐ-VMEC.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

* Số mL PRP thu được trong 10 mL máu toàn phần:



Biểu đồ 1. Số mL PRP thu được trong 10 mL máu toàn phần.

Trong 10 mL máu toàn phần sau ly tâm PRP thu được trung bình là $2,5 \pm 0,1$ mL và PPP trung bình thu được là $4,5 \pm 0,3$ mL.

* Số lượng tiểu cầu trung bình:

Bảng 2. Số lượng tiểu cầu trung bình trong gel PRP (n = 8).

Chỉ số	Tiểu cầu: $\bar{X} \pm SD$ (tiểu cầu/mL)
Máu toàn phần	$(0,8 \pm 0,05) \times 10^9$
Gel PRP	$(6,5 \pm 1,5) \times 10^9$

Số lượng tiểu cầu trung bình trong gel PRP là $(6,5 \pm 1,5) \times 10^9$ cao khoảng 8 lần so với tiểu cầu trong máu toàn phần.

Chất lượng gel PRP:

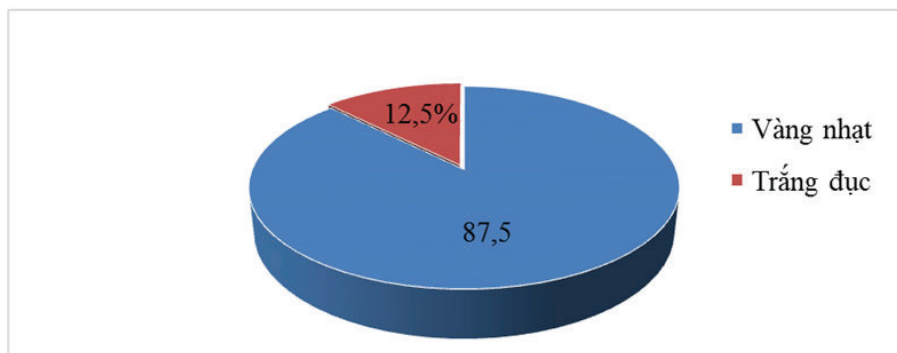
Bảng 3. Chất lượng PRP (n = 8).

Chỉ số	Kết quả
Số lượng tiểu cầu (10^9 /mL)	3,8+
Tỷ lệ (%) tiểu cầu thu được	3,9+
Tỷ lệ (%) độ tinh khiết	3,9+

Dựa theo phân loại DEPA của Magalon J., và CS (2016) [6], PRP thu được với chất lượng tốt và độ tinh khiết cao (điểm quy đổi từ 3,8+).

* Tỷ lệ hoạt hóa tiểu cầu và màu sắc gel PRP:

Tỷ lệ PRP/CaCl₂ (10%)/thrombin: Trong nghiên cứu này theo một số nghiên cứu trước chúng tôi tiến hành pha trộn các tỷ lệ khác nhau từ 1 - 5 mL của mỗi chất kết quả màu gel PRP trắng trong ở tỷ lệ 1:2:5 (mL).



Biểu đồ 2. Màu sắc của gel PRP (n = 8).

Sau khi kích hoạt bằng hỗn dịch CaCl₂ (10%)/thrombin, PRP chuyển từ lỏng sang dạng gel giống thạch và có dây tơ màu vàng nhạt, dung dịch còn lại là chất tăng trưởng sau khi tiểu cầu hoạt hóa dùng để trị liệu. Gel PRP sau hoạt hóa đạt tiêu chuẩn với màu vàng nhạt, kết quả cho thấy vàng nhạt chiếm chủ yếu là 87,5% và trắng đục chiếm tỷ lệ nhỏ là 12,5%.

BÀN LUẬN

Nồng độ tiểu cầu thu được ở bảng 2 cho thấy cao gấp 8 lần nồng độ tiểu cầu trung bình trong máu toàn phần. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Weiwei và CS (2012) với nồng độ tiểu cầu trung bình trong PRP gấp 5, 7 lần nồng độ tiểu cầu trung bình trong máu toàn phần [7] và nghiên cứu của Chai J. và CS (2019) với nồng độ tiểu cầu trung bình trong PRP gấp 6,2 lần nồng độ tiểu cầu trung bình trong máu toàn phần [8]. Kết quả cho thấy tạo PRP từ máu dây rốn có thể thu được tiểu cầu

cô đặc rất cao, phù hợp ứng dụng trong nghiên cứu và điều trị. Thông thường cứ khoảng 10 mL máu dây rốn sau ly tâm sẽ thu được từ 2 - 3 mL PRP, tác giả Hashemi S. và CS (2016) nghiên cứu trên máu dây rốn khi ly tâm lần 1 với 3000 vòng trong 20 phút thấy nồng độ tiểu cầu được làm giàu > 50%, loại bỏ được hơn 90% hồng cầu và bạch cầu [9]. Cũng trong nghiên cứu này PRP từ máu dây rốn của con người có chứa các yếu tố tăng trưởng (GF), bao gồm yếu tố tăng trưởng biểu bì (EGF), yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF), yếu tố tăng trưởng nguyên

bào sợi (FGF), yếu tố tăng trưởng giống như insulin-1 (IGF-1), interleukin và interferon... PRP được sử dụng như một hệ thống vận chuyển cho các vi hạt giúp kiểm soát giải phóng yếu tố tăng trưởng và tăng cường chữa lành và hình thành mạch [9]. Đây là những yếu tố có nhiều hoạt tính sinh học tốt mà đến nay ở nước ta chưa ứng dụng nhiều PRP từ máu dây rốn trong điều trị các bệnh.

Ở bảng 3 cho thấy tỷ lệ thu hồi tiểu cầu và tỷ lệ độ tinh khiết của PRP đều đạt mức cao. Theo kết quả, 100% số mẫu PRP thu được có tỷ lệ thu hồi tiểu cầu với hiệu suất khá tốt trở lên và 100% mẫu PRP thu được có độ tinh khiết rất cao. Như vậy, kết quả tách chiết huyết tương giàu tiểu cầu của nghiên cứu đạt chất lượng tốt, đảm bảo mẫu PRP có hoạt tính sinh học cao. Tác giả Hashemi và CS nghiên cứu với PRP từ máu dây rốn với các nồng độ khác nhau thấy: PRP kích thích sự tăng sinh và di chuyển của các nguyên bào sợi ở da và sự kích thích này phụ thuộc vào liều lượng của PRP [8], với kết quả thu được ở bảng 3 chúng tôi nhận thấy có thể được sử dụng để điều trị các tổn thương mạn tính ở da mà không gây ra phản ứng miễn dịch.

Theo y văn, tiểu cầu được kích hoạt bởi CaCl_2 và Thrombin, tuy nhiên theo tác giả Toshihisa T. và CS cho rằng chưa có bằng chứng nào cho thấy kích hoạt một phần hay toàn bộ là tốt hơn ở

PRP [9]. CaCl_2 làm tăng khả năng đông tụ của PRP đã được nhiều nghiên cứu chứng minh [1, 9]. Cũng theo tác giả Toshihisa T., CaCl_2 trực tiếp kích hoạt tiểu cầu, sau đó tạo điều kiện hình thành cục máu đông một cách độc lập và hợp tác với con đường đông máu thông qua chuyển đổi thrombin trong một chuỗi đông máu. Trong nghiên cứu của chúng tôi sử dụng tỷ lệ kích hoạt tiểu cầu 1:2:5 (mL) thấy sự đông tụ màu vàng nhạt, trên bề mặt xuất hiện lớp trắng đục có nhiều sợi tơ trắng, lớp này chứa nhiều yếu tố kích thích tăng trưởng. Các nghiên cứu khác cũng cho thấy kích hoạt PRP thấy các yếu tố tham gia vào quá trình chữa lành vết thương (TGF- β 1, PDGF-AB và VEGF) và 2 chất trung gian gây viêm (IL-1 β và TNF- α)... [9, 10]. Tác giả Carola C. và CS (2016) kích hoạt PRP được thực hiện bằng cách thêm 10% CaCl_2 (nồng độ 22,8 mM), 10% thrombin tự thân, 10% hỗn hợp CaCl_2 + thrombin và 10% collagen loại I (4 μg), hỗn dịch được ủ trong 15 và 30 phút và 1, 2 và 24 giờ ở 37°C. Sau đó, các mẫu được ly tâm ở 2800 vòng/phút trong 15 phút ở 20°C và phần nổi phía trên được thu thập và bảo quản ở -80°C cho đến khi sử dụng nhận thấy giải phóng các GF có nguồn gốc từ tiểu cầu [10]. Hiện nay hầu hết các tác giả kích hoạt PRP nhằm các mục đích khác nhau nhưng sử dụng CaCl_2 và thrombin kích hoạt được nhiều tác giả

sử dụng, đến nay chưa có công bố nào chứng minh tỷ lệ phù hợp nhất. Trong nghiên cứu này chúng tôi tổ hợp ba yếu tố trong pha chế gồm là PRP, CaCl₂ và thrombin với các tỷ lệ từ 1 - 5 mL, nhằm đạt được gel PRP với màu vàng nhạt và lớp dịch mỏng nhiều tơ trắng ở bề mặt.

KẾT LUẬN

Gel PRP từ máu dây rốn có nồng độ tiểu cầu cao gấp 8 lần so với máu toàn phần, tỷ lệ kích hoạt tối ưu CaCl₂/Thrombin/PRP là 1:2:5 (mL), gel màu vàng nhạt độ tinh khiết cao.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Kellie K., Victor B., Bart M. Evaluation of the effects of platelet-rich plasma (PRP) therapy involved in the healing of sports-related soft tissue injuries. *The Iowa Orthopedic Journal*. 2012; 32:150-163.
2. Everts P., Onishi K., Jayaram P. Platelet-rich plasma: New performance understandings and therapeutic considerations in 2020. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020; 21(20):7794.
3. de Mos M., van der Windt A.E., Jahr H. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? A cell culture study. *Am J Sports Med*. 2008; 36(6):1171-1178.
4. Marx R.E. Platelet-rich plasma (PRP): What is PRP and what is not PRP?. *Implant Dent*. 2001; 10(4):225-228.
5. Magalon J., Chateau A.L., Bertrand B. DEPA classification: A proposal for standardising PRP use and a retrospective application of available devices. *BMJ Open Sport & Exercise Medicine*. 2016; 2(1): 000060.
6. Li W., Enomoto M., Ukegawa M. Subcutaneous injections of platelet-rich plasma into skin flaps modulate proangiogenic gene expression and improve survival rates. *Plastic and Reconstructive Surgery*. 2012; 129(4):858-866.
7. Chai J., Ge J., Zou J. Effect of autologous platelet-rich plasma gel on skin flap survival. *Medical science monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2019; 25:1611.
8. Hashemi S.S, Servatkah M., Rafati A.R. The in vitro effect of different cord blood platelet rich plasma concentrations on proliferation of dermal fibroblasts. *Biosci Biotech Res Asia*. 2016; 13(3).
9. Toshihisa T., Isobe K., Tsujino T. Direct activation of platelets by addition of CaCl₂ leads coagulation of platelet-rich plasma. *Int J Implant Dent*. 2018; 4:23.
10. Carola C., Alice R. Brunella grigolo platelet rich plasma: The choice of activation method affects the release of bioactive molecules. *Biomed Res Int*. 2016:6591717.

**ĐÁNH GIÁ SỰ TUÂN THỦ CÁC BIỆN PHÁP DỰ PHÒNG
VIÊM PHỔI LIÊN QUAN ĐẾN THỞ MÁY CỦA ĐIỀU DƯỠNG
TẠI BỆNH VIỆN ĐA KHOA KHU VỰC PHÚC YÊN NĂM 2022**

*Nguyễn Minh Toàn¹, Dương Minh Thảo²
Nguyễn Hữu Sâm¹, Nguyễn Thu Hương^{1*}*

Tóm tắt

Mục tiêu: Cung cấp thêm thông tin cho các đồng nghiệp về tỷ lệ điều dưỡng tuân thủ các biện pháp dự phòng viêm phổi liên quan đến thở máy. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 70 điều dưỡng làm việc tại Khoa Cấp cứu và Hồi sức tích cực, Bệnh viện Đa khoa khu vực Phúc Yên từ tháng 02/2022 - 10/2022. Sử dụng bảng kiểm đánh giá tuân thủ các biện pháp dự phòng viêm phổi liên quan đến máy thở của điều dưỡng xây dựng trên căn cứ là Quy định 3671, Bộ Y tế 2012. **Kết quả:** Tỷ lệ tuân thủ các thời điểm rửa tay 17,14%, tuân thủ quy trình rửa tay bằng cồn 98,57%, tuân thủ chăm sóc ống thông dạ dày 77,14%, tuân thủ chăm sóc ống nội khí quản 31,42%, tuân thủ chăm sóc dây thở máy 90%. **Kết luận:** Tỷ lệ tuân thủ các biện pháp dự phòng viêm phổi còn thấp so với các nghiên cứu khác, cần cải thiện thông qua một số biện pháp như tăng cường đào tạo kiến thức, thực hiện tốt công tác kiểm tra giám sát.

Từ khóa: Thở máy; Dự phòng viêm phổi; Điều dưỡng viên.

**COMPLIANCE RATE WITH PREVENTIVE MEASURES FOR
VENTILATOR-ASSOCIATED PNEUMONIA OF NURSES
AT PHUC YEN GENERAL HOSPITAL IN 2022**

Abstract

Objectives: To provide more information to researchers about the percentage of nurses who adhered to ventilator-associated pneumonia prevention measures.

¹Khoa Y học Cơ sở, trường Đại học Y tế Công cộng

²Bệnh viện Đa khoa khu vực Phúc Yên

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thu Hương (nth14@huph.edu.vn)

Ngày nhận bài: 26/02/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/4/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.313>

Methods: A cross-sectional descriptive study on 70 nurses working at the Emergency and Intensive Care Unit, Phuc Yen General Hospital, from February 2022 to October 2022. Using the checklist to assess compliance with measures to prevent pneumonia related to ventilators by nurses built based on regulation 3671, Ministry of Health 2012. **Results:** Compliance rate at times of hand washing 17.14%, compliance rate with alcohol handwashing 98.57%, compliance rate with gastric tube care 77.14%, compliance rate with care endotracheal tube 31.42%, compliance rate of ventilator cares 90%. **Conclusion:** The compliance rate with measures to prevent pneumonia is still low compared to other studies. It is necessary to improve this rate through a number of measures, such as increasing training knowledge, inspection, and supervision to improve the sense of responsibility of nurses.

Keywords: Mechanical ventilation; Prevention of pneumonia; Nurse.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thông khí nhân tạo (thở máy) là một biện pháp điều trị thiết yếu duy trì sự sống cho nhiều bệnh nhân (BN) bị bệnh nặng [1]. Bên cạnh những lợi ích thở máy mang lại còn tiềm ẩn một biến chứng rất nặng là viêm phổi liên quan đến thở máy [2]. Viêm phổi liên quan đến thở máy (Ventilator Associated Pneumonia - VAP) là tình trạng phổi bị viêm xuất hiện sau 48 giờ khi BN được đặt nội khí quản và thông khí nhân tạo [3].

Bệnh viện Đa khoa khu vực Phúc Yên là bệnh viện hạng I tuyến tỉnh, các trường hợp thở máy tập trung tại Khoa Cấp cứu và Khoa Hồi sức tích cực. Đây là các khoa có nhiều BN nặng, việc xuất hiện biến chứng như viêm

phổi liên quan đến thở máy có thể đe dọa đến tính mạng BN, nên rất cần đánh giá các biện pháp dự phòng biến chứng này. Các biện pháp dự phòng viêm phổi liên quan đến thở máy của bệnh viện quy định được xây dựng theo Quyết định 3671/2012-QĐ-BYT [4], trong đó các biện pháp được nêu chủ yếu liên quan đến hoạt động chăm sóc BN của điều dưỡng. Tỷ lệ tuân thủ các biện pháp dự phòng này rất quan trọng vì ảnh hưởng trực tiếp tới tỷ lệ BN xuất hiện biến chứng, nhưng lại chưa có nghiên cứu nào được thực hiện tại bệnh viện. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu nhằm: *Đánh giá tỷ lệ tuân thủ các biện pháp dự phòng biến chứng viêm phổi liên quan đến thở máy của điều dưỡng.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* 70 điều dưỡng trong quá trình chăm sóc bệnh nhân thở máy tại Khoa Cấp cứu và Hồi sức tích cực của Bệnh viện Đa khoa khu vực Phúc Yên từ tháng 02/2022 - 10/2022.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* Điều dưỡng có thâm niên công tác tại Khoa Cấp cứu và Hồi sức tích cực từ ≥ 6 tháng và đồng ý tham gia nghiên cứu

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* Nghi ốm, chế độ thai sản, đi học hoặc lý do nghỉ đột xuất trong thời gian nghiên cứu được tiến hành.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Cỡ mẫu và chọn mẫu:* Chọn mẫu toàn bộ.

* *Phương pháp thu thập số liệu:* Mỗi điều dưỡng được quan sát 3 lượt cụ thể: Lượt 1 gồm: Rửa tay và chăm sóc ống thông dạ dày; Lượt 2: Chăm sóc ống nội khí quản; Lượt 3: Chăm sóc dây máy thở.

Nghiên cứu viên quan sát theo bảng kiểm đánh giá tuân thủ các biện pháp dự phòng viêm phổi liên quan đến máy

thở của điều dưỡng cũng được xây dựng trên căn cứ là Quyết định 3671, Bộ Y tế 2012 [4]. Với mỗi biện pháp dự phòng viêm phổi, điều dưỡng được đánh giá là đạt tiêu chí tuân thủ khi thực hiện đúng tất cả tiêu chí trong bảng kiểm, còn khi thực hành không đủ tiêu chí trong bảng kiểm là chưa đạt.

* *Xử lý số liệu:* Số liệu được nhập và phân tích bởi phần mềm SPSS 16.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được sự chấp thuận của Lãnh đạo Bệnh viện Đa khoa khu vực Phúc Yên. Trước khi tiến hành triển khai thu thập số liệu, nghiên cứu được thông qua Hội đồng Khoa học và Hội đồng Đạo đức Trường Đại học Y tế Công cộng tại Quyết định số 314/2022/YTCC-HD3 ngày 6/7/2022.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Thông tin cơ bản của nhóm điều dưỡng trong nghiên cứu

- Tuổi trung bình là $40,09 \pm 16,82$.

- Tỷ lệ nam/nữ = 1/3,7.

- Thời gian làm công tác chăm sóc bệnh nhân thở máy: 7,14% từ 6 tháng đến 1 năm, 22,86% từ 1 đến 5 năm, 58,57% từ 6 đến 10 năm, 11,43% trên 10 năm.

Bảng 1. Thực trạng tuân thủ vệ sinh tay.

Nội dung đánh giá	Số điều dưỡng tuân thủ	Tỷ lệ (%)	Số điều dưỡng không tuân thủ	Tỷ lệ (%)
Vệ sinh tay trước cho ăn	38	54,29	32	45,71
Vệ sinh tay trước chăm sóc ống nội khí quản	31	44,29	39	55,71
Vệ sinh tay trước chăm sóc dây máy thở	12	17,14	58	82,86
Đúng và đủ 6 bước trong quy trình rửa tay bằng cồn	69	98,57	1	1,43

Tuân thủ vệ sinh tay cao nhất là trước cho ăn 54,29%, thấp nhất là trước chăm sóc dây thở máy 17,14%. Như vậy, tỷ lệ tuân thủ các thời điểm rửa tay trong chăm sóc BN thở máy là rất thấp đạt 17,14%, để tính là tuân thủ thời điểm rửa tay thì người điều dưỡng phải tuân thủ cả 3 thời điểm mới được tính là tuân thủ. Về quy trình rửa tay có 01 điều dưỡng không thực hiện bước số 6 (xoay đầu ngón tay này vào lòng bàn tay kia và ngược lại).

Kết quả nghiên cứu này thấp hơn rất nhiều so với nghiên cứu của Lê Thị

Thùy Dung: Tỷ lệ tuân thủ là 66,32% [5] và nghiên cứu Lê Thị Khánh Quy tỷ lệ tuân thủ là 86,6% [6]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy việc tuân thủ các bước rửa tay thường quy bằng cồn 70° có tỷ lệ cao hơn so với nghiên cứu của Nguyễn Văn Ánh [7] (98,57% so với 70,9%), trong đó cả 2 nghiên cứu đều cho thấy điều dưỡng thực hiện sai chủ yếu ở bước 5 và bước 6 trong quy trình rửa tay. Điều này cho thấy các lãnh đạo khoa cần chú ý hơn để tránh điều dưỡng thực hiện không đúng và đủ các bước trong quy trình.

Bảng 2. Thực trạng tuân thủ chăm sóc ống thông dạ dày.

Nội dung đánh giá	Số điều dưỡng tuân thủ	Tỷ lệ (%)	Số điều dưỡng không tuân thủ	Tỷ lệ (%)
Kiểm tra vị trí ống thông dạ dày	65	92,86	5	7,14
Kiểm tra dịch ứ đọng trong dạ dày	63	90	7	10
Rút dịch dạ dày tồn lưu trước khi cho ăn	54	77,14	16	22,86

Để tính là tuân thủ điều dưỡng phải thực hiện đầy đủ và đúng 3 nội dung, như vậy tỉ lệ tuân thủ chăm sóc ống thông dạ dày là 77,14%.

Chăm sóc ống thông dạ dày gồm các biện pháp (kiểm tra vị trí ống thông dạ dày, kiểm tra dịch ứ đọng trong dạ dày hút dịch tồn lưu) có vai trò to lớn trong dự phòng viêm phổi do trào ngược dạ

dày ở BN có thở máy [4]; trong đó qua nghiên cứu cho tỷ lệ: Kiểm tra vị trí ống thông dạ dày 92,86%, kiểm tra dịch ứ đọng trong dạ dày 90%, rút dịch dạ dày tồn lưu trước khi cho ăn 77,14%. Kết quả nghiên cứu cao hơn so với tác giả Châu Uyển Trinh năm 2020: Tuân thủ kiểm tra vị trí ống thông dạ dày là 22,8%, kiểm tra dịch tồn lưu là 16,5% [2].

Bảng 3. Thực trạng tuân thủ chăm sóc ống nội khí quản.

Nội dung đánh giá	Số điều dưỡng tuân thủ	Tỷ lệ (%)	Số điều dưỡng không tuân thủ	Tỷ lệ (%)
Người bệnh nằm đầu cao 30 - 45 độ nếu không có chống chỉ định	64	91,42	6	8,58
Kiểm tra bóng chèn, điều chỉnh áp lực đạt 25 - 30 cmH ₂ O	22	31,42	48	68,58
Vệ sinh răng miệng	70	100	0	0

03 nội dung để đánh giá tuân thủ chăm sóc ống nội khí quản của điều dưỡng đạt cao nhất vệ sinh răng miệng 100%, thấp nhất là kiểm tra bóng chèn và điều chỉnh áp lực đạt 25 - 30 cmH₂O có tỷ lệ tuân thủ là 31,42%. Để được tính là tuân thủ điều dưỡng phải thực hiện đầy đủ và đúng cả 3 nội dung, nên tỷ lệ tuân thủ là: 31,42% không tuân thủ là: 68,58%.

Tỷ lệ điều dưỡng thực hành đặt đúng đầu cao 35 - 40° khi không có chống chỉ định chiếm 91,42%, thấp

hơn so với Châu Uyển Trinh là 100% [2]. Trong nhiều thực nghiệm đã chứng minh tư thế đầu cao làm giảm nguy cơ viêm phổi đến 67% [8], do đó cần nâng cao năng lực và tinh thần trách nhiệm của điều dưỡng để cải thiện vấn đề này.

Kiểm tra bóng chèn, điều chỉnh áp lực đạt 25 - 30 cmH₂O có tỷ lệ tuân thủ 31,42%, thấp hơn nghiên cứu của Châu Uyển Trinh là 70,9% [2]. Vệ sinh răng miệng kết quả nghiên cứu tương đồng so với tác giả Châu Uyển Trinh (đều đạt 100%).

Bảng 4. Thực trạng tuân thủ chăm sóc dây máy thở.

Nội dung đánh giá	Số điều dưỡng tuân thủ	Tỷ lệ (%)	Số điều dưỡng không tuân thủ	Tỷ lệ (%)
Đổ bỏ nước đọng trong dây thở và bẫy nước	63	90	7	10
Dây thở phải ở thấp hơn phần trên của ống nội khí quản	65	92,85	5	7,15
Bẫy nước phải ở vị trí thấp nhất của dây thở	64	91,42	6	8,58
Cho nước vô khuẩn vào bình làm ẩm đến đúng vạch quy định	66	94,28	4	5,72

Chăm sóc dây thở máy được tính là tuân thủ khi người điều dưỡng phải thực hiện đủ 04 nội dung vì vậy tỷ lệ tuân thủ sẽ là 90%, không tuân thủ là 10%, trong đó cao nhất là nội dung: Cho nước vô khuẩn vào bình làm ẩm đến đúng vạch quy định chiếm 94,28%, thấp nhất ở nội dung: Đổ bỏ nước đọng trong dây thở và bẫy nước có tỷ lệ 90%.

Tuân thủ chăm sóc dây thở máy bao gồm các biện pháp: Đổ bỏ nước đọng trong dây thở và bẫy nước, dây thở phải ở thấp hơn phần trên của ống nội khí quản, bẫy nước phải ở vị trí thấp nhất của dây thở, cho nước vô khuẩn vào bình làm ẩm đến đúng vạch quy

định. Các biện pháp này giúp loại bỏ vi khuẩn tồn đọng trong dây máy thở, giảm thiểu sự xâm nhập ngược dòng của vi khuẩn vào phổi BN [4]. Kết quả nghiên cứu cho thấy tỷ lệ tuân thủ lần lượt là 90%, 92,85%, 91,42%, 94,28%, thấp hơn so với nghiên cứu của Châu Uyên Trinh năm 2020, có tỷ lệ lần lượt là 98,7%, 98,7%, 92,4%, 97,5% [2]. Dây máy thở là một đường vào quan trọng của các vi khuẩn gây viêm phổi do thở máy, do đó kết quả nghiên cứu này cho thấy lãnh đạo khoa phòng cần làm tốt công tác đào tạo, giáo dục tư tưởng để nâng cao tỷ lệ này, đồng thời cần tăng cường giám sát để đảm bảo điều dưỡng thực hiện tốt công việc.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có 10 điều dưỡng (14,28%) tuân thủ đúng và đủ tất cả các chỉ tiêu trong quy trình dự phòng viêm phổi thở máy (tức tuân thủ đầy đủ các quy trình rửa tay, chăm sóc ống thông dạ dày, chăm sóc ống nội khí quản; chăm sóc dây máy thở). Tỷ lệ này thấp do đa số điều dưỡng không thực hiện tuân thủ vệ sinh tay trước chăm sóc dây máy thở. Cũng trong nghiên cứu này, chúng tôi không nhận thấy có điều dưỡng nào không tuân thủ bất cứ chỉ tiêu nào. Quy trình rửa tay bằng cồn và quy trình vệ sinh răng miệng trong chăm sóc ống nội khí quản được các điều dưỡng thực hiện với tỷ lệ rất cao (lần lượt là 98,57% và 100%).

KẾT LUẬN

Tỷ lệ tuân thủ các thời điểm rửa tay 17,14%, tuân thủ quy trình rửa tay bằng cồn 98,57%, tuân thủ chăm sóc ống thông dạ dày 77,14%, tuân thủ chăm sóc ống nội khí quản 31,42%, tuân thủ chăm sóc dây thở máy 90%.

Tỷ lệ tuân thủ các thời điểm rửa tay thấp do 82,86% số điều dưỡng trong nghiên cứu không thực hiện rửa tay trước khi chăm sóc dây máy thở, điều này cho thấy cần tập huấn lại để nâng cao tỷ lệ tuân thủ của điều dưỡng trong quy trình này.

Nghiên cứu tại hai khoa nên không đại diện cho toàn bộ điều dưỡng bệnh viện, tuy nhiên vẫn cho thấy một số vấn đề còn tồn tại trong thực tế về thực trạng tuân thủ của điều dưỡng. Qua đó chúng tôi đưa ra một số khuyến nghị, như tăng cường đào tạo để nâng cao kiến thức, công tác kiểm tra giám sát giúp nâng cao tinh thần trách nhiệm của điều dưỡng, xây dựng bộ quy trình đầy đủ các bước và ghi chú tại mỗi bước để điều dưỡng điều dưỡng thực hiện đúng và đủ quy trình.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đạt Anh, Nguyễn Văn Chi, Ngô Đức Ngọc. *Thông khí nhân tạo, sinh lý học và thực hành*. Nhà xuất bản Đại học Quốc gia Hà Nội. 2018:202-216.
2. Châu Uyển Trinh. Tuân thủ thực hành phòng ngừa viêm phổi liên quan đến thở máy và các yếu tố ảnh hưởng của Điều dưỡng tại Bệnh viện Chợ Rẫy năm 2020, *Luận văn tốt nghiệp thạc sĩ quản lý bệnh viện*, Trường Đại học Y tế Công cộng. 2020:16-33.
3. Nguyễn Quốc Anh, Ngô Quý Châu. Viêm phổi liên quan đến thở máy, *Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị nội khoa*. 2011:12-14.

4. Bộ Y tế. Hướng dẫn phòng ngừa viêm phổi bệnh viện trong các cơ sở khám bệnh, chữa bệnh, ban hành kèm theo Quyết định số: 3671/QĐ-BYT ngày 27 tháng 9 năm 2012 của Bộ Y tế.

5. Lê Thị Thùy Dung. Thực trạng tuân thủ rửa tay thường quy của điều dưỡng viên tại các khoa lâm sàng Bệnh viện đa khoa Lâm Đồng năm 2017. *Luận văn tốt nghiệp thạc sỹ quản lý bệnh viện*, Trường Đại học Y tế Công cộng. 2017:45-47.

6. Lê Thị Khánh Quy và cộng sự. Thực trạng tuân thủ rửa tay thường quy và một số yếu tố liên quan của điều

dưỡng viên tại bốn khoa lâm sàng Bệnh viện Bà Rịa năm 2019. *Tạp chí Nghiên cứu Khoa học và phát triển*. 2019; 03(04):66-75.

7. Nguyễn Văn Ánh. Thực trạng tuân thủ rửa tay thường quy của điều dưỡng và nữ hộ sinh tại Bệnh viện Đa khoa huyện Kinh Môn - Hải Dương năm 2018. *Luận văn tốt nghiệp thạc sỹ quản lý bệnh viện*. 2018:51-54.

8. Alexion. Impact of patient position on the incidence of ventilator-associated pneumonia: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Critical Care*. 2019; 24(4):515-522.

ĐẶC ĐIỂM TRẦM CẢM THEO THANG ĐIỂM PHQ-9 Ở NGƯỜI BỆNH LOÃNG XƯƠNG CAO TUỔI

Trần Viết Lực^{1,2*}, Phạm Thị Thu Hà², Nguyễn Xuân Thanh^{1,2}
Nguyễn Ngọc Tâm^{1,2}, Vũ Thị Thanh Huyền^{1,2}

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá đặc điểm trầm cảm trên bệnh nhân (BN) loãng xương cao tuổi và mối liên quan giữa đặc điểm trầm cảm với tiền sử gãy xương. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện từ 9/2021 - 9/2022 trên 285 BN loãng xương ≥ 60 tuổi, được khám và điều trị tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương. Tình trạng trầm cảm được đánh giá bởi thang điểm Patient Health Questionnaire (PHQ-9). Mật độ xương được đo bằng phương pháp hấp thụ tia X năng lượng kép (DXA). **Kết quả:** Tỷ lệ trầm cảm theo thang điểm PHQ-9 của người bệnh loãng xương cao tuổi là 53,7%. Đa số BN bị trầm cảm ở mức độ nhẹ (30,8%) và mức độ vừa (12,3%). Trầm cảm mức độ nặng và trầm trọng đều chiếm 5,3%. Trong các triệu chứng về trầm cảm theo thang điểm PHQ-9, tỷ lệ triệu chứng hay gặp nhất là: “Cảm thấy mệt mỏi hay thiếu sức sống” (65,6%) và “Khó khăn khi bắt đầu hay duy trì giấc ngủ, hay ngủ quá nhiều” (60,0%). Không tìm thấy mối liên quan giữa tiền sử gãy xương và nguy cơ trầm cảm. **Kết luận:** Tỷ lệ người bệnh loãng xương cao tuổi có triệu chứng trầm cảm là khá cao. Cần sàng lọc thường quy trầm cảm ở BN loãng xương cao tuổi ở các cơ sở y tế đa khoa và cộng đồng nhằm phát hiện và điều trị sớm cho BN.

Từ khóa: Trầm cảm; Loãng xương; Thang đo PHQ-9; Người cao tuổi.

CHARACTERISTICS OF DEPRESSION ACCORDING TO THE PHQ-9 SCALE IN ELDERLY PATIENTS WITH OSTEOPOROSIS

Abstract

Objectives: To describe the characteristics of depression in elderly osteoporosis patients treated at the National Geriatrics Hospital and to explore

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Lão khoa Trung ương

*Tác giả liên hệ: Trần Viết Lực (email: tranvietluc@hmu.edu.vn)

Ngày nhận bài: 08/02/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 25/4/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.288>

the relationship between depression and fracture history. **Methods:** A descriptive cross-sectional study was carried out on 285 osteoporosis patients aged ≥ 60 years, examined and treated at the National Geriatric Hospital from September 2021 to September 2022. The Patient Health Questionnaire (PHQ-9) scale was used to assess depression. Face-to-face interviews were conducted using available questionnaires. **Results:** The rate of depression was 53.7%. The majority of patients with mild depression accounted for 30.8%, and moderate level accounted for 12.3%. Severe and very severe depression both accounted for 5.3%. Among the symptoms of depression on the PHQ-9 scale, the most common symptoms were: “Feeling tired or lack of energy” (65.6%) and “Difficulty initiating or maintaining sleep” sleep, or sleep too much” (60.0%). No association was found between fracture history and depression. **Conclusion:** The percentage of elderly osteoporosis patients assessed depression according to the PHQ-9 scale was quite high. Routine screening for depression in elderly osteoporosis patients in general and community health settings is required for early detection and treatment of patients.

Keywords: Depression; PHQ-9; Osteoporosis; Older people.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Loãng xương là bệnh mạn tính phổ biến và được coi là căn bệnh thầm lặng của thế kỷ [1]. Đây là bệnh lý xương chuyển hóa phổ biến nhất, đặc trưng bởi giảm khối lượng xương và thường tiến triển âm thầm, người bệnh có thể cảm thấy đau mỏi không rõ ràng hoặc đau mạn tính, dẫn đến biến chứng, gây ra tổn hại về thể chất, tinh thần, cũng như chi phí điều trị cao cho người bệnh và xã hội. Các biến chứng phổ biến và nghiêm trọng nhất của bệnh loãng

xương là gãy xương, ước tính khoảng 1,5 triệu ca gãy xương mỗi năm [2]. Tại Vương quốc Anh và Hoa Kỳ, khoảng 18 tỷ đô la và 7,1 tỷ bảng Anh mỗi năm được chi cho các BN gãy xương do loãng xương [2].

Các bệnh mạn tính có thể gây ra một số hậu quả bất lợi và dẫn đến những lo lắng về tâm lý, trầm cảm. Trầm cảm với một số thay đổi trong hệ thống nội tiết tố, như tăng cortisol và giảm hormone giới tính, có thể dẫn đến giảm mật độ khoáng của xương. Trầm

cảm với một số thay đổi trong hệ thống nội tiết tố, chẳng hạn như giảm hormon giới tính và tăng cortisol, có thể dẫn đến giảm mật độ khoáng của xương [3]. Trầm cảm là một trong những rối loạn tâm thần phổ biến nhất, có nguyên nhân từ nhiều yếu tố [4]. Các số liệu công bố cho thấy mỗi năm ở Hoa Kỳ có khoảng 19 triệu người bị trầm cảm. Số người bị trầm cảm đang có xu hướng gia tăng do áp lực từ thay đổi xã hội, môi trường và một số bệnh tật. Ngoài việc làm giảm chất lượng cuộc sống của người cao tuổi (NCT), trầm cảm còn làm suy giảm chức năng nhận thức, chức năng thể chất và thậm chí có thể dẫn đến tự tử. Tuy nhiên, trầm cảm trên NCT thường bị coi nhẹ và không được nhận biết, điều trị, bởi NCT thường đa bệnh lý. Sàng lọc trầm cảm bằng các thang điểm sẽ tránh được những bỏ sót trong quá trình thăm khám và điều trị trên NCT [5].

Một số nghiên cứu đã chỉ ra mối quan hệ giữa trầm cảm và loãng xương. Nhận biết biểu hiện trầm cảm trên BN loãng xương sẽ giúp có biện pháp can thiệp nhằm ngăn chặn, giảm bớt hậu quả bất lợi trên NCT. Do vậy, chúng tôi thực hiện đề tài nhằm: *Đánh giá đặc điểm trầm cảm theo thang*

điểm PHQ-9 ở BN loãng xương cao tuổi tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

BN ≥ 60 tuổi, được chẩn đoán loãng xương, đến khám và điều trị tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương từ tháng 9/2021 - 9/2022.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* BN ≥ 60 tuổi, được chẩn đoán loãng xương theo tiêu chuẩn WHO năm 1994 dựa trên đo mật độ xương bằng phương pháp hấp thụ tia X năng lượng kép (DXA), có tình trạng tỉnh thức, có khả năng nghe và trả lời phỏng vấn, đồng ý tham gia nghiên cứu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:* BN có tiền sử bệnh tâm thần hoặc mắc các bệnh nặng cấp cứu (đột quy cấp, nhồi máu cơ tim, suy hô hấp, ...); loãng xương thứ phát (hội chứng cushing, lạm dụng corticoid, cường giáp trạng, ung thư di căn xương, đa u tủy xương).

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Thời gian nghiên cứu:* Từ tháng 9/2021 - 9/2022.

* *Địa điểm nghiên cứu:* Bệnh viện Lão khoa Trung ương.

* *Cỡ mẫu*: Sử dụng công thức ước tính cho một tỷ lệ:

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

Trong đó: n là số BN tham gia vào nghiên cứu, $Z_{(1-\alpha/2)} = 1,96$ là độ tin cậy ở 95%, p là tỷ lệ BN loãng xương cao tuổi có biểu hiện trầm cảm với $p = 0,33$.

Cỡ mẫu tối thiểu cho nghiên cứu là 236 BN. Trên thực tế, chúng tôi thu thập được 285 BN.

* *Chọn mẫu*: Chọn mẫu thuận tiện.

* *Công cụ và các biến số nghiên cứu*:

Mỗi đối tượng nghiên cứu đều được phỏng vấn theo bộ câu hỏi thống nhất.

* *Các biến số*:

- Đặc điểm chung bao gồm tuổi, tình trạng hôn nhân, tình trạng chung sống, giới tính, trình độ học vấn, công việc hiện tại, khu vực sống, tiền sử gãy xương (Có/Không).

- Sàng lọc trầm cảm: Sử dụng bộ câu hỏi Patient Health Questionnaire (PHQ-9) [8]. Điểm tối đa là 27 điểm, trầm cảm khi ≥ 5 điểm. Phân loại mức độ trầm cảm: Không trầm cảm (0 - 4 điểm), trầm cảm nhẹ (5 - 9 điểm), trầm cảm vừa (10 - 14 điểm) và trầm cảm

nặng (15 - 19 điểm), trầm cảm nghiêm trọng (20 - 27 điểm).

- Theo WHO 1994, chẩn đoán loãng xương dựa trên mật độ chất khoáng của xương theo chỉ số T-score như sau:

-2,5 < T-score < -1: Thiếu xương; T-score \leq -2,5: Loãng xương; T-score \leq -2,5 và có gãy xương: Loãng xương nặng.

- Đo mật độ xương: T-score ở cổ xương đùi (CXĐ) và cột sống thắt lưng (CSTL) bằng máy đo hấp thụ tia X năng lượng kép (DXA Medix DR C12, Pháp).

* *Phân tích số liệu*:

Nhập số liệu bằng phần mềm Kobotoolbox và thực hiện phân tích số liệu bằng phần mềm Stata 12. Sử dụng thống kê mô tả để tìm hiểu thực trạng trầm cảm ở bệnh loãng xương cao tuổi.

3. Đạo đức nghiên cứu

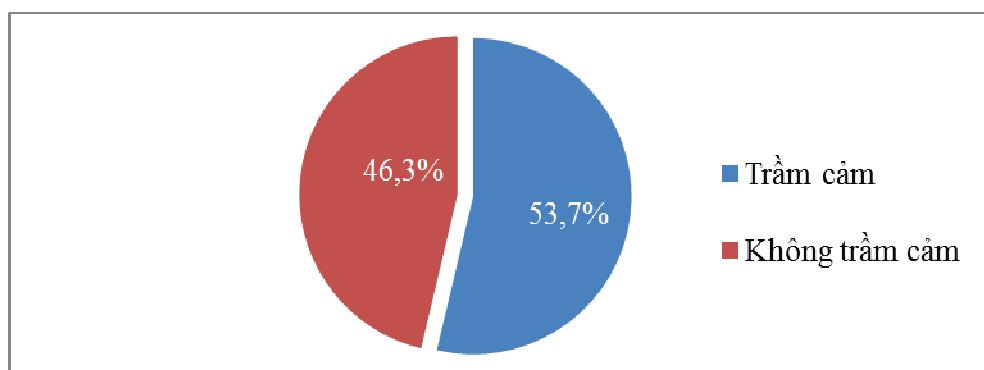
Tiến hành nghiên cứu sau khi được sự đồng ý của Bệnh viện Lão khoa Trung ương và Trường Đại học Y Hà Nội. Đối tượng nghiên cứu đều được giải thích về mục đích, quy trình và đồng ý tham gia nghiên cứu. Mọi thông tin của BN đều được bảo mật và chỉ nhằm mục đích phục vụ nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

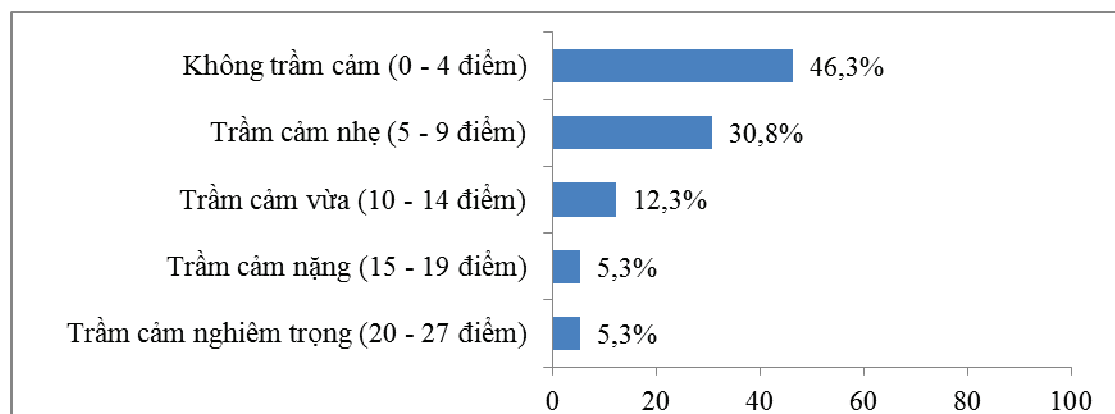
	Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ (%)
Giới tính	Nữ	244	85,6
	Nam	41	14,4
Nhóm tuổi	60 - 69	111	39,0
	70 - 79	107	37,5
	≥ 80	67	23,5
Hoàn cảnh sống	Sống với người thân	3	1,1
	Sống một mình	26	9,1
	Sống cùng gia đình	256	89,8
BMI	< 18,5	29	10,2
	18,5 - 23	147	51,6
	> 23	109	38,2

Nghiên cứu thực hiện trên 285 BN loãng xương cao tuổi, giới nữ chiếm tỷ lệ cao 85,6% (244 người). Tuổi trung bình là $72,7 \pm 8,7$ (60 - 99), trong đó độ tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là 60 - 69 (39,0%). Đa số BN (51,0%) có chỉ số khối $18,5 \leq \text{BMI} \leq 23 \text{ kg/m}^2$.



Biểu đồ 1. Tỷ lệ trầm cảm theo thang điểm PHQ-9 (n = 285).

Kết quả cho thấy tỷ lệ người bệnh loãng xương cao tuổi được đánh giá trầm cảm theo thang điểm PHQ-9 là 53,7%.



Biểu đồ 2. Mức độ trầm cảm theo thang điểm PHQ-9.

Đa số BN bị trầm cảm ở mức độ nhẹ (30,8%) và mức độ vừa (12,3%). Trầm cảm mức độ nặng và trầm trọng chiếm 5,3%.

Bảng 2. Đặc điểm về triệu chứng trầm cảm theo thang điểm PHQ-9.

STT	Nội dung	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	$\bar{X} \pm SD$
1	Ít hứng thú hay ít hài lòng khi làm việc	144	50,5	0,86 ± 1,045
2	Cảm thấy buồn, chán nản, hoặc vô vọng	145	50,9	0,79 ± 0,948
3	Khó khăn khi bắt đầu hay duy trì giấc ngủ, hay ngủ quá nhiều	171	60,0	1,01 ± 1,036
4	Cảm thấy mệt mỏi hay thiếu sức sống	187	65,6	1,09 ± 1,036
5	Chán ăn hay ăn quá nhiều	139	48,8	0,82 ± 1,031
6	Cảm thấy bản thân tồi tệ, thất bại hay kém cỏi, làm bản thân và gia đình thất vọng	92	32,3	0,49 ± 0,833
7	Khó khăn khi tập trung vào việc gì đó, như là đọc báo hay xem tivi...	106	37,2	0,58 ± 0,884
8	Đi lại chậm chạp, nói chậm và khó diễn đạt từ người khác không thể nghe? Hay ngược lại, quá hồi hã hay bồn chồn đến nỗi bạn đi lại quá nhiều hơn bình thường	96	33,7	0,46 ± 0,757
9	Suy nghĩ tiêu cực như muốn chết, ý định tự tử hoặc gây thương tích cho bản thân	68	23,9	0,31 ± 0,630

Trong các triệu chứng về trầm cảm theo thang điểm PHQ-9, tỷ lệ triệu chứng hay gặp nhất: “*Cảm thấy mệt mỏi hay thiếu sức sống*” (65,6%) và “*Khó khăn khi*

bất đầu hay duy trì giấc ngủ, hay ngủ quá nhiều” (60,0%). Đặc biệt, việc suy nghĩ tiêu cực như muốn chết, ý định tự tử hoặc gây thương tích cho bản thân chiếm 23,9%. Mức độ của triệu chứng “Cảm thấy mệt mỏi hay thiếu sức sống” là nặng nhất với điểm trung bình là $1,09 \pm 1,036$.

Bảng 3. Mối liên quan giữa trầm cảm theo thang điểm PHQ9 với tiền sử gãy xương và tiền sử gãy xương

Tiền sử gãy xương	Trầm cảm (n = 153)		Không trầm cảm (n = 132)		OR (95% CI)	p
	n	%	n	%		
Có	15	53,6	13	46,4	1,01 (0,46 - 2,20)	0,99
Không	138	53,7	119	46,3		

Không tìm thấy mối liên quan giữa tiền sử gãy xương và nguy cơ trầm cảm đánh giá theo thang điểm PHQ-9.

BÀN LUẬN

Nghiên cứu thực hiện trên 285 BN loãng xương, BN nữ chiếm tỷ lệ cao hơn (244 người = 85,6%), nam giới chiếm tỷ lệ thấp hơn (41 người = 14,4%). Kết quả tương đồng các nghiên cứu thực hiện tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương. Nghiên cứu của Weng SF. (2020) cho kết quả BN loãng xương mắc bệnh trầm cảm là nữ (84,51%) [6]. Nhiều nghiên cứu trước đó đã chứng minh giới tính nữ là một yếu tố nguy cơ của loãng xương. Ngoài ra, có thể thấy nữ giới quan tâm đến sức khỏe và thường xuyên đi khám bệnh hơn nam giới, và sự chênh lệch về giới tính NCT trong nghiên cứu phù hợp với báo cáo nghiên cứu đánh giá tình hình chăm sóc sức khỏe ở NCT

Việt Nam và nghiên cứu dọc về NCT và sức khỏe tại Việt Nam [7, 8]. Theo báo cáo năm 2020, tại Việt Nam, tỷ lệ giới tính của NCT, nữ giới chiếm tỷ lệ cao (57,2%), cứ 100 nữ thì có 74,8 nam trong độ tuổi dân số ≥ 60 tuổi.

Đối tượng nghiên cứu có chỉ số khối trung bình là $22,4 \pm 3,4$. BN loãng xương cao tuổi mắc trầm cảm có mức thừa cân béo phì chiếm 38,6%. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Weng SF (2020) thấy rằng BN loãng xương mắc trầm cảm có chỉ số BMI ≥ 25 (69,72%). Nghiên cứu của Bahouq H (2020) cho kết quả BN loãng xương mắc trầm cảm có BMI trung bình là $27,460 \pm 3,863$, tương đương mức thừa cân chiếm 44,8% và béo phì chiếm 31% [9].

Trầm cảm ở người lớn tuổi thường biểu hiện bằng các triệu chứng đa dạng, mờ nhạt, không rõ ràng. Bên cạnh đó là các quan niệm sai lầm của gia đình, BN và cả nhân viên y tế cho rằng những thay đổi về cảm xúc của người bệnh là sự tiến triển bình thường của tuổi già. Chính các yếu tố này gây khó khăn cho việc phát hiện bệnh sớm và điều trị kịp thời. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy BN bị trầm cảm chiếm 53,7%, thấp hơn tỷ lệ trầm cảm của tác giả Bahouq H với tỷ lệ trầm cảm trên phụ nữ Maroc sau mãn kinh bị loãng xương là 58%. Nghiên cứu của Prisco Piscitelli và CS (2012) thực hiện trên 55 BN cao tuổi bị gãy xương hông, cho kết quả 69,1% bị trầm cảm trong số NCT bị loãng xương. Có thể thấy nguy cơ trầm cảm ở người bệnh loãng xương cao tuổi chiếm tỷ lệ khá cao dù đánh giá trên thang điểm nào. Đánh giá trên thang điểm GDS-15, nghiên cứu thực hiện Bệnh viện Lão khoa Trung ương (2021) cho thấy tỷ lệ NCT loãng xương có nguy cơ mắc trầm cảm chiếm 86,4%. Nghiên cứu đánh giá nguy cơ trầm cảm NCT ở Việt Nam năm 2019, tỷ lệ NCT biểu hiện trầm cảm là 30,6%. Nghiên cứu tại Bệnh viện Đại học Y Dược Hồ Chí Minh (2018), tỷ lệ NCT mắc trầm cảm nhập viện các khoa là 18%.

Kết quả nghiên cứu thấy rằng 30,8% BN trầm cảm mức độ nhẹ và 12,3% mức độ vừa. BN bị trầm cảm mức độ nặng và nghiêm trọng đều chiếm 5,3%.

Nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn tỷ lệ trầm cảm của Bahouq H (2020), cho kết quả tỷ lệ trầm cảm là 58% trong đó mức độ trầm cảm nhẹ (0 - 4 điểm) là 37,93%, trầm cảm trung bình (10 - 14 điểm) là 32,75%, trầm cảm mức độ vừa nghiêm trọng (15 - 19 điểm) là 24,14% và trầm cảm nặng (20 - 27 điểm) là 5,17%.

Phát hiện và điều trị trầm cảm là cần thiết và quan trọng. Với những ưu điểm của bộ câu hỏi này, PHQ-9 có thể trở thành một công cụ hữu ích trong thực hành lâm sàng, đặc biệt trong trường hợp thiếu nhân lực là bác sỹ chuyên sâu về tâm thần học như ở vùng sâu, biên giới hải đảo, vùng xa... Trong chăm sóc y tế ban đầu, PHQ-9 cũng rất có ý nghĩa do tính ngắn gọn và tiện lợi. Ngoài chẩn đoán trầm cảm, PHQ-9 còn được chứng minh là công cụ tin cậy để đánh giá mức độ của rối loạn này, hỗ trợ các bác sỹ trong chẩn đoán, điều trị và theo dõi đáp ứng điều trị của BN.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi không tìm thấy mối liên quan giữa tiền sử gãy xương và nguy cơ trầm cảm đánh giá theo thang điểm PHQ-9. Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy mối liên quan giữa trầm cảm và gãy xương do việc sử dụng một số thuốc trầm cảm có thể gây hạ huyết áp tư thế hoặc rối loạn nhịp tim, do đó tăng nguy cơ ngã. Cần tiến hành thêm những nghiên cứu theo dõi dọc để đánh giá mối liên quan giữa trầm cảm và gãy xương trên BN loãng xương cao tuổi.

KẾT LUẬN

Tỷ lệ trầm cảm ở người bệnh loãng xương cao tuổi đánh giá theo thang điểm PHQ-9 là khá cao. Không có mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa trầm cảm theo thang điểm PHQ-9 và tiền sử gãy xương. Nên sàng lọc thường quy trầm cảm ở BN loãng xương cao tuổi tại các cơ sở y tế bằng các thang đánh giá nhanh, dễ sử dụng như PHQ-9 nhằm phát hiện và điều trị sớm cho BN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Tuấn. Loãng xương. Thời Sự Học. *Tạp chí Hội Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*. 2008; 7(29):11-33.

2. Malgo F, Appelman-Dijkstra N, Termaat M, van der Heide H, Schipper I, Rabelink T, et al. High prevalence of secondary factors for bone fragility in patients with a recent fracture independently of BMD. *Arch. Osteoporos*. 2016; 11(1):12. doi: 10.1007/s11657-016-0258-3.

3. Tolea M, Black S, Carter-Pokras O, Kling M. Depressive symptoms as a risk factor for osteoporosis and fractures in older Mexican American women. *Osteoporos Int*. 2007; 18(3):315-322. doi: 10.1007/s00198-006-0242-7.

4. Saei Gharenaz M, Ozgoli G, Aghdashi MA, Salmany F. Relationship between depression and osteoporosis

in women. *Urmia Med. J*. 2015; 26(1):10-16.

5. Zhang H, Wang S, Wang L, Yi X, Jia X, Jia C. Comparison of the geriatric depression scale-15 and the patient health questionnaire-9 for screening depression in older adults. *Geriatr Gerontol Int*. 2020.

6. Weng SF, Hsu HR, Weng YL, Tien KJ, Kao HY. Health-related quality of life and medical resource use in patients with osteoporosis and depression: A cross-sectional analysis from the national health and nutrition examination survey. *Int J Environ Res Public Health*. 2020; 17(3):1124. doi:10.3390/ijerph17031124.

7. Vũ Công Nguyên, Trần Thị Mai, Đặng Thùy Linh, Chei Choy-Lye, Saito Yasuhiko. *Người Cao tuổi và Sức Khỏe Tại Việt Nam*. Jakarta: ERIA và Hà Nội: PHAD; 2020.

8. Đàm Viết Cương, Trần Thị Mai Oanh, Dương Huy Lương, Khương Anh Tuấn, Nguyễn Thị Thắng. Đánh giá tình hình chăm sóc sức khỏe cho NCT ở Việt Nam. *Viện Chiến lược và Chính sách Y tế*. 2009.

9. Bahouq H, Soulaymani A. Depression, quality of life, and self-esteem of moroccan postmenopausal women with osteoporosis before the occurrence of fractures. *J Menopausal Med*. 2020; 26(2):121-129. doi:10.6118/jmm.19008.

SỰ THAY ĐỔI NỒNG ĐỘ ANGIOPOIETIN-1
VÀ ANGIOPOIETIN-2 Ở BỆNH NHÂN NHIỄM KHUẨN HUYẾT
TẠI BỆNH VIỆN HỮU NGHỊ VIỆT TIỆP GIAI ĐOẠN 2018 - 2020

Lưu Thị Thanh Duyên^{1,2}, Bùi Văn Mạnh¹, Phạm Thái Dũng¹*

Tóm tắt

Mục tiêu: Phân tích sự thay đổi nồng độ angiotensin-1 (Ang-1) và angiotensin-2 (Ang-2) ở bệnh nhân (BN) nhiễm khuẩn huyết (NKH). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu tiền cứu trên 105 BN NKH tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp giai đoạn 2018 - 2020. **Kết quả:** Tuổi trung bình của bệnh nhân NKH không có sốc nhiễm khuẩn (SNK) là 65,8 ± 17,8, ở nhóm SNK là 66,5 ± 14,9. Nồng độ creatinine, pro-calcitonin (PCT), lactate ở nhóm SNK cao hơn nhóm NKH không SNK. Nồng độ Ang-1 (trung vị, khoảng tứ phân vị) ở nhóm NKH không có SNK và có SNK lần lượt là: 307,4 (79,5 - 946,1 pg/mL) và 172,4 (32,4 - 590,1 pg/mL). Nồng độ Ang-2 ở nhóm NKH không có SNK và có SNK lần lượt là: 515,6 (341,4 - 747,3 pg/mL) và 1096,8 (797,4 - 1291,3 pg/mL). Trung vị nồng độ Ang-1 ở các thời điểm chẩn đoán, sau 3 ngày, sau 7 ngày là: 187,1 (55,1-759,4 pg/mL); 390,8 (136,3 - 1290,1 pg/mL); 833,5 (356,8 - 1580,7 pg/mL). Trong khi đó nồng độ Ang-2 ở các thời điểm này là: 785,5 (402,9 - 1162,8 pg/mL); 521,9 (254,1 - 792,3 pg/mL); 353,5 (232,0 - 531,8 pg/mL). **Kết luận:** Nồng độ Ang-1 ở nhóm bệnh nhân NKH cao hơn ở nhóm bệnh nhân SNK; nồng độ Ang-2 ở nhóm NKH thấp hơn nhóm SNK; tỷ số Ang-1/Ang-2 tăng dần từ thời điểm chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết đến 3 ngày và 7 ngày sau chẩn đoán.

Từ khóa: Nhiễm khuẩn huyết; Angiotensin-1; Angiotensin-2.

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp

*Tác giả liên hệ: Lưu Thị Thanh Duyên (Luuthithanhduyen@gmail.com)

Ngày nhận bài: 13/4/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 02/6/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.350>

**CHANGES IN ANGIOPOIETIN-1 AND ANGIOPOIETIN-2 CONCENTRATION
IN PATIENTS WITH SEPSIS AT VIET TIEP HOSPITAL
FROM 2018 - 2020**

Abstract

Objectives: To analyze the change in angiotensin-1 (Ang-1) and angiotensin-2 (Ang-2) levels in patients with sepsis. **Methods:** A prospective study was conducted on 105 sepsis patients at Viet Tiep Hospital in 2018 - 2020. **Results:** The mean age of patients with sepsis without septic shock was 65.8 ± 17.8 , and with septic shock was 66.5 ± 14.9 . The creatinine, pro-calcitonin, lactate indexes in the septic shock were higher than those in the sepsis. The levels (median, interquartile range) of Ang-1 of the sepsis and septic shock were 307.4 (79.5 - 946.1 pg/mL) and 172.4 (32.4 - 590.1 pg/mL), respectively. The median (interquartile range) of Ang-2 in the sepsis and septic shock were 515.6 (341.4 - 747.3 pg/mL) and 1096.8 (797.4 - 1291.3 pg/mL), respectively. The level of Ang-1 at the time of diagnosis, three days, and seven days after were: 187.1 (55.1 - 759.4 pg/mL), 390.8 (136.3 - 1290.1 pg/mL), and 833.5 (356.8 - 1580.7 pg/mL) respectively. Meanwhile, the concentrations of Ang-2 at these times were: 785.5 (402.9 - 1162.8), 521.9 (254.1 - 792.3) and 353.5 (232.0 - 531.8 pg/mL). **Conclusion:** The level of Ang-1 in the sepsis was higher than in the septic shock; Ang-2 concentration in the sepsis group was lower than that in the septic shock group; The Ang-1/Ang-2 ratio gradually increased from the time of diagnosis of sepsis to 3 days and seven days after diagnosis.

Keywords: Sepsis; Angiotensin-1; Angiotensin-2.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Nhiễm khuẩn huyết là bệnh nhiễm khuẩn toàn thân nặng, gây ra do vi khuẩn và độc tố của vi khuẩn lưu hành trong máu. NKH có thể là nguyên phát hoặc thứ phát sau viêm phổi, viêm đường tiết niệu... SNK là dạng NKH nặng nhất bắt đầu bằng phản ứng viêm toàn thân (SIRS) và hậu quả dẫn đến suy đa cơ quan, có nguy cơ tử vong cao.

Ang-1 và Ang-2 là các protein lưu hành có vai trò đối lập nhau trong quá trình tạo mạch của phôi thai. Cả hai liên kết với thụ thể Tie-2 trên các tế bào nội mô, nhưng Ang-1 là chất chủ vận Tie-2, trong khi Ang-2 đối kháng với tín hiệu Tie-2. Trong mạch máu đã phát triển, Ang-1 bảo vệ chống rò rỉ mạch máu, trong khi Ang-2 thúc đẩy tăng tính thấm thành mạch. Ang-1 rất

quan trọng đối với sự trưởng thành, bám dính, di chuyển và sống sót của mạch máu trong khi Ang-2 thúc đẩy quá trình chết tế bào và phá vỡ mạch máu. Mất tính toàn vẹn mao mạch bình thường dẫn đến sự tràn dịch ra khỏi mạch máu và vào các mô là một đặc điểm quan trọng. Do đó, SNK được đặc trưng bởi những thay đổi cơ bản trong chức năng nội tại của vi tuần hoàn, đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của suy đa tạng và tỷ lệ tử vong sau đó [1]. Theo hiểu biết của chúng tôi, chưa có nghiên cứu đầy đủ về vai trò của Ang-1 và Ang-2 ở BN NKH tại Việt Nam, do vậy, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm: *Phân tích sự thay đổi nồng độ Ang-1 và Ang-2 ở BN NKH tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp giai đoạn 2018-2020.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* 105 BN được chẩn đoán NKH tại khoa Hồi sức cấp cứu (ICU) - Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp, Hải Phòng từ năm 2018 đến 2020.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:* Dựa theo tiêu chuẩn Sepsis-3 (2016) [2]:

- Sepsis: Rối loạn (RL) chức năng cơ quan + nhiễm khuẩn.

+ RL chức năng cơ quan = Thay đổi cấp tính điểm SOFA ≥ 2 điểm (Tại ICU).

+ RL chức năng cơ quan = quick SOFA ≥ 2 điểm (Ngoài ICU).

- SEPSIS SHOCK = SEPSIS + tụt huyết áp kéo dài cần dùng vận mạch + nồng độ lactate máu ≥ 2 mmol/L (mặc dù đã bù đủ dịch).

- Kết quả cấy máu dương tính lần đầu.

* *Tiêu chuẩn loại trừ:*

- BN có kết quả cấy máu dương tính với nhiều mầm bệnh.

- Loại các triệu chứng cận lâm sàng nếu các triệu chứng đó thuộc bệnh lý nền.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu:* Nghiên cứu tiền cứu.

* *Cỡ mẫu và chọn mẫu:* Chọn mẫu thuận tiện (105 BN được chẩn đoán NKH tại khoa ICU).

* *Công cụ nghiên cứu và kỹ thuật thu thập thông tin:*

- Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: Tuổi, giới tính.

- Các xét nghiệm huyết học, sinh hóa của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm chẩn đoán NKH được thực hiện tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp, Hải Phòng.

- Nồng độ Ang-1 được đo trong các mẫu huyết tương của các nhóm BN bằng cách sử dụng Human ProcartaPlex Mix&Match 4-plex (Thermo Fisher

Khoa học, Waltham, MA, Hoa Kỳ; danh mục số: PPX-04-XWCXE3); nồng độ Ang-2 được đo bằng cách sử dụng Bộ ELISA Human Ang-2 (Thermo Fisher Khoa học; danh mục số: KHC1641) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Các chỉ tiêu này được thu thập tại 3 thời điểm: T0 (thời điểm chẩn đoán), T1 (sau 3 ngày), T2 (sau 7 ngày).

- Kết quả điều trị: BN sống và tử vong.

+ BN sống: BN ra viện trong tình trạng không cần hỗ trợ về tuần hoàn và hô hấp.

+ BN tử vong: BN tử vong tại bệnh viện và những BN quá nặng, gia đình xin về (sau đó được kiểm tra và xác định).

* *Xử lý số liệu*: Theo phương pháp thống kê y học bằng phần mềm Stata 15.0, tính tần số, tỷ lệ phần trăm cho các biến định tính; tính giá trị trung

bình, độ lệch chuẩn SD, min, max cho biến liên tục, trung vị, khoảng tứ phân vị. So sánh nhóm biến phân loại sử dụng test khi bình phương hoặc Fisher's exact; so sánh nhóm biến liên tục sử dụng T-test hoặc Mann-Whitney U test. Giá trị $p < 0,05$ được xác định là có ý nghĩa thống kê.

3. Đạo đức nghiên cứu

- Đề tài được tiến hành sau khi thông qua Hội đồng Khoa học, được sự chấp thuận của Ban Giám đốc Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp - Hải Phòng.

- BN và gia đình BN tham gia vào nghiên cứu được giải thích đầy đủ về mục đích, nội dung và tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. Thông tin về đối tượng nghiên cứu được giữ bí mật. Quy trình nghiên cứu không làm gián đoạn hoặc cản trở quá trình chăm sóc điều trị cho BN.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu.

Biến số	Không SNK (n = 52)		Có SNK (n = 53)		Chung NKH (n = 105)		p
	n	%	n	%	n	%	
	Giới tính						
Nam	27	51,9	30	56,6	57	54,3	0,23*
Nữ	25	48,1	23	43,4	48	45,7	
Tuổi TB (min - max)	65,8 ± 17,8 (16 - 90)		66,5 ± 14,9 (38 - 91)		66,2 ± 16,3 (16 - 91)		0,83*
Tuổi ≥ 60	36 (69,2)		36 (67,9)		72 (68,6)		0,9*

*: So sánh nhóm có SNK và không SNK.

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi và giới tính giữa nhóm NKH không SNK và SNK ($p > 0,05$).

Bảng 2. Các xét nghiệm cận lâm sàng tại thời điểm chẩn đoán NKH.

	Chỉ số	Không SNK	Có SNK	Chung NKH	p
Bạch cầu (G/L)	$\bar{X} \pm SD$	16,5 ± 10,1	14,6 ± 11,1	15,5 ± 10,6	0,38
	Min - max	4,5 - 61,1	0,4 - 64,3	0,4 - 64,3	
	< 4 G/L (n, %)	0 (0)	8 (15,4)	8 (8,1)	0,01
4 - 12 G/L (n, %)	14 (29,8)	16 (30,8)	30 (30,3)		
> 12 G/L (n, %)	33 (70,2)	28 (53,8)	61 (61,6)		
Tiểu cầu (G/L)	$\bar{X} \pm SD$	222,2 ± 116,3	135,4 ± 114,8	176,6 ± 122,9	0,0003
	Min - max	25 - 547	2 - 516	2 - 547	
	< 150 G/L	13(25,0)	34(64,2)	47(44,8)	< 0,001
Hematocrit (%)	$\bar{X} \pm SD$	31,8 ± 5,0	33,7 ± 6,6	32,8 ± 6,0	0,12
	Min - max	20 - 44,4	17,8 - 53,9	17,8 - 53,9	
Creatinine ($\mu\text{mol/L}$)	Median	75,7	144,4	99,9	< 0,001
	IQR	62,8 - 100,7	98,1 - 203,4	73,9 - 177,3	
Bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	Median	16,3	28,8	19,5	0,03
	IQR	10 - 34,6	15,1 - 69,4	13,05 - 47,8	
PCT (ng/mL)	Median	7,5	51,5	30,1	< 0,001
	IQR	2,8 - 32,3	26,9 - 86,4	6,4 - 70	
	≥ 10 ng/mL (n,%)	25 (48,1)	50 (94,3)	75 (71,4)	
Lactate	Median	0	5,8	2,0	< 0,001
	IQR	0 - 1,1	3,8 - 7,5	0 - 5,8	

Median: Trung vị; IQR: Khoảng tứ phân vị.

Số lượng bạch cầu ở cả hai nhóm NKH đều tăng nhưng không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Số lượng tiểu cầu ở nhóm SNK thấp hơn nhóm không có sức có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Tuy nhiên ở nhóm SNK gặp BN có số lượng bạch cầu giảm (< 4 G/L) và số lượng tiểu cầu giảm (< 150 G/L) cao hơn so với

nhóm NKH không có SNK. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với p lần lượt là 0,01 và < 0,001. Nồng độ creatinine, PCT, lactate ở nhóm NKH không SNK thấp hơn so với ở nhóm SNK có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

Bảng 3. Nồng độ Ang-1 và Ang-2 ở thời điểm chẩn đoán NKH.

Biến số	Không SNK	Có SNK	p
	Median (IQR)	Median (IQR)	
Ang-1 (pg/mL)	307,4 (79,5 - 946,1)	172,4 (32,4 - 590,1)	< 0,001
Ang-2 (pg/mL)	515,6 (341,4 - 747,3)	1096,8 (797,4 - 1291,3)	< 0,001
Ang-1/Ang-2	0,51 (0,17 - 2,38)	0,14 (0,04 - 0,71)	< 0,001

Median: trung vị; IQR: khoảng tứ phân vị

Chỉ số Ang-1 và tỷ số Ang-1/Ang-2 ở nhóm BN NKH không có SNK cao hơn ở nhóm SNK. Ngược lại, chỉ số Ang-2 ở nhóm SNK lại cao hơn ở nhóm không có SNK có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$.

Bảng 4. Sự thay đổi nồng độ Ang-1 và Ang-2 ở các thời điểm nghiên cứu.

Chỉ số	T0	T1	T2	p
	Median (IQR)	Median (IQR)	Median (IQR)	
Ang-1 (pg/mL)	187,1 (55,1 - 759,4)	390,8 (136,3 - 1290,1)	833,5 (356,8 - 1580,7)	p1 = 0,03 p2 < 0,001 p3 = 0,004
Ang-2 (pg/mL)	785,5 (402,9 - 1162,8)	521,9 (254,1 - 792,3)	353,5 (232,0 - 531,8)	p1 < 0,001 p2 < 0,001 p3 = 0,002
Ang-1/Ang-2	0,26 (0,09 - 1,46)	1,05 (0,31 - 3,52)	2,34 (0,90 - 3,11)	p1 = 0,004 p2 < 0,001 p3 = 0,011

Median: trung vị; IQR: khoảng tứ phân vị; p1: so sánh giá trị tại thời điểm T0 và T1, p2 so sánh giá trị tại thời điểm T0 và T2, p3: so sánh giá trị tại thời điểm T1 và T2.

Nồng độ Ang-1 và tỷ số Ang-1/Ang-2 tăng dần từ thời điểm chẩn đoán NKH đến 3 ngày và 7 ngày sau chẩn đoán. Ngược lại, nồng độ Ang-2 lại giảm dần từ lúc chẩn đoán NKH đến thời điểm 7 ngày. Những sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

Bảng 5. Sự thay đổi nồng độ Ang-1 và Ang 2 ở các thời điểm và kết quả điều trị.

Kết quả Thời điểm	BN sống		BN tử vong	P
	Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	Trung vị (Khoảng tứ phân vị)	
Ang-1	T0	184,9 (54,7 - 755,2)	361,7 (75,3 - 1236,9)	0,45
	T1	390,8 (141,9 - 1287,2)	655,4 (32,4 - 1530,0)	0,94
	T2	788,1 (353,3 - 1540,8)	1021,6 (532,0 - 2436,7)	0,41
Ang-2	T0	519,6 (328,2 - 1031,4)	995,2 (744,4 - 1231,2)	0,03
	T1	401,8 (202,3 - 691,3)	644,3 (355,9 - 1171,3)	0,07
	T2	307,6 (199,4 - 427,2)	727,9 (472,5 - 818,6)	0,002

Nồng độ Ang-2 ở các thời điểm T0, T1 và T2 ở nhóm BN khỏi/đỡ đều thấp hơn so với nhóm tử vong ($p < 0,05$). Nồng độ Ang-1 ở nhóm khỏi/đỡ thấp hơn so với nhóm tử vong, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

BÀN LUẬN

* Một số đặc điểm chung nhóm nghiên cứu:

Bảng 1 cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi trung bình và giới tính của 2 nhóm BN ($p > 0,05$). Kết quả này tương tự với nghiên cứu của Phạm Thị Ngọc Thảo [3].

Số lượng bạch cầu trung bình ở nhóm BN không SNK là $16,5 \pm 10,4$ (G/L) cao hơn so với nhóm SNK ($14,6 \pm 11,1$ G/L). Tỷ lệ bạch cầu giảm (< 4 G/L) chiếm 8,1% chủ yếu gặp ở nhóm SNK. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về số lượng bạch cầu giữa 2 nhóm NKH. Số lượng tiểu cầu của

nhóm SNK là $135,4 \pm 114,8$ (G/L); thấp hơn ở mức có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$) so với nhóm NKH không SNK ($222,2 \pm 116,3$). Tỷ lệ BN giảm tiểu cầu (< 150 G/l) gặp 46,5%, chủ yếu là ở nhóm SNK. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương tự như Phạm Thị Ngọc Thảo (2013), Nguyễn Lan Hương (2021) [3, 4].

* Thay đổi nồng độ Ang-1 và Ang-2:

NKH là một thách thức ở các phòng cấp cứu do các biến chứng trong đáp ứng miễn dịch của BN, tình trạng kháng kháng sinh cũng như sự xuất hiện của các chủng vi khuẩn gây bệnh mới. Các dấu ấn sinh học để xác định tình trạng NKH cũng như dự báo SNK

là rất cần thiết. Angiopoietin đóng một vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của NKH, liên quan đến kích hoạt tế bào nội mô gây rò rỉ huyết tương [5]. Do đó, Ang-1 và Ang-2 đã được coi là dấu ấn sinh học hữu ích để cải thiện chẩn đoán sớm, phân tầng nguy cơ và tiên lượng, đặc biệt là trong giai đoạn đầu của NKH. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã ghi nhận sự thay đổi của nồng độ Ang-1, Ang-2 và tỷ số Ang-1/Ang-2 tùy theo mức độ nghiêm trọng của tình trạng NKH khi nhập viện cũng như thời điểm diễn biến sau 3 ngày và 7 ngày.

Khi so sánh nồng độ Ang-1 và Ang-2 ở những BN NKH không có SNK và SNK tại thời điểm T0, chúng tôi nhận thấy nồng độ Ang-1 ở BN không có SNK cao hơn gấp gần 2 lần so với nhóm SNK (307,4 pg/mL so với 172,4 pg/mL, $p < 0,05$); Ngược lại, nồng độ Ang-2 ở BN SNK lại cao hơn gấp gần 2 lần so với nhóm không có SNK (1096,8 pg/mL so với 515,6 pg/mL, $p < 0,05$). Vì vậy, tỷ số Ang-1/Ang-2 cũng cao hơn ở nhóm không có SNK ($p < 0,05$) (Bảng 3). Ang-1 và Ang-2 là các protein lưu hành được gán vai trò đối lập nhau trong quá trình tạo mạch của phôi thai. Cả hai liên kết với thụ thể Tie-2 trên các tế bào nội mô, nhưng Ang-1 là chất chủ vận Tie-2, trong khi

Ang-2 đối kháng với tín hiệu Tie-2. Trong mạch máu đã phát triển, Ang-1 bảo vệ chống rò rỉ mạch máu, trong khi Ang-2 thúc đẩy tăng tính thấm thành mạch. Như vậy, Ang-1 và Ang-2 có tác dụng tương phản trên nội mạc mạch máu. Do sự thay đổi tính thấm của mạch máu là phổ biến trong sốc nhiễm trùng nên Ang-2 trong huyết tương sẽ tăng đáng kể ở BN sốc nhiễm trùng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của tác giả Giuliano cho thấy nồng độ Ang-2 trong huyết tương tăng đáng kể ở trẻ bị SNK so với trẻ khỏe mạnh và những trẻ bị SIRS và NKH nguy kịch [6]. Một nghiên cứu khác cho thấy nồng độ Ang-2 trong huyết thanh ở những BN có đáp ứng viêm toàn thân, nhiễm khuẩn nặng, NKH và SNK cao hơn so với nhóm chứng và cao nhất ở nhóm SNK [7]. Những kết quả này cho thấy rằng nồng độ Ang-2 và tỷ số Ang-1/Ang-2 có thể là một dấu ấn sinh học hữu ích bổ sung giúp xác định BN NKH có nguy cơ tiến triển SNK cao hơn.

Chúng tôi cũng đo nồng độ Ang-1, Ang-2 ở thời điểm ba ngày (T1) và bảy ngày (T2) sau khi chẩn đoán và so sánh với thời điểm chẩn đoán (T0). Kết quả cho thấy nồng độ Ang-1 tăng lên đáng kể từ thời điểm T0 đến T1, T2 lần lượt là (187,1; 55,1 - 759,4 pg/mL);

(390,8; 136,3 - 1290,1 pg/mL); (833,5; 356,8 - 1580,7 pg/mL). Sự gia tăng này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,026$; $0,0001$ tương ứng). Ngược lại, nồng độ Ang-2 tăng tại thời điểm T0 (785,5; 402,9 - 1162,8 pg/mL) sau đó giảm dần sau ba ngày (521,9; 254,1 - 792,3 pg/mL) và bảy ngày (353,5; 232,0 - 531,8 pg/mL), sự thay đổi này có ý nghĩa với $p < 0,0001$; $< 0,0001$ và $0,002$ tương ứng. Tuy nhiên, tỷ lệ Ang-1/ Ang-2 đã tăng sau ba ngày (1,05) và bảy ngày (2,34) chẩn đoán so với tỷ lệ này tại thời điểm chẩn đoán (0,26) ($p < 0,0001$ và $0,011$ tương ứng) (Bảng 4). Sự thay đổi này có thể liên quan tới tiến triển của BN sau thời gian điều trị. Kết quả từ bảng 5 cho thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa 2 nhóm BN sống và BN tử vong tại thời điểm T2, tại thời điểm T1 cũng có sự thay đổi tương tự nhưng sự khác biệt chưa rõ rệt với $p > 0,05$. Như vậy, nồng độ Ang-2 giảm đáng kể sau thời điểm T1, T2 có thể được sử dụng như dấu ấn sinh học để tiên lượng BN NKH trong điều trị. Kết quả nghiên cứu này cũng tương đồng với tác giả Ricciuto tại Canada cho thấy nồng độ Ang-1 khi nhập viện và cả nồng độ Ang-1 và Ang-2 được đo tương quan với tỷ lệ tử vong trong 28 ngày trong nhiễm trùng huyết nặng. Nồng độ Ang-2 cũng tương quan với rối loạn

chức năng/tổn thương cơ quan và điểm số nhiễm trùng huyết lâm sàng [8]. Như vậy, những kết quả này một lần nữa cho thấy việc sử dụng angiotensin như là dấu ấn sinh học để đánh giá mức độ nghiêm trọng và tiên lượng kết quả điều trị của BN trong NKH.

KẾT LUẬN

- Tuổi trung bình của nhóm NKH là $65,8 \pm 17,8$, nhóm SNK là $66,5 \pm 14,9$.

- Nồng độ Ang-1 ở nhóm NKH không sóc cao hơn nhóm SNK và tăng dần từ thời điểm chẩn đoán NKH đến 3 ngày và 7 ngày sau chẩn đoán.

- Nồng độ Ang-2 ở nhóm SNK cao hơn nhóm NKH không SNK, giảm dần từ thời điểm chẩn đoán NKH đến thời điểm 3 và 7 ngày sau chẩn đoán.

- Tỷ số Ang-1/Ang-2 tăng dần từ thời điểm chẩn đoán NKH đến 3 ngày và 7 ngày sau chẩn đoán.

* *Lời cảm ơn:* Chúng tôi xin trân trọng cảm ơn Bộ môn - Trung tâm Hồi sức Cấp cứu và Chống độc, Học viện Quân y và Khoa Hồi sức Cấp cứu, Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp - Hải Phòng đã phối hợp tạo điều kiện triển khai nghiên cứu, cũng như các BN đã đồng thuận tham gia nghiên cứu. Chúng tôi cam kết không có bất kỳ xung đột lợi ích nào từ kết quả nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Song J, P.D., Moon S., Cho H.J., Park J.H., Seok H., Choi W.S. Diagnostic and prognostic value of interleukin-6, pentraxin 3, and procalcitonin levels among sepsis and septic shock patients: A prospective controlled study according to the Sepsis-3 definitions. *BMC Infect Dis.* 2019; 19(1):968.

2. Singer, M., et al., The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA.* 2016; 315(8):801-810.

3. Phạm Thị Ngọc Thảo. Nghiên cứu giá trị tiên lượng các cytokine TNF α , IL - 6, IL - 10 ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết nặng. Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh. 2013.

4. Nguyễn Lan Hương, Thân Mạnh Hùng, và Lê Văn Nam. Đặc điểm lâm

sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết do *Klebsiella Pneumoniae*. *Tạp chí Y học Việt Nam.* 2021; 2:74-77.

5. Parikh, S.M. The Angiotensin-Tie2 signaling axis in systemic inflammation. *J Am Soc Nephrol.* 2017; 28(7):1973-1982.

6. Giuliano, J.S., Jr., et al. Admission angiotensin levels in children with septic shock. *Shock.* 2007; 28(6):650-654.

7. Fang, Y., et al. Prognostic significance of the angiotensin-2/angiotensin-1 and ang-1/Tie-2 ratios for early sepsis in an emergency department. *Crit Care.* 2015; 19:367.

8. Ricciuto, D.R., et al. Angiotensin-1 and angiotensin-2 as clinically informative prognostic biomarkers of morbidity and mortality in severe sepsis. *Crit Care Med.* 2011; 39(4):702-710.

SO SÁNH SỰ THAY ĐỔI NỒNG ĐỘ LACTATE MÁU GIỮA NHÓM SỐNG VÀ TỬ VONG Ở BỆNH NHÂN SUY ĐA TẠNG

Lê Tiến Dũng¹, Phạm Thái Dũng¹, Bùi Văn Nhật¹, Bùi Khắc Vũ¹
Nguyễn Thúy Như¹, Nguyễn Thanh Tùng¹, Đồng Thế Long¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Khảo sát và so sánh sự thay đổi nồng độ lactate máu động mạch giữa nhóm sống và tử vong ở bệnh nhân (BN) suy chức năng đa tạng (MODS: Multiple organ dysfunction syndrome). **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả, tiến cứu, theo dõi dọc trên 40 BN được chẩn đoán suy đa tạng tại khoa Hồi sức Nội, Bệnh viện Quân y 103 được đưa vào nghiên cứu. MODS được đánh giá theo thang điểm SOFA (sequential organ failure assessment), với tiêu chuẩn là điểm SOFA ≥ 3 hoặc tăng ≥ 1 điểm so với lúc vào khoa điều trị tích cực. MODS được chẩn đoán khi có ≥ 2 tạng suy kéo dài trên 24 giờ. So sánh nồng độ lactate máu giữa nhóm sống và tử vong tại các thời điểm nghiên cứu ($T_0, T_1, T_2, T_3, T_4, T_5$). **Kết quả:** Nghiên cứu trên 40 BN; trong đó, nam giới chiếm 60%, tuổi trung bình là $63,2 \pm 15,9$. BN lactate > 4 mmol/L chiếm tỷ lệ cao nhất, theo sau là lactate 2 - 4 mmol/L và thấp nhất là lactate < 2 mmol/L. Ở tất cả thời điểm, nhóm BN tử vong có nồng độ lactate tăng ngay tại thời điểm được chẩn đoán và cao nhất tại thời điểm 6 giờ sau chẩn đoán rồi giảm dần. Tại thời điểm T_{cd} lactate từ 2 - 4 và lactate > 4 của nhóm tử vong cao hơn nhóm sống có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). **Kết luận:** Ở nhóm BN tử vong nồng độ lactate máu tăng cao ngay tại thời điểm chẩn đoán suy đa tạng (T_0), tiếp tục tăng cao nhất sau 6 giờ (T_1) và cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm sống ($p < 0,05$) ở tất cả các thời điểm nghiên cứu.

Từ khóa: Lactate máu; Suy chức năng đa tạng.

¹Học viện Quân y

* Tác giả liên hệ: Lê Tiến Dũng (drlettiendung79@gmail.com)

Ngày nhận bài: 05/5/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 12/6/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.364>

**STUDY ON BLOOD LACTATE LEVEL CHANGES AND ITS
RELATIONSHIP WITH MORTALITY RATE IN PATIENTS WITH
MULTIPLE ORGAN FAILURE**

Abstract

Objectives: To survey and compare changes in arterial blood lactate levels between survival and dead groups in patients with multi-organ failure. **Methods:** A descriptive, prospective, longitudinal study on 40 patients who were admitted to the Internal Resuscitation Department, Military Hospital 103 and were diagnosed with multiple organ failure were included in the study. Multiple organ dysfunction syndrome (MODS) was evaluated according to the SOFA (sequential organ failure assessment) score, with a SOFA score ≥ 3 or an increase of ≥ 1 point compared with admission to the ICU and MODS was diagnosed when ≥ 2 organ failure persisted for more than 24 hours. Comparison of blood lactate levels between survival and death groups at the time of the study ($T_0, T_1, T_2, T_3, T_4, T_5$). **Results:** The study included 40 patients, males accounted for 60% and the mean age was 63.2 ± 15.9 . The proportion of patients with lactate > 4 mmol/L was the highest, followed by lactate 2 - 4 mmol/L, and lactate < 2 mmol/L was the lowest at all time points. In the group of patients who died, lactate concentration increased at the time of diagnosis and peaked at 6 hours after diagnosis, and then gradually decreased. At the time of T_c values of lactate ranged from 2 - 4, and lactate > 4 in the death group was statistically significantly higher than that in the survival group ($p < 0.05$). **Conclusion:** In the group of patients who died, blood lactate levels increased at the time of diagnosis of multiple organ failure (T_0), continued to increase to the highest figure after 6 hours (T_1), and were statistically significantly higher than in the group of patients who survived ($p < 0.05$) at all study time points.

Keywords: Blood lactate; Multiple organ dysfunction syndrome.

ĐẶT VẤN ĐỀ

MODS là hậu quả của rất nhiều bệnh lý cấp cứu và là một trong những nguyên nhân chính dẫn tới tử vong tại các đơn vị hồi sức cấp cứu [1, 2]. Suy đa tạng có tỷ lệ tử vong dao động từ

60 - 80% [1]. Rối loạn chức năng tế bào do thiếu oxy mô là yếu tố quan trọng khởi phát suy đa tạng, cơ chế sinh lý bệnh của suy đa tạng. Chính vì thế theo dõi và kiểm soát tình trạng thiếu oxy mô là một trong những mục

tiêu hàng đầu trong chiến lược điều trị suy đa tạng. Hiện nay, nhiều yếu tố nguy cơ suy đa tạng và yếu tố tiên lượng nặng đã được đánh giá như: Tuổi, điểm SOFA, lactate máu, ARDS [3, 4]; trong đó, chỉ số nồng độ lactate máu động mạch ngày càng được nghiên cứu nhiều và được xem như một chỉ dẫn đánh giá tình trạng sử dụng oxy mô của tổ chức. Do đó, việc theo dõi thay đổi và đánh giá sự liên quan của chỉ số lactate máu đến mức độ nặng của suy đa tạng là rất cần thiết trong lĩnh vực hồi sức cấp cứu. Xuất phát từ những lý do trên, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu: *Khảo sát, so sánh sự thay đổi nồng độ lactate máu động mạch giữa nhóm sống và tử vong ở BN suy chức năng đa tạng.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đối tượng nghiên cứu:* 40 BN được chẩn đoán và điều trị suy đa tạng

* *Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- BN trên 18 tuổi, điều trị ≥ 24 h, được đánh giá MODS theo thang điểm SOFA cho từng tạng bao gồm phổi, tuần hoàn, thận, thần kinh, gan, máu.

- Tiêu chuẩn suy tạng: Điểm SOFA ≥ 3 hoặc tăng ≥ 1 điểm so với lúc vào khoa điều trị tích cực.

- MODS được chẩn đoán khi có ≥ 2 tạng suy kéo dài trên 24 giờ [5].

* *Tiêu chuẩn loại trừ:*

- BN có bệnh lý ác tính, nhiễm HIV, dùng thuốc ức chế miễn dịch thường xuyên trước khi bị bệnh.

- BN không đồng ý tham gia nghiên cứu.

* *Địa điểm và thời gian nghiên cứu:* Khoa Hồi sức nội, Bệnh viện Quân y 103, từ tháng 01/2022 - 3/2023.

2. Phương pháp nghiên cứu

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

* *Cỡ mẫu:* Thuận tiện

* *Tiến hành:* Thu thập các thông số lâm sàng (tuổi, giới tính, bệnh mãn tính kèm theo, tần số mạch, huyết áp, tần số thở) và các chỉ số cận lâm sàng để đánh giá suy tạng theo thang điểm SOFA và nồng độ lactate máu động mạch của BN tại các thời điểm: Chẩn đoán xác định MODS (T_0), sau 6 giờ (T_1), 12 giờ (T_2), 24 giờ (T_3), 72 giờ (T_4) và ngày thứ 7 (T_5) sau chẩn đoán xác định. Theo dõi cho đến khi BN khỏi bệnh, ra viện hoặc tử vong (BN tử vong tại bệnh viện hoặc quá nặng được người nhà xin về).

* *Xử lý số liệu:* Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 22.0 với $p < 0,05$.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm BN nghiên cứu.

Đặc điểm	Số lượng (người)	Tỷ lệ (%)
Nam	24	60,0
Nữ	16	40,0
Sống	11	27,5
Tử vong	29	72,5

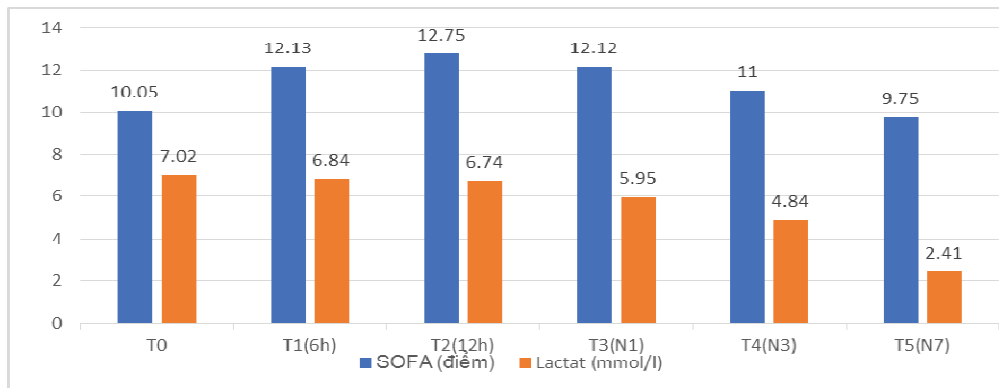
Đặc điểm	Giá trị ($\bar{X} \pm SD$)	Min - Max
Tuổi	63,2 ± 15,9	25 - 85
Thời gian điều trị tại khoa Hồi sức (ngày)	5,5 ± 4,5	2 - 20
Điểm SOFA tại thời điểm chẩn đoán	10,9 ± 2,7	4 - 21
Nồng độ Lactate tại thời điểm chẩn đoán	7,02 ± 4,73	0,3 - 15,41

Nam giới chiếm đa số (60%) và tuổi trung bình là 63,2 (thấp nhất là 25 và cao nhất là 85).

Thời gian điều trị hồi sức trung bình là 5,5 ngày (ít nhất là 2 và lâu nhất là 20).

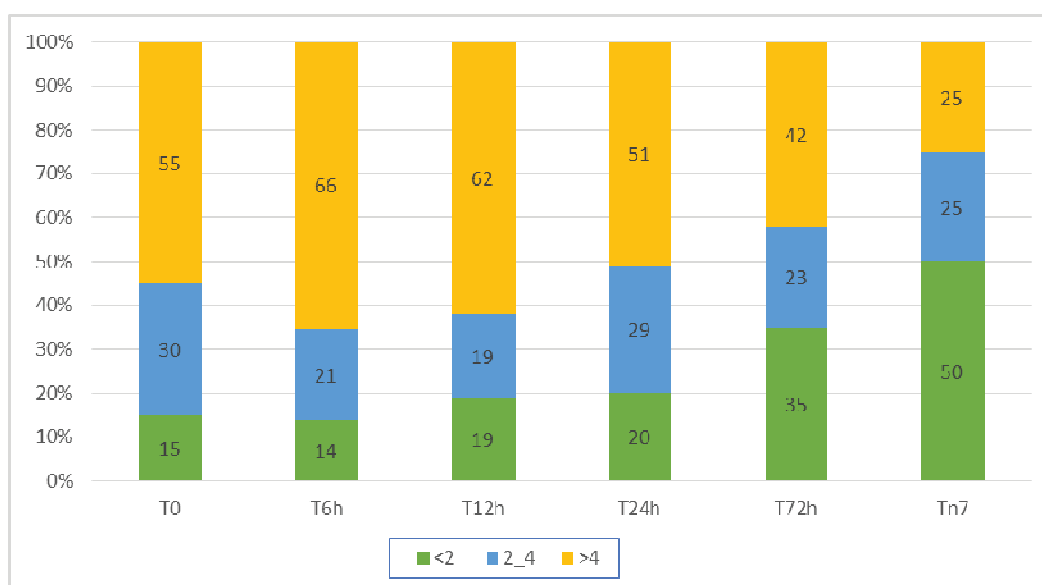
Tỷ lệ tử vong của nhóm nghiên cứu chiếm 72,5% (29 BN).

Tại thời điểm chẩn đoán (T₀) giá trị lactate trung bình là 7,02 (mmol/L) và điểm SOFA trung bình là 10,9.



Biểu đồ 1. Nồng độ lactate máu và điểm SOFA theo thời gian.

Nồng độ lactate máu cao nhất tại thời điểm chẩn đoán xác định (T₀) rồi giảm dần ở các thời điểm nghiên cứu tiếp theo. Điểm SOFA cao nhất tại thời điểm T₂ và không thấy có sự khác biệt với những thời điểm tiếp theo.



Biểu đồ 2. Tỷ lệ BN ở các mức nồng độ lactate máu theo mốc thời gian.

Tỷ lệ BN nồng độ lactate > 4 mmol/L là cao nhất, tiếp theo là nhóm lactate 2 - 4 mmol/L và thấp nhất mức nồng độ lactate < 2 mmol/L.

Tỷ lệ BN có mức nồng độ lactate > 4 mmol/L giảm dần qua các thời điểm nghiên cứu.

Bảng 2. Giá trị lactate máu của nhóm sống và tử vong ở các thời điểm nghiên cứu.

Thời điểm	Nồng độ lactate ($\bar{x} \pm SD$ (mmol/L))		p
	Sống (n = 11)	Tử vong (n = 29)	
T ₀ (n = 40)	3,35 ± 2,05	7,39 ± 4,82	< 0,05
T ₁ (n = 29)	3,34 ± 2,49	8,10 ± 4,74	< 0,05
T ₂ (n = 26)	2,86 ± 2,54	7,76 ± 5,47	< 0,05
T ₃ (n = 35)	2,60 ± 1,89	7,30 ± 5,55	< 0,05
T ₄ (n = 26)	2,33 ± 1,77	6,17 ± 5,12	< 0,05
T ₅ (n = 8)	1,08 ± 0,20	3,75 ± 1,29	< 0,05

Nhóm BN sống nồng độ lactate máu tăng ngay từ đầu tại thời điểm được chẩn đoán (T₀) và giảm dần ở các thời điểm nghiên cứu tiếp theo.

Nhóm BN tử vong nồng độ lactate tăng ngay tại thời điểm được chẩn đoán và cao nhất tại thời điểm 6 giờ sau chẩn đoán rồi giảm dần ở các thời điểm nghiên cứu tiếp theo.

Nồng độ lactate máu của nhóm BN tử vong cao hơn nhóm BN sống, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở tất cả thời điểm nghiên cứu.

Bảng 3. Thay đổi nồng độ lactate theo nhóm sống và tử vong tại thời điểm T_0 .

Lactate (mmol/L)	BN sống (n = 11)		BN tử vong (n = 29)		P
	$\bar{X} \pm SD$	n	$\bar{X} \pm SD$	n	
< 2	1,55 ± 0,40	4	0,85 ± 0,80	2	> 0,05
2 - 4	2,40 ± 0,20	4	3,00 ± 0,70	8	< 0,05
> 4	6,90 ± 1,80	3	9,90 ± 4,00	19	< 0,05

Tại thời điểm T_0 nồng độ lactate máu ở khoảng từ 2 - 4 và > 4 của nhóm tử vong cao hơn nhóm sống có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt giữa nhóm sống và nhóm tử vong ở mức lactate máu < 2 ($p > 0,05$).

BÀN LUẬN

1. Thay đổi nồng độ lactate máu ở BN suy đa tạng và tỷ lệ BN theo mức độ lactate máu tại các thời điểm nghiên cứu

Nghiên cứu nồng độ lactate máu động mạch của 40 BN suy đa tạng cho thấy nồng độ tăng cao tại tất cả các thời điểm và đạt cao nhất tại thời điểm chẩn đoán xác định (T_0) rồi giảm dần ở các thời điểm nghiên cứu tiếp theo (*Biểu đồ 1*). Ở nhóm BN sống, nồng độ lactate máu tăng ngay từ đầu tại thời điểm được chẩn đoán (T_0) và giảm dần ở

các thời điểm nghiên cứu tiếp theo. Trong khi ở nhóm BN tử vong nồng độ lactate tăng ngay tại thời điểm được chẩn đoán và cao nhất tại thời điểm 6 giờ sau chẩn đoán rồi giảm dần ở các thời điểm nghiên cứu tiếp theo. Nồng độ lactate máu của nhóm BN tử vong cao hơn nhóm BN sống, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) ở tất cả thời điểm nghiên cứu. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với nghiên cứu của Nguyễn Thành Nam (2006), với giá trị lactate máu ở nhóm tử vong cao hơn so với nhóm sống tại thời điểm lúc vào viện, sau 12 giờ, 24 giờ, sự khác biệt

có ý nghĩa thống kê [6]. Tương tự nghiên cứu của Yusuke Hayashi và CS, nồng độ lactate có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm sống và nhóm tử vong [7]. Như vậy, có thể thấy ngay từ khi được chẩn đoán xác định suy đa tạng thì nhóm tử vong đã có nồng độ lactate cao hơn nhóm sống, cho nên những BN có nồng độ lactate cao ngay từ đầu thì khả năng tử vong sẽ lớn hơn.

Tỷ lệ BN có nồng độ lactate > 4 mmol/L là cao nhất, tiếp theo là nhóm có nồng độ lactate 2 - 4 mmol/L và thấp nhất là nhóm có nồng độ lactate < 2 mmol/L. Tỷ lệ BN có nồng độ lactate < 2 mmol/L tăng dần trong khi tỷ lệ BN có nồng độ lactate > 4 mmol/L giảm dần qua các thời điểm nghiên cứu (Biểu đồ 2). Sự thay đổi về tỷ lệ BN theo nồng độ lactate này có thể do hiệu quả được điều trị hồi sức tích cực, dẫn đến giảm dần nồng độ lactate của BN ở những ngày sau. Theo kết quả nghiên cứu của Trương Dương Tiến [8] tại thời điểm sau 18 giờ điều trị, 31 BN có nồng độ lactate máu ≥ 4 mmol/L, nhưng chỉ 24 BN tử vong (77,24%); sau 6 giờ (sau 24 giờ nhập HSCC), có 58 BN ở ngưỡng nồng độ lactate máu ≥ 2 mmol/L và 37 BN tử vong (63,79%).

2. Sự thay đổi nồng độ lactate liên quan đến tỷ lệ tử vong

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có sự liên quan giữa nồng độ lactate với điểm SOFA, nồng độ lactate cao hơn ở những BN có điểm SOFA cao hơn (Biểu đồ 1). Thực tế lâm sàng, đánh giá thay đổi của nồng độ lactate máu cũng có thể dự đoán được điểm SOFA sớm, nó gián tiếp hỗ trợ cho việc định hướng sớm trong điều trị BN nặng để ngăn ngừa suy nội tạng. Kết quả của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu các yếu tố gây tử vong ở 1022 BN sốc nhiễm khuẩn có nồng độ lactate thấp của Dong Hyun Oh và CS, kết luận BN thuộc nhóm nồng độ lactate cao cũng có điểm SOFA cao hơn so với nhóm có nồng độ lactate thấp [9]. Thang điểm SOFA có giá trị tiên lượng tử vong với độ tin cậy rất cao.

Tại thời điểm chẩn đoán (T_0) nồng độ lactate máu ở khoảng từ 2 - 4 và > 4 của nhóm tử vong cao hơn nhóm sống có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$), trong khi nồng độ lactate máu ở mức < 2 không có sự khác biệt giữa nhóm sống và nhóm tử vong ($p > 0,05$). Điều này phù hợp khi so sánh với nồng độ lactate máu trung bình của 2 nhóm tại thời điểm chẩn đoán, cả 2 đều có nồng độ lactate máu nằm ở mức cao (nhóm sống: $3,34 \pm 2,49$ mmol/L và nhóm tử vong: $7,39 \pm 4,82$ mmol/L) (Bảng 3).

KẾT LUẬN

Nghiên cứu 40 BN suy đa tạng điều trị tại khoa Hồi sức Nội, Bệnh viện Quân y 103, từ 01/2022 - 3/2023, chúng tôi rút ra kết luận: Nồng độ lactate máu tăng cao ngay tại thời điểm chẩn đoán suy đa tạng, tiếp tục tăng cao nhất sau 6 giờ ở nhóm BN tử vong và có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm tử vong so với nhóm sống ($p < 0,05$) ở tất cả các thời điểm nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Vũ Thế Hồng, Vũ Văn Đính, Vũ Minh Đức. Bước đầu nghiên cứu hội chứng suy sụp đa phủ tạng tại khoa điều trị tích cực bệnh viện Bạch Mai. *Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học Cấp cứu - Hồi sức - Chống độc 1998-2011*. 2011; 167-176.

2. Trần Minh Tuấn. Nghiên cứu tình hình suy đa tạng tại khoa điều trị tích cực, Bệnh viện Bạch Mai. *Luận văn tốt nghiệp bác sĩ nội trú khóa 27*. Trường đại học Y Hà Nội. 2006.

3. Pettila V, Melot C, Ferreira FL et al. Sequential assessment of multiple organ dysfunction as a predictor of outcome. *JAMA*. 2002; 287(6): 713-7146.

4. Sauaia Angela, Moore Frederick, Moore Ernest.E, Lezotte Dennis. Early risk factors for postinjury multiple organ failure. *World J. Surg.* 1996; 20:392-400.

5. George M.M “Multiple organ system failure: Clinical expression pathogenesis, and therapy”. *Principles of critical care*. McGRAW-HILL. 1998; 221-248.

6. Nguyễn Thành Nam. Nghiên cứu giá trị tiên lượng của lactate máu ở BN sốc nhiễm khuẩn tại bệnh viện nhi trung ương. *Luận văn Thạc sỹ y học*. Trường đại học Y Hà Nội. 2006.

7. Hayashi Y, et al. Lactate indices as predictors of in-hospital mortality or 90-day survival after admission to an intensive care unit in unselected critically ill patients. *PLoS One*. 2020; 15(3), e0229135.

8. Trương Dương Tiến, “Vai trò độ bão hòa oxy máu tĩnh mạch trung tâm và độ thanh thải lactate máu động mạch trong tiên lượng nhiễm khuẩn huyết và sốc nhiễm khuẩn”. *Luận văn Tiến sỹ*. Đại học y dược TP. Hồ Chí Minh. 2018.

9. Oh D H., et al. “Risk factors for mortality in patients with low lactate level and septic shock”. *J Microbiol Immunol Infect.* 2019; 52(3): 418-425.

THẨM ĐỊNH NGOẠI CÁC MÔ HÌNH DƯỢC ĐỘNG HỌC QUẦN THỂ
CỦA TACROLIMUS TRÊN BỆNH NHÂN GHEP THẬN
TẠI BỆNH VIỆN QUÂN Y 103

Nguyễn Thị Vân Anh¹, Lê Bá Hải², Nguyễn Thị Liên Hương^{2*}
Lê Việt Thắng³, Vũ Dương Anh Minh²

Tóm tắt

Mục tiêu: Sàng lọc và lựa chọn mô hình dược động học quần thể (PopPK) của Tacrolimus (Tac) phù hợp với quần thể bệnh nhân (BN) ghép thận tại Bệnh viện Quân y 103 (BVQY 103). **Phương pháp nghiên cứu:** Phương pháp thẩm định ngoại dược sử dụng để lựa chọn mô hình PopPK thích hợp. Dữ liệu thẩm định ngoại dược thu thập tiến cứu từ dữ liệu của 63 bệnh nhân (BN) ghép thận tại BVQY 103. Tất cả mô hình PopPK của Tac được tổng hợp hệ thống từ cơ sở dữ liệu Pubmed và Scopus. Mô hình được lựa chọn cho thẩm định ngoại là mô hình có chứa các yếu tố đồng ảnh hưởng có trên bộ dữ liệu BN của chúng tôi. Trung bình giá trị tuyệt đối của sai số dự đoán (MAPE), sai số dự đoán trung bình (MPE), và biểu đồ GOF được sử dụng để đánh giá tính phù hợp của các mô hình PopPK. **Kết quả:** Có 6 mô hình được lựa chọn cho thẩm định ngoại, trong đó mô hình của Zhu (2018) cho khả năng dự báo tốt với MAPE = 29,89%; MPE = -0,48. Biểu đồ GOF cũng cho thấy mô hình này có kết quả dự báo tốt nhất khi đường xu hướng các điểm dự báo bám sát với đường chuẩn ($y = x$). **Kết luận:** Mô hình của Zhu cho phép dự đoán tốt nồng độ đáy của Tac trên quần thể BN ghép thận tại BVQY 103 và có thể được sử dụng trong hỗ trợ tính liều của BN ghép thận.

Từ khóa: Ghép thận; Tacrolimus; Mô hình dược động học quần thể; Thẩm định ngoại.

¹Khoa Dược, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Bộ môn Dược lâm sàng, Khoa Dược lý - Dược lâm sàng, Đại học Dược Hà Nội

³Khoa Thận - Lọc máu, Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Liên Hương (huongntl@hup.edu.vn)

Ngày nhận bài: 29/3/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.335>

EXTERNAL EVALUATION OF TACROLIMUS POPULATION PHARMACOKINETIC MODELS IN ADULT KIDNEY TRANSPLANT RECIPIENTS AT MILITARY HOSPITAL 103

Abstract

Objectives: To screen and select an appropriate PopPK model in Vietnam kidney transplant recipients at Military Hospital 103. **Methods:** External evaluation was used to choose the proper model for our patients. The external dataset was obtained prospectively from 63 adult kidney transplant recipients treated at Military Hospital 103. All published tacrolimus PopPK models were systematically screened from PubMed and Scopus databases and were selected with covariate resemblance to our patient's characteristics. Mean absolute prediction error (MAPE), mean prediction error (MPE), and goodness of fit plots were used to identify the appropriate model. **Results:** There were six models selected, among them, the model of Zhu et al. (2018) had a good predictive ability with MAPE = 29.89, MPE = -0.48. The GOF plot of this model also revealed similar results when the trend line between the predicted and observed tacrolimus concentrations was quite close to the standard curve ($y = x$). **Conclusion:** The Zhu's model allowed good forecasting of tacrolimus trough concentrations in kidney transplant recipients at Military Hospital 103 and may support physicians in Tac dose adjustment along with clinical practice.

Keywords: Kidney transplantation; Tacrolimus; Population pharmacokinetic model; External evaluation.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Tacrolimus (Tac) là thuốc nồng cốt trong phác đồ ức chế miễn dịch của BN ghép thận. Thuốc có khoảng điều trị hẹp và có sự dao động lớn về dược động học giữa các cá thể và trong mỗi cá thể. Do đó, việc theo dõi trị liệu Tac (TDM) được coi là bắt buộc để duy trì hiệu quả và giảm thiểu tác dụng không mong muốn của thuốc. Hiện nay, ở hầu hết các trung tâm ghép tạng, TDM

được thực hiện dựa vào theo dõi nồng độ đáy (C_0) của Tac. Tuy nhiên, việc điều chỉnh liều để đạt C_0 mong muốn còn gặp khó khăn đặc biệt là giai đoạn sớm sau ghép khi nồng độ thuốc dao động khá lớn. Trong bối cảnh đó, mô hình PopPK với các thông tin về yếu tố đồng ảnh hưởng có thể giúp dự đoán thông số dược động học cá thể cũng như tính toán liều của BN ghép thận (1). Ứng dụng lâm sàng của mô hình

PopPK sẽ làm rút ngắn thời gian để đạt C_0 mong muốn và cải thiện hiệu quả lâm sàng. Cho đến nay, chưa có mô hình PopPK được xây dựng và phát triển trên quần thể BN ghép thận người Việt. Do đó nghiên cứu của chúng tôi được tiến hành nhằm: *Sàng lọc và lựa chọn mô hình PopPK của Tac phù hợp với quần thể BN ghép thận tại Bệnh viện Quân y 103.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

- Quần thể BN ghép thận tại BVQY 103:

Đối tượng nghiên cứu bao gồm 63 BN ghép thận được thu thập dữ liệu tiên cứu tại BVQY 103 từ tháng 01 - 7/2022.

**Tiêu chuẩn lựa chọn*: BN ghép thận người Việt ≥ 18 tuổi, BN sử dụng Tac và đồng ý tham gia nghiên cứu.

**Tiêu chuẩn loại trừ*: BN ghép thận nhiều lần.

- Các mô hình PopPK phù hợp với quần thể BN ghép thận tại BVQY 103

Tất cả mô hình PopPK của Tac trên BN ghép thận người trưởng thành được tổng hợp hệ thống từ cơ sở dữ liệu Pubmed và Scopus. Sau đó, tiếp tục lựa chọn mô hình có chứa các yếu tố đồng ảnh hưởng có trên bộ dữ liệu BN nghiên cứu.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu*: Nghiên cứu tiên cứu theo dõi dọc. Phương pháp thăm định ngoại các mô hình PopPK của Tac trên bộ dữ liệu của 63 BN ghép thận tại BVQY 103.

* *Cỡ mẫu và chọn mẫu*: Lấy mẫu thuận tiện.

* *Công cụ nghiên cứu và kỹ thuật thu thập thông tin*: Gồm các bước như sau:

- Bước 1: Thu thập danh sách BN ghép thận tại Trung tâm Ghép tạng, BVQY 103.

- Bước 2: Sàng lọc BN ghép thận theo tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ.

- Bước 3: Thu thập thông tin của BN ghép thận. Tiến hành thu thập dữ liệu về đặc điểm của quần thể BN ghép thận tại BVQY 103. Các thông tin cần thu thập bao gồm tuổi, giới tính, cân nặng, số ngày theo dõi sau ghép, Hct, kiểu gen CYP3A5.

- Bước 4: Sàng lọc các mô hình PopPK phù hợp với đặc điểm quần thể BN ghép thận tại BVQY 103 từ tổng quan hệ thống.

- Bước 5: Đánh giá tính phù hợp của mô hình PopPK trên bộ dữ liệu BN ghép thận tại BVQY 103 dựa trên 3 tiêu chí: Trung bình giá trị tuyệt đối của sai số dự đoán (MAPE), sai số dự đoán trung bình (MPE) và biểu đồ GOF biểu diễn mối tương quan giữa

nồng độ quan sát - nồng độ dự đoán. Khả năng dự báo của mô hình được phân loại dựa vào MAPE: Dự báo chấp nhận được ($MAPE < 50\%$), dự báo tốt ($10\% < MAPE < 20\%$), và rất tốt ($MAPE < 10\%$).

* *Phân tích dữ liệu:* Phần mềm MONOLIX2020R1 được sử dụng để dự đoán nồng độ. Giá trị dự báo bởi mô hình theo tiếp cận A priori và tiếp

cận Bayesian được sử dụng để đánh giá hiệu suất dự báo của các mô hình PopPK. Dữ liệu thu được từ phần mềm MONOLIX2020R1 sẽ được sử dụng để tính toán giá trị MPE, MAPE thông qua phần mềm Microsoft Excel.

3. Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu này đã được thông qua Hội đồng Đạo đức của BVQY 103 ngày 25/01/2022, số 04/CNChT - HĐĐĐ.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

* *Đặc điểm quần thể BN ghép thận tại BVQY 103:*

Trong khoảng thời gian từ tháng 01/2022 - 7/2022 tại Khoa Thận - Lọc máu, BVQY 103 đã ghi nhận 63 BN ghép thận trưởng thành người Việt đủ tiêu chuẩn lựa chọn được đưa vào nghiên cứu. Đặc điểm của 63 BN được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm của BN ghép thận tại BVQY 103.

Đặc điểm	Số lượng (n = 63)
Giới tính, n (%):	
Nam	45 (71,4%)
Nữ	18 (2,6%)
Tuổi ⁺	39,2 ± 10,4
Cân nặng (kg) ⁺	55,5 ± 8,4
Hematocrit (%) ⁺	32,2 ± 5,2
Thời gian hậu phẫu (ngày) [#]	41 (12 - 58)
Kiểu gen CYP3A5, n (%):	
1*1/1*1*3	25 (39,7%)
*3*3	38 (60,3%)
Tổng liều tacrolimus/ngày (mg) [#]	6,0 (5,0 - 6,0)
Nồng độ đáy tacrolimus (ng/mL) ⁺	6,7 ± 2,3
Số điểm nồng độ đáy	867
Số điểm nồng độ đáy trung bình/BN	13,8

Chú thích: ⁺ giá trị trung bình ($\pm SD$); [#] giá trị trung vị (tứ phân vị); CYP3A5*1*1/1*1*3 là kiểu gen biểu hiện hoạt tính của CYP3A5; CYP3A5*3*3 là kiểu gen không biểu hiện hoạt tính của CYP3A5.

Đa số BN là nam giới có tuổi trung bình gần 40 tuổi. POD trung vị là 41 ngày. Kiểu gen không biểu hiện hoạt tính CYP3A5*3*3 chiếm hơn một nửa số BN. Tất cả BN đều đang sử dụng Tac dạng giải phóng nhanh.

* Đặc điểm mô hình PopPk trên BN ghép thận:

Tiến hành tổng quan hệ thống trên hai cơ sở dữ liệu là Pubmed và Scopus đến tháng 5/2021, ghi nhận 44 nghiên cứu PopPK của Tac trên BN ghép thận trưởng thành gồm tuổi, cân nặng, nồng độ hematocrit (Hct), kiểu gen CYP3A5. Do đó, từ 44 mô hình PopPK của Tac trên BN ghép thận trưởng thành, chúng tôi loại trừ 33 mô hình không có yếu tố gen CYP3A5, 5 mô hình có các yếu tố đồng ảnh hưởng không có trên bộ dữ liệu BN hiện có và 1 nghiên cứu không có dữ liệu mô hình đầy đủ. Cuối cùng, nhóm nghiên cứu lựa chọn 6 hình PopPK phù hợp với đặc điểm của quần thể BN mới ghép tại BVQY 103. Đặc điểm của 6 mô hình PopPK đã được sàng lọc được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm 6 mô hình PopPK được sàng lọc phù hợp với quần thể BN ghép

Nghiên cứu	Mô hình cấu trúc	Mô hình các yếu tố ảnh hưởng	BSV (%)	Sai số dự đoán (RUV)
Han và CS. 2013 (2)	1 ngăn Hấp thu và thải trừ bậc 1	$C_i/F \text{ (L/h)} = \frac{22,9 \times e^{(0,17(CYP3A5=1*3)+0,0525(CYP3A5=3*3))} \times e^{(0,297(LowHct)+0,117(NormalHct))} \times POD^{-0,00762}}{K_a = 4,5 \text{ h}^{-1}}$	49,8	Sai số tỷ lệ: 40,0%
		$V/F \text{ (L)} = 716 \times e^{0,355 \times \frac{WT \cdot KG}{59,025}}$	48,7	
Zhang và CS. 2017 (3)	1 ngăn Hấp thu và thải trừ bậc 1	$C_i/F \text{ (L/h)} = \frac{22,4 \times e^{(-0,0526 \times OD^3 / POD)} \times e^{-0,32 \times CYP3A5}}{(39,1/HCT)^{0,548}}$	18,8	Sai số cấp số cộng: 2,33 ng/mL
		$V/F \text{ (L)} = 179 \times POD^{0,842}$	43,7	

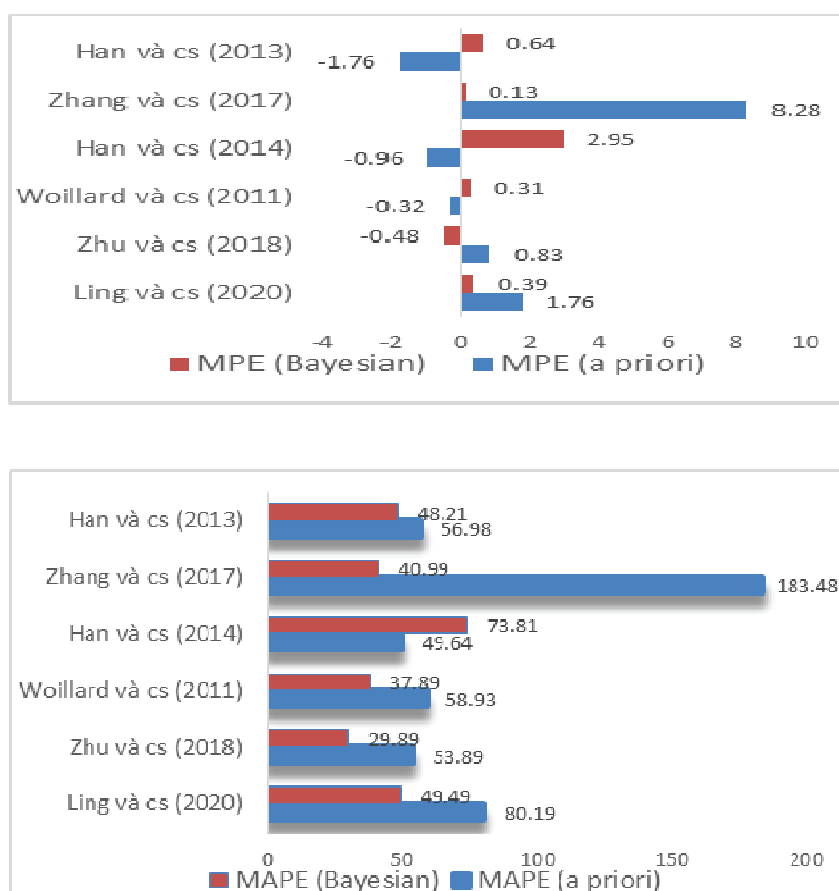
Nghiên cứu	Mô hình cấu trúc	Mô hình các yếu tố ảnh hưởng	BSV (%)	Sai số dự đoán (RUV)	
Han và CS. 2014 (4)	1 ngăn Hấp thu và thải trừ bậc 1 Có thời gian trễ	$Ka = 3,43$ $Tlag = 0,25$ $Cl/F (L/h) = 21,9 \times (1 + 0,0119(POD - 9,6)) \times 0,816^{CYP}$. CYP = 1 nếu CYP3A5*3*3, còn lại = 0 $V/F = 205$	40,9 59,1	Sai số tỷ lệ: 5,4%	
		$Ktr = 5,11 h^{-1}$ $Mtt = 0,78 h$ $Ka = 7,31 h^{-1}$	24 32,6		
Woillard và CS. 2011 (5)	2 ngăn Thời gian trễ và hấp thu Erlang thải trừ bậc 1	$CL/F (L/h) = 21,2 \times [(HCT/35)^{-1,14}] \times (2^{CYP3A5})$. CYP3A5 = 0 nếu BN không biểu hiện kiểu hình của CYP3A5, còn lại CYP3A5 = 1 $V1/F = 140,94 (L)$ $Q/F (L/h) = 79$ $V2/F (L) = 271$	28 31 54 60	Sai số cấp số cộng: 0,71 ng/mL Sai số tỷ lệ: 11,3%	
			$Ka = 3,089 h^{-1}$		28,8
			$CL/F = 27,2 \times [(WT/70)^{0,75}] \times [(HCT/0,35)^{-0,501}] \times [(POD/180)^{0,0306}] \times CYP3A5 (L/h)$ CYP3A5 = 0,753 nếu BN không biểu hiện CYP3A5, còn lại CYP3A5 = 1 $V/F = 240 L (cố định)$		28,8
Ling và CS. 2020 (7)	1 ngăn Hấp thu và thải trừ bậc 1	$Cl/F (L/h) = 23,3 \times (HCT/0,309)^{-0,445} \times [(0,897, nếu POD > 10) or (1, nếu POD \leq 10)] \times 0,657^{CYP}$ CYP3A5 = 0 nếu BN không biểu hiện kiểu hình của CYP3A5, còn lại CYP3A5 = 1 $V/F (L) = 240$	21,9	Sai số cấp số cộng: 1,40 ng/mL Sai số tỷ lệ: 24,4%	

Cl/F: Độ thanh thải đường uống; BSV: Biến thiên giữa các cá thể; Hct: Hematocrit, GOF: Goodness of fit; Ka: Hằng số tốc độ hấp thu; Ktr: Transit rate (tốc độ hấp thu); Mtt: Mean transit time (thời gian hấp thu trung bình); POD: Ngày hậu phẫu; Q/F: Thanh thải giữa các khoang đường uống; V/F: Thể tích phân bố đường uống; V1/F: Thể tích phân bố ngăn trung tâm đường uống; V2/F: Thể tích phân bố ngăn ngoại vi đường uống; WT: Cân nặng.

Các mô hình được lựa chọn hầu hết là mô hình một ngăn, hấp thu và thải trừ bậc một, chỉ có mô hình của Woillard và CS (2011) là mô hình hai ngăn với thời gian trễ và hấp thu Erlang, thải trừ bậc một. Các yếu tố ảnh hưởng được đề cập trong các mô hình PopPK cuối cùng bao gồm POD, Hct, cân nặng và kiểu gen CYP3A5. Sai số dự đoán (RUV) được mô tả với hàm tỷ lệ ở 2 nghiên cứu, hàm cộng ở 1 nghiên cứu và hàm tỷ lệ kết hợp với hàm cộng ở 3 nghiên cứu. Cả 6 mô hình đều cho thấy mức độ dao động thanh thải Tac (CI/F) giữa các cá thể cao (BSV), 5/6 mô hình có BSV > 20% của CI/F.

2. Đánh giá hiệu suất dự đoán của các mô hình PopPK trên quần thể BN ghép thận tại Bệnh viện Quân y 103

* *Hiệu suất dự đoán nồng độ của các mô hình dựa trên độ sai lệch (bias) và độ chính xác (precision):*



Hình 1. Sự khác biệt giá trị MPE/MAPE khi sử dụng tiếp cận A priori và tiếp cận Bayesian

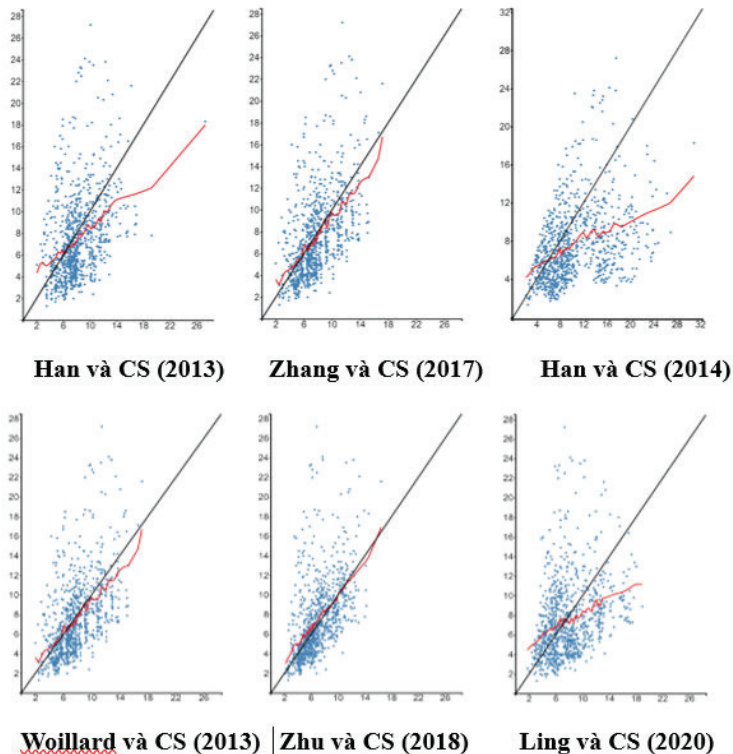
Khi sử dụng tiếp cận A priori, các mô hình của Woillard và CS (2011), mô hình của Han và CS (2014) và Han và CS (2013) có xu hướng dự đoán nồng độ thấp hơn so với nồng độ quan sát được với MPE lần lượt là -0,32 và -0,96 và -1,76. Các mô hình còn lại đều cho kết quả xu hướng dự đoán cao hơn so với giá trị quan sát. Với tiếp cận Bayesian, kết quả dự báo của hầu hết các mô hình PopPK đã được cải thiện bằng việc giảm các giá trị MPE trừ mô hình của Han và CS (2014).

Với MAPE, trong tiếp cận A priori, các mô hình đều cho kết quả dự báo không tốt với MAPE cao

(49,64% - 183,48%). Chỉ có mô hình của Han và CS (2014) là cho kết quả dự đoán chấp nhận được với $MAPE < 50\%$. Với tiếp cận Bayesian, giá trị MAPE thấp hơn tương ứng với khả năng dự đoán của mô hình PopPK đã cải thiện đáng kể. Mô hình của Zhu và CS (2018) cho kết quả dự đoán tốt với MAPE là 29,89%.

** Hiệu suất dự đoán thông qua biểu đồ GOF:*

Mối tương quan giữa nồng độ quan sát - nồng độ dự đoán (GOF) với tiếp cận A priori và tiếp cận Bayesian lần lượt được thể hiện trong hình 2 dưới đây.



Hình 2. Biểu đồ GOF thông qua tiếp cận Bayesian.

Khi sử dụng tiếp cận Bayesian, đường xu hướng (đường màu đỏ) của các điểm trên biểu đồ dự đoán bởi thông số cá thể gần với đường thẳng $y = x$ (đường màu đen) và bám sát với đường chuẩn $y = x$. Có thể thấy, mô hình của Woillard và CS (2011), Zhu và CS (2018) cho kết quả khớp tương đối tốt. Trong đó, mô hình của Zhu và CS (2018) cho thấy các điểm dự đoán bám sát đường chuẩn $y = x$ hơn. Các mô hình còn lại cho thấy mối tương quan kém giữa nồng độ dự đoán và nồng độ quan sát khi đường xu hướng các điểm dự đoán lệch khá nhiều so với đường chuẩn $y = x$.

Như vậy, từ kết quả thẩm định mô hình của Zhu (2018) với giá trị MAPE = 29,89%; MPE = -0,48 và biểu đồ GOF, chúng tôi lựa chọn mô hình của Zhu và CS (2018) là mô hình phù hợp với quần thể BN mới ghép thận tại BVQY 103.

BÀN LUẬN

1. Các mô hình PopPK phù hợp với quần thể BN ghép thận tại Bệnh viện Quân y 103

Cho đến nay, có nhiều mô hình PopPK của Tac đã được xây dựng trên quần thể BN ghép thận. Tuy nhiên, các mô hình này đều được xây dựng dựa vào từng trung tâm, do đó khả năng ngoại suy của các mô hình này trên

quần thể BN khác là chưa chắc chắn. Từ đó, việc đánh giá khả năng dự báo của các mô hình PopPK là cần thiết trước khi ứng dụng các mô hình này vào thực hành lâm sàng. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là nghiên cứu đầu tiên tiến hành thẩm định khả năng dự báo của các mô hình.

Trong 6 mô hình PopPK đã được lựa chọn, các yếu tố đồng ảnh hưởng được ghi nhận gồm kiểu gen CYP3A5, Hct, POD và cân nặng của BN. Kiểu gen CYP3A5 đã được ghi nhận là yếu tố ảnh hưởng tới C₀ của Tac và đã được đưa vào hướng dẫn lựa chọn liều ban đầu của Tac (8). Đồng thuận quốc tế về TDM của Tac cũng đã khuyến cáo tích hợp kiểu gen của CYP3A5 vào các mô hình PopPK để tối ưu hóa liều của Tac. Do đó, chúng tôi đã lựa chọn các mô hình có tích hợp kiểu gen CYP3A5 là yếu tố đồng ảnh hưởng. Bên cạnh CYP3A5, số ngày sau ghép cũng là một yếu tố dự đoán được đưa vào trong 5/6 mô hình. Có sự không thống nhất về tác động của POD tới thanh thải của Tac giữa các mô hình. Mô hình của Han và CS (2013) và mô hình của Ling và CS (2020) đồng thuận với nghiên cứu của Staatz và CS cho rằng thanh thải Tac giảm cùng với sự tăng của POD. Điều này được giải thích do tăng của Hct và albumin sau ghép thận cùng với sự hồi phục của

chức năng thận. Trong khi đó, mô hình Zhang và CS (2017), Han và CS (2014), Zhu và CS (2018) đều cho rằng thanh thải Tac tăng lên cùng với sự tăng của phức hồi nhu động ruột và chuyển hóa. Do đó, tác động của POD trên thanh thải Tac vẫn cần được nghiên cứu thêm trong tương lai. Tuy vậy nó vẫn được xem là một trong những hiệp biến quan trọng của mô hình dược động học quần thể Tac trên BN ghép thận.

Có nhiều nghiên cứu đã chỉ ra ảnh hưởng của Hct đối với độ thanh thải của Tac. Điều này được lý giải là do Tac liên kết chặt chẽ với hồng cầu, do đó Hct tăng lên sẽ giảm nồng độ của Tac trong huyết tương, dẫn tới giảm chuyển hóa hay thanh thải qua gan. Nghiên cứu của chúng tôi có 5/6 mô hình có yếu tố Hct là hiệp biến, khi Hct tăng ứng với thanh thải Tac giảm. Bên cạnh đó, mô hình của Han (2013), Zhu (2018) đều cho thấy cân nặng có ảnh hưởng đến dược động học của Tac. Cân nặng của BN có ảnh hưởng đến thể tích phân bố hoặc độ thanh thải của Tac.

2. Kết quả khả năng dự đoán của các mô hình POP PK được chọn

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đồng thuận với các nghiên cứu trước đây cho thấy các điểm nồng độ được

dự báo các mô hình dược động quần thể theo tiếp cận A priori cho kết quả dự báo không tốt. Đồng thời, nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra rằng, sử dụng tiếp cận Bayesian cải thiện khả năng dự đoán vượt trội hơn rất nhiều. Hai mô hình của Woillard và CS (2011), Zhu và CS (2018) cho kết quả dự báo tốt C₀ của Tac. Trong đó, mô hình của Zhu và cs (2018) cho thấy các điểm dự đoán bám sát đường chuẩn $y = x$ hơn. Vì vậy, mô hình của Zhu có thể được sử dụng để dự đoán C₀ của Tac.

3. Ưu điểm và hạn chế của nghiên cứu

Một trong những ưu điểm trong nghiên cứu của chúng tôi là phương pháp thẩm định ngoại được tiến hành trên cả mô hình PopPK một ngăn và hai ngăn. Hơn nữa, tất cả các mô hình đều tích hợp kiểu gen của CYP3A5 là một yếu tố đồng ảnh hưởng. Hai nghiên cứu thẩm định ngoại gần đây của Hu và Methaneethorn [9] hoặc là chỉ đánh giá trên mô hình PopPK một ngăn hoặc không nghiên cứu ảnh hưởng của CYP3A5 lên C₀ của Tac.

Nghiên cứu của chúng tôi cũng có một số điểm hạn chế. Thứ nhất, nghiên cứu không bao gồm một số yếu tố ảnh hưởng khác như CYP3A4. Tuy nhiên,

tỉ lệ đột biến của CYP3A4 trên quần thể người châu Á rất thấp, chỉ < 0,01% [10]. Do đó, chúng tôi không phân tích kiểu gen CYP3A4. Ngoài ra, xét nghiệm định lượng nồng độ Tac của chúng tôi khác với một số nghiên cứu. Tuy nhiên, Trung tâm Ghép tạng của chúng tôi sử dụng phương pháp miễn dịch vi tiểu phân hóa phát quang, đây là phương pháp được sử dụng phổ biến nhất hiện nay cho phân tích C0 của Tac.

KẾT LUẬN

Mô hình của Zhu cho phép dự đoán tốt nồng độ đáy của Tac trên quần thể BN ghép thận tại BVQY 103 và có thể được sử dụng cho việc hỗ trợ tính liều của BN ghép thận.

* *Lời cảm ơn:* Nhóm nghiên cứu chân thành cảm ơn các đội ngũ bác sỹ, điều dưỡng, kỹ thuật viên của BVQY 103, Học viện Quân y đã giúp đỡ chúng tôi trong quá trình thu thập dữ liệu nghiên cứu. Chúng tôi cũng chân thành cảm ơn các BN ghép thận đã đồng ý tham gia nghiên cứu. Chúng tôi cũng tuyên bố không có xung đột lợi ích từ kết quả nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Andrews LM, Riva N, de Winter BC, Hesselink DA, de Wildt SN, Cransberg K, et al. Dosing algorithms

for initiation of immunosuppressive drugs in solid organ transplant recipients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2015; 11(6):921-36.

2. Han N, Yun HY, Hong JY, Kim IW, Ji E, Hong SH, et al. Prediction of the tacrolimus population pharmacokinetic parameters according to CYP3A5 genotype and clinical factors using NONMEM in adult kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013; 69(1):53-63.

3. Zhang HJ, Li DY, Zhu HJ, Fang Y, Liu TS. Tacrolimus population pharmacokinetics according to CYP3A5 genotype and clinical factors in Chinese adult kidney transplant recipients. *J Clin Pharm Ther.* 2017; 42(4):425-32.

4. Han N, Ha S, Yun HY, Kim MG, Min SI, Ha J, et al. Population pharmacokinetic-pharmacogenetic model of tacrolimus in the early period after kidney transplantation. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2014; 114(5):400-6.

5. Woillard JB, de Winter BC, Kamar N, Marquet P, Rostaing L, Rousseau A. Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations-twice daily Prograf and once daily Advagraf. *Br J Clin Pharmacol.* 2011; 71(3):391-402.

6. Zhu W, Xue L, Peng H, Duan Z, Zheng X, Cao D, et al. Tacrolimus population pharmacokinetic models according to CYP3A5/CYP3A4/POR genotypes in Chinese Han renal transplant patients. 2018; 19(13): 1013-25.
7. Ling J, Dong LL, Yang XP, Qian Q, Jiang Y, Zou SL, et al. Effects of CYP3A5, ABCB1 and POR*28 polymorphisms on pharmacokinetics of tacrolimus in the early period after renal transplantation. *Xenobiotica*. 2020; 50(12):1501-9.
8. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical pharmacogenetics implementation consortium (cpic) guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2015; 98(1):19-24.
9. Methaneethorn J, Lohitnavy M, Onlamai K, Leelakanok N. Predictive performance of published tacrolimus population pharmacokinetic models in thai kidney transplant patients. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 2022; 47(1):105-16.
10. Brunet M, van Gelder T, Asberg A, Haufroid V, Hesselink DA, Langman L, et al. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus-personalized therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit*. 2019; 41(3):261-307.

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ PHẪU THUẬT NỘI SOI TÁI TẠO DÂY CHẰNG CHÉO SAU BẰNG MẢNH GHÉP GÂN MÁC DÀI TỰ THÂN

Nguyễn Tiến Thành^{1*}, Nguyễn Quốc Dũng¹, Hà Thu Hương¹

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá kết quả phẫu thuật nội soi tái tạo dây chằng chéo sau (DCCS) bằng mảnh ghép gân mạc dài tự thân. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang, theo dõi dọc kết hợp hồi cứu và tiền cứu trên 34 trường hợp tổn thương DCCS đơn thuần, được điều trị phẫu thuật tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Theo dõi, đánh giá kết quả trước và sau phẫu thuật tại thời điểm 6 tuần và 6 tháng theo các nghiệm pháp ngăn kéo sau, Lachman ngược, Godfrey và theo thang điểm Lysholm, và IKDC 2000. **Kết quả:** Sau phẫu thuật, 100% các trường hợp cải thiện cơ năng khớp gối và mức độ lỏng gối. Kết quả chung theo thang điểm Lysholm là $91,17 \pm 7,59$, tỷ lệ rất tốt và tốt theo IKDC đạt 97,1%. **Kết luận:** Tổn thương đứt DCCS ảnh hưởng tới chức năng khớp gối. Hình ảnh cộng hưởng từ có giá trị cao trong chẩn đoán. Phẫu thuật nội soi tái tạo DCCS sử dụng mảnh ghép gân mạc dài cho kết quả tốt, cần theo dõi và đánh giá kết quả với số lượng lớn hơn và thời gian dài hơn.

Từ khóa: Nội soi tái tạo dây chằng chéo sau; Gân mạc dài tự thân.

EVALUATION OF THE RESULTS OF ARTHROSCOPIC POSTERIOR CRUCIATE LIGAMENT RECONSTRUCTION USING AUTOLOGOUS PERONEUS LONGUS TENDON GRAFT

Abstract

Objects: To evaluate the results of arthroscopic posterior cruciate ligament (PCL) reconstruction using autologous peroneus longus tendon. **Methods:** A longitudinal, descriptive cross-sectional, retrospective and prospective study on 34 PCL rupture patients in 108 Military Central Hospital. Measure the knee instability according to with posterior drawer test, reverser Lachman test, Godfrey test and knee function and Lysholm score, IKDC 2000 score.

¹Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

*Tác giả liên hệ: Nguyễn Tiến Thành (tienthanh.hvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 26/3/2023

Ngày được chấp nhận đăng: 10/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.331>

Results: Postoperatively, 100% of patients improve knee function and knee instability. Overall results according to Lysholm score: 91.17 ± 7.59 ; excellent and good results: 97.1% according to IKDC 2000 score. **Conclusion:** Injury to the PCL affects the function of the knee. MRI is of great value in diagnosis. Arthroscopic PCL reconstruction with peroneus longus tendon gives a good result. However, more patients and longer follow-ups are needed.

Keywords: PCL reconstruction; Autologous peroneus longus tendon.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Dây chằng chéo sau, dây chằng chéo trước nằm ở trung tâm khớp gối, đảm bảo vững chắc theo chiều trước sau khi khớp gối chuyển động. Tổn thương DCCS gây ảnh hưởng tới chức năng khớp gối. Đối với các trường hợp tổn thương DCCS độ II, độ III, người bệnh trẻ, có nhu cầu vận động lớn, chỉ định phẫu thuật tái tạo DCCS được ưu tiên hơn điều trị bảo tồn. Tuy nhiên, kỹ thuật nội soi tái tạo DCCS khá phức tạp và nhiều nguy cơ tổn thương mạch máu và thần kinh so với kỹ thuật tái tạo dây chằng chéo trước.

Phẫu thuật để tái tạo DCCS nhằm phục hồi giải phẫu và chức năng của khớp gối đã được thực hiện tại nhiều cơ sở với các kỹ thuật khác nhau cho kết quả khả quan, cải thiện độ vững chắc và phục hồi chức năng khớp gối. Phẫu thuật liên tục được phát triển nhờ trang thiết bị và phương tiện cố định mảnh ghép. Đa dạng về chất liệu mảnh ghép cũng cho phép lựa chọn phù hợp trên từng người bệnh. Từ các mảnh ghép gân tự thân như mảnh ghép gân

bánh chè, gân tứ đầu, gân Hamstring hay gân mác dài, đến các mảnh ghép gân đồng loại, hoặc các mảnh ghép gân nhân tạo. Mảnh ghép gân mác dài tự thân là một lựa chọn phù hợp: có kích thước lớn hơn mảnh ghép gân Hamstring, kỹ thuật lấy mảnh ghép không phức tạp, đồng hóa tốt hơn mảnh ghép gân đồng loại hay gân nhân tạo.

Tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, từ tháng 01/2021 - 4/2022 đã phẫu thuật cho 34 trường hợp tổn thương DCCS độ II, độ III bằng mảnh ghép gân mác dài tự thân. Nghiên cứu này trình bày những kết quả nhằm: Đánh giá kết quả phẫu thuật tái tạo DCCS bằng mảnh ghép gân mác dài tự thân.

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

34 trường hợp có tổn thương DCCS khớp gối kèm hoặc không kèm tổn thương sụn chêm, không có tổn thương các dây chằng khác được phẫu thuật nội soi tái tạo DCCS sử dụng mảnh

ghép gân mạc dài tự thân gấp ba. Các trường hợp nghiên cứu được thực hiện từ tháng 01/2021 - 4/2022 tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

** Tiêu chuẩn lựa chọn:*

- Người bệnh từ 18 đến 55 tuổi có tổn thương dây chằng chéo sau đơn thuần độ III và độ II, đau và mất vững khớp.

- Người bệnh có hoặc không có tổn thương sụn chêm kèm theo dựa trên cộng hưởng từ và lâm sàng, đồng ý tham gia nghiên cứu.

** Tiêu chuẩn loại trừ:*

- Thoái hoá khớp gối nặng độ III, IV và nhiễm trùng da tại vết mổ

- Có bệnh lý tổn thương khớp cổ chân, bệnh lý tổn thương thần kinh mạc chung.

2. Phương pháp nghiên cứu

** Thiết kế nghiên cứu:*

- Nghiên cứu mô tả cắt ngang, theo dõi dọc, bao gồm cả hồi cứu 21 trường hợp và tiền cứu 13 trường hợp.

** Tiêu chí đánh giá:*

- Đánh giá lâm sàng kết quả gần và kết quả xa sau mổ bằng các nghiệm pháp ngăn kéo sau, Lachman ngược, Godfrey, đánh giá chức năng khớp gối theo thang điểm IKDC với bốn mức độ (A: bình thường, B: gần bình thường, C: không bình thường, D: rất không bình thường) dựa vào các chỉ tiêu:

Tràn dịch khớp, biên độ vận động, khám khớp gối, tiếng lạo xạo, thoái hóa khớp, nhảy một chân; đánh giá theo thang điểm Lysholm với bốn mức độ (rất tốt: 91 - 100 điểm, tốt: 77 - 90 điểm, trung bình: 68 - 76 điểm, kém: < 68 điểm) trước phẫu thuật và thời điểm sau phẫu thuật 6 tuần và 6 tháng cho đến lần kiểm tra cuối cùng. Người bệnh được thăm khám lâm sàng và cận lâm sàng, lập hồ sơ nghiên cứu.

** Phương pháp tiến hành:*

- Thống kê đặc điểm mảnh ghép dây chằng.

- Phương pháp phẫu thuật tạo hình DCCS khớp gối qua nội soi bằng phương pháp All inside, với ba đường rạch da (trước ngoài, trước trong và sau trong), sử dụng mảnh ghép gân mạc dài tự thân gấp ba theo quy trình phẫu thuật gồm bốn bước:

+ Bước 1: Nội soi kiểm tra, xử trí các tổn thương phối hợp

+ Bước 2: Lấy mảnh ghép gân mạc dài tự thân, cùng bên. Rạch da 2 - 3 cm dọc ngay sau xương mạc và trên đỉnh mắt cá ngoài 2 cm, qua lớp cân bọc lộ được gân mạc dài ngay bên dưới. Tách gân mạc dài tại vị trí xa nhất có thể mà không làm tổn thương mạc giữ mạc trên. Bọc lộ và lấy gân mạc dài, dính đoạn ngoại vi vào gân mạc bên gần. Dùng dụng cụ lấy gân theo hướng về chỏm xương mạc.

+ Bước 3: Chuẩn bị mảnh ghép: Gập ba mảnh ghép. Đặt hai Tightrope và khâu bên hai đầu mảnh ghép một đoạn khoảng 2cm. Dùng khung căng để căng mảnh ghép với lực khoảng 5 kg (50 - 60 N) trong 10 phút. Đo đường kính, và chiều dài mảnh ghép để xác định kích thước khoan đường hầm đùi và đường hầm chày. Đo kích thước mảnh ghép.

+ Bước 4: Khoan đường hầm mâm chày và đùi theo đường kính mảnh ghép. Khoan đường hầm đùi theo hướng 1 giờ với gối phải và 11 giờ với gối trái, sâu 30 mm, đường kính tương ứng với đường kính mảnh ghép. Đưa camera qua lổ vào trước trong, ra khu sau để quan sát, dung kim xác định lổ vào sau trong, mở lổ vào sau trong. Đưa shaver và arthrocare qua lổ vào sau trong dọn điểm bám của DCCS ở sườn sau gai chày sau. Chuyển camera vào lổ sau trong, đưa định vị qua lổ trước trong, định vị tại điểm bám mâm chày của DCCS, khoan đường hầm chày bằng mũi khoan ngược với kích thước tương ứng với kích thước mảnh ghép. Kéo mảnh ghép vào đường hầm. Cố định mảnh ghép vào đường hầm ở lổ cầu đùi bằng vít treo Tightrope ở vị trí gập gối 800 . Kiểm tra lại bằng nghiệm pháp ngăn kéo sau. Kiểm tra lại kết quả cố định mảnh ghép, rửa sạch ổ khớp. Đóng các vết mổ. Băng vô trùng.

- Sau phẫu thuật, cố định đùi căng chân bằng nẹp khóa, tập luyện theo chương trình tập phục hồi chức năng, theo dõi và kiểm tra ở thời điểm sau phẫu thuật 6 tuần, 3 tháng và 6 tháng tới lần khám cuối cùng.

* *Xử lý số liệu:* Số liệu sau khi thu thập được xử lý bằng SPSS 25.0.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này đã được sự đồng ý của người bệnh và những việc làm trong nghiên cứu được giữ bí mật, không ảnh hưởng đến sức khỏe của người tham gia nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

1. Đặc điểm chung

Nam giới có tỷ lệ tổn thương DCCS cao hơn nữ giới chiếm 94,1% với tỷ lệ nam/nữ là 32/2.

Trong 34 trường hợp nghiên cứu, trẻ nhất là 19 tuổi, cao nhất là 48 tuổi, tuổi trung bình là $32,82 \pm 7,73$. Lứa tuổi tập trung trong nhóm 18 - 30 tuổi chiếm 44,1%, nhóm 31 - 42 tuổi chiếm 47,1%.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 100% các trường hợp nghiên cứu có triệu chứng lỏng khớp, trong đó 24 trường hợp (70,6%) thấy ảnh hưởng tới sinh hoạt hàng ngày, 26/34 trường hợp khám trước mổ có nghiệm pháp Lachman ngược dương tính độ III, 100% các trường hợp khám có nghiệm pháp ngăn kéo sau, trong đó ngăn kéo sau dương tính độ III chiếm 73,5%.

2. Đặc điểm mảnh ghép dây chằng

Tất cả các trường hợp nghiên cứu đều được sử dụng mảnh ghép gân mạc dài tự thân. 34/34 trường hợp lấy mảnh ghép ở một chân cùng bên tổn thương DCCS.

Đường kính mảnh ghép: Đường kính mảnh ghép gân mạc dài tự thân gấp 3 trong khoảng 8 - 9 mm. Đường kính trung bình của mảnh ghép này phía đầu trung tâm là $8,47 \pm 0,34$ mm và phía ngoại vi là $8,51 \pm 0,35$ mm.

Chiều dài mảnh ghép: Chiều dài mảnh ghép gân mạc dài tự thân chập 3 từ 80 - 90 mm. Chiều dài trung bình của mảnh ghép này là $85,29 \pm 3,71$ mm.

* Kết quả xa:

Đánh giá độ vững khớp gối trước và sau phẫu thuật 6 tháng theo nghiệm pháp ngăn kéo sau, nghiệm pháp Lachman ngược, và nghiệm pháp Godfrey.

Bảng 1. Nghiệm pháp ngăn kéo sau.

Nghiệm pháp ngăn kéo sau	Trước phẫu thuật (%)	Sau phẫu thuật (%)
Âm tính	0	61,8
Dương tính độ I	0	38,2
Dương tính độ II	26,5	0
Dương tính độ III	73,5	0

Sau phẫu thuật, 13 trường hợp có nghiệm pháp ngăn kéo sau độ I chiếm 38,2%. 61,8% trường hợp có nghiệm pháp ngăn kéo sau âm tính.

Mảnh ghép có chiều dài ngắn nhất là 80 mm, dài nhất là 90 mm.

3. Kết quả điều trị

* Kết quả gần:

Đánh giá kết quả gần sau phẫu thuật 6 tuần đầu tiên, không có trường hợp nào có tụ máu, tràn dịch khớp gối hay nhiễm khuẩn sau mổ. Tất cả các trường hợp cắt chỉ sau 14 ngày phẫu thuật, vết mổ khô.

Kết quả phục hồi chức năng trong 6 tuần sau phẫu thuật, hầu hết đạt chức năng về tầm vận động. Chỉ có 4/34 trường hợp hạn chế duỗi < 50 và 8/34 trường hợp hạn chế gấp < 150.

Tai biến: Trong 34 trường hợp không có trường hợp nào tổn thương mạch máu thần kinh.

Bảng 2. Nghiệm pháp Lachman ngược.

Nghiệm pháp Lachman ngược	Trước phẫu thuật (%)	Sau phẫu thuật (%)
Âm tính	23,5	76,5
Dương tính	76,5	23,5

Sau phẫu thuật, trường hợp có nghiệm pháp Lachman ngược âm tính đạt 76,5%.

Bảng 3. Nghiệm pháp Godfrey.

Nghiệm pháp Godfrey	Trước phẫu thuật (%)	Sau phẫu thuật (%)
Âm tính	14,7	88,2
Dương tính	85,3	11,8

Sau phẫu thuật, trường hợp có nghiệm pháp Godfrey âm tính đạt 88,2 %.

Đánh giá chức năng khớp gối theo thang điểm IKDC 2000, và Lysholm (n = 34).

Bảng 4. Thang điểm IKDC 2000.

IKDC	Trước phẫu thuật (%)	Sau phẫu thuật (%)	p
A (bình thường)	0	38,2	0,05
B (gần bình thường)	0	58,9	
C (không bình thường)	29,4	2,9	
D (rất không bình thường)	70,6	0	

Kết quả theo thang điểm IKDC 2000 cho thấy có sự cải thiện đáng kể chức năng khớp gối trước và sau phẫu thuật. Cải thiện này có ý nghĩa thống kê ($p \leq 0,05$). Kết quả sau phẫu thuật ở mức rất tốt 38,2% và tốt là 58,8%.

Bảng 5. Thang điểm Lysholm.

Thang điểm Lysholm	Trước phẫu thuật (%)	Sau phẫu thuật (%)	p
Rất tốt	0	44,1	
Tốt	2,9	41,2	
Trung bình	55,9	14,7	0,05
Kém	41,2	0	
Điểm trung bình	66,62 ± 9,46	91,17 ± 7,59	

Điểm Lysholm trung bình cải thiện rõ sau phẫu thuật là $91,17 \pm 7,59$, cao nhất là 100 điểm, thấp nhất là 70 điểm, tỷ lệ đạt tốt và rất tốt là 85,3%. Có 5 trường hợp trung bình (14,7%).

BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ tuổi trung bình của các trường hợp là $32,82 \pm 7,73$ (trường hợp trẻ nhất là 19 tuổi, cao nhất là 48 tuổi). Tuy vậy, phần lớn vẫn ở độ tuổi < 40. Đây là nhóm trong độ tuổi lao động và tích cực tham gia hoạt động thể thao, giao thông. Chỉ định nội soi tái tạo DCCS không chỉ dựa vào tuổi mà còn phụ thuộc vào mức độ, nhu cầu hoạt động của người bệnh. Những người bệnh lớn tuổi thường không có nhu cầu hoạt động cường độ cao, tình trạng thoái hoá khớp rõ. Chỉ định phẫu thuật nội soi tái tạo DCCS ở người lớn tuổi không được áp dụng rộng rãi.

Nam giới có tỷ lệ tổn thương DCCS cao hơn so với nữ, chiếm 94,1% với tỷ lệ nam/nữ là 32/2. Có thể thấy, nam

giới tham gia các hoạt động thể thao cường độ cao như bóng đá, tennis nhiều hơn nữ. Tỷ lệ này cao hơn so với kết quả nghiên cứu về tổn thương DCCS của các tác giả khác. Tuy nhiên, đây chỉ là số liệu nghiên cứu với cỡ mẫu $n = 34$ và trong một khoảng thời gian nhất định.

Tất cả các trường hợp nghiên cứu được đánh giá kết quả ở thời điểm 6 tuần, 3 tháng, và ít nhất 6 tháng sau phẫu thuật. Đánh giá độ vững của khớp gối trên lâm sàng dựa vào các nghiệm pháp ngăn kéo sau, Lachman ngược và nghiệm pháp Godfrey. Nghiệm pháp ngăn kéo sau đánh giá mức độ di lệch ra sau của mâm chày và có độ nhạy cao. Trong số 34 trường hợp được phẫu thuật, có 21 trường hợp (61,8%) nghiệm pháp ngăn kéo sau âm tính, 13

trường hợp dương tính độ I. Sau phẫu thuật, 26 trường hợp có nghiệm pháp Lachman ngược âm tính (76,5%) và 8 trường hợp có nghiệm pháp Lachman ngược dương tính (23,5%). 30 trường hợp có nghiệm pháp Godfrey âm tính (88,2%) và 4 trường hợp còn nghiệm pháp Godfrey dương tính (11,8%). Kết quả sau phẫu thuật đã được cải thiện rất nhiều. Phẫu thuật khó phục hồi hoàn toàn độ vững khớp gối, đa số người bệnh hài lòng, chấp nhận kết quả phẫu thuật, phần lớn có thể quay lại hoạt động như trước khi bị chấn thương.

Đánh giá chức năng khớp gối: Theo thang điểm IKDC 2000, thống kê tại bảng 4, chúng tôi ghi nhận 10/34 trường hợp ở mức C (29,41%), 24/34 trường hợp ở mức D (70,59%). Kết quả sau phẫu thuật có chức năng khớp gối sau mổ ở lần theo dõi cuối cùng có 13 trường hợp ở mức A (38,2%), 20 trường hợp ở mức B (58,2%). Chỉ có một trường hợp ở mức C. Chúng tôi cũng ghi nhận chức năng khớp gối được cải thiện rõ rệt đánh giá theo thang điểm IKDC 2000 ở lần theo dõi cuối cùng so với trước phẫu thuật có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Nhận xét này cũng tương đồng với nhiều tác giả về cải thiện có ý nghĩa điểm IKDC thời điểm sau phẫu thuật so với trước phẫu thuật.

Chức năng khớp gối trước phẫu thuật, không có trường hợp nào điểm Lysholm ở mức rất tốt, 1 trường hợp điểm Lysholm ở mức tốt (2,9%), 19/34 trường hợp điểm Lysholm ở mức trung bình (55,9%), 14/34 trường hợp điểm Lysholm ở mức xấu (41,2%) (Bảng 4). Điểm Lysholm trước phẫu thuật trung bình của các trường hợp trong nhóm nghiên cứu là $66,62 \pm 9,46$ tương đương với kết quả nghiên cứu của tác giả Đỗ Văn Minh [9] là $69,3 \pm 7,62$, cao hơn tác giả Lương Trung Hiếu [5] là $51,09 \pm 16,87$, Trần Trung Dũng (2016) [2] là $63,8 \pm 4,2$. Các tác giả đều nhận thấy cải thiện có ý nghĩa điểm Lysholm sau phẫu thuật so với trước phẫu thuật.

KẾT LUẬN

Phẫu thuật cho những trường hợp có độ tuổi trung bình là $32,82 \pm 7,73$, thấp nhất 19 tuổi, cao nhất 48 tuổi. Tỷ lệ nam/nữ là 32/2. Hình ảnh cộng hưởng từ phản ánh tốt hình ảnh của tổn thương, có giá trị cao trong chẩn đoán.

Bệnh nhân bị tổn thương DCCS gây lỏng khớp gối, các trường hợp lỏng độ II, độ III gây ảnh hưởng rõ rệt tới chức năng khớp và nhu cầu sinh hoạt, vận động của người bệnh.

Kết quả sau phẫu thuật đã được cải thiện rất nhiều, tuy phẫu thuật khó phục hồi hoàn toàn độ vững khớp gối, nhưng phần lớn người bệnh có thể quay lại hoạt động như trước tổn thương. Kết quả phẫu thuật tạo hình DCCS bằng mảnh ghép gân mạc dài cho kết quả khả quan với 100% các trường hợp cải thiện cả mức độ vững gối (đánh giá theo các nghiệm pháp ngã kéo sau, Lachman ngược và Godfrey) và chức năng khớp gối (theo thang điểm Lyshome, IKDC 2000).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Tiến Bình. Phẫu thuật nội soi khớp gối. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội. 2009.
2. Trần Trung Dũng. Đánh giá kết quả tạo hình DCCS khớp gối qua nội

soi bằng mảnh ghép gân cơ bán gân và gân cơ thon. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 2016; 01: 53-56.

3. Lê Thanh Tùng. Nghiên cứu ứng dụng phẫu thuật tạo hình DCCS khớp gối qua nội soi bằng mảnh ghép gân đồng loại. *Luận án Tiến sỹ*. Đại học Y Hà Nội. 2021.

4. Freychet, B, et al. All-inside posterior cruciate ligament reconstruction: surgical technique and outcome. *Clin Sports Med*. 2019; 38(2): 285-295.

5. Logan, M, et al. The effect of posterior cruciate ligament deficiency on knee kinematics. *Am J Sports Med*. 2004; 32(8): 1915-1922.

6. Setyawan R, et al. Posterior Cruciate Ligament reconstruction with peroneus longus tendon graft: 2-Years follow-up. *Ann Med Surg*. 2019; 43: 38-43.

**STUDY OF rs1059513 STAT6 POLYMORPHISM IN HBsAg(+)
HEPATOCELLULAR CARCINOMA PATIENTS**

Le Quang Nhut^{1,2}, Duong Quang Huy², Nguyen Xuan Kien^{2}*

Abstract

Objectives: To determine the genotype frequency of rs1059513 *STAT6* polymorphism and its correlation with clinical, paraclinical characteristics, and cancer risk in Hepatitis B Surface Antigen positive (HBsAg (+)) hepatocellular carcinoma (HCC) patients. **Methods:** A cross-sectional study was conducted on 118 HBsAg-positive HCC patients, compared with 86 HBsAg-positive cirrhosis patients and 195 healthy individuals at Military Central Hospital 108, Military Hospital 103, and Can Tho City General Hospital from July 2017 to August 2020. The rs1059513 polymorphism in *STAT6* was analyzed from peripheral blood samples of the study subjects using Sanger sequencing. **Results:** The genotype frequency of GG in the rs1059513 *STAT6* polymorphism was lowest in cirrhosis patients (10.2%), but significantly higher compared to the corresponding values in HCC patients and healthy individuals (1.2% and 0%, respectively), $p < 0.05$. Individuals with the GG genotype had a higher risk of HBsAg-positive HCC compared to those with the AA genotype in both the cirrhosis group (OR = 11.54, 95%CI: 1.47 - 90.96, $p < 0.01$) and the healthy group (OR = 50.47, 95%CI: 2.95 - 863.43, $p < 0.01$). There was no correlation between *Rs1059513 STAT6* polymorphism and age, serum AFP (Alpha fetoprotein) concentration, and some tumor characteristics. **Conclusion:** The GG genotype of rs1059513 *STAT6* polymorphism increases the risk of HBsAg-positive HCC but is not associated with serum AFP concentration and some tumor characteristics.

Keywords: rs1059513 *STAT6* polymorphism; Hepatocellular carcinoma; Cirrhosis.

¹Tay Do University

²Vietnam Military Medical University

*Corresponding author: Nguyen Xuan Kien (nguyexuankien@vmmu.edu.vn)

Date received: 10/4/2023

Date accepted: 26/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.344>

INTRODUCTION

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common types of cancer worldwide and ranks first in both incidence and mortality rates in Vietnam [1]. The disease has many risk factors, among which hepatitis B virus (HBV) infection is the most important risk factor, presenting in around 80 - 90% of HCC cases [1, 2]. The pathogenesis of HBV-induced HCC is very complex, involving the integration of viral genetic material into the hepatocyte nucleus and the induction of hepatocyte damage through various signalling pathways, such as Wnt/ β -catenin, PI3K/Akt/mTOR, Ras/Raf/MAPK, JAK/STAT, and other genes [3]. Among these signalling pathways, JAK/STAT (Janus kinase/Signal transducer and activator of transcription) plays a crucial role in transmitting signals from many cytokines and growth factors, responsible for cellular functions such as cell growth, maintenance of stem cells, cell differentiation, as well as regulation of immune response, inflammation, and has been shown to play an important role in the formation, progression, and development of HCC [4]. Among the 7 members of the STAT family, several

studies have shown that *STAT1*, *STAT2*, and *STAT4* exhibit inhibitory effects on cancer formation (including HCC) both in vitro and in vivo, while *STAT3* has been demonstrated as an oncogenic factor, promoting angiogenesis, maintaining cancer stem cell population, thereby promoting the development, invasion, and metastasis of HCC [4]. Recently, a study has reported that *STAT6* expression is higher in HCC tissue than in non-tumor liver tissue and has prognostic significance [5]. However, research on rs1059513 *STAT6* polymorphisms in HCC patients has not been widely reported worldwide, although more than 10 polymorphic sites have been identified, including rs1059513 *STAT6* polymorphism, which has been associated with the treatment efficacy of the hepatitis C virus [6] and demyelinating neuropathy [7].

Currently, research on the association between rs1059513 *STAT6* polymorphism and HBV-induced HCC has not been reported worldwide or in Vietnam. Therefore, our study was conducted: *To determine the frequency of rs1059513 STAT6 polymorphism and its association with some clinical, paraclinical, and cancer risk factors in patients with HBsAg-positive HCC.*

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

The study was conducted on 399 participants, divided into 3 groups: Hepatocellular carcinoma patients' group, cirrhosis patients' group, and healthy group

* *Inclusion criteria:* Hepatocellular carcinoma patients' group (study group): Including 118 patients diagnosed with hepatocellular carcinoma according to the standard of the Vietnamese Ministry of Health in 2012 and tested positive for HBsAg (+) [8]; Cirrhosis patients' group: 86 patients diagnosed with cirrhosis based on clinical symptoms and tests with portal hypertension syndrome, liver dysfunction syndrome, changes in liver morphology, or cirrhosis degree F4, while testing positive for HbsAg; Healthy group: 195 volunteer blood donors without clinical symptoms or history of hepatitis, cirrhosis or liver cancer, with HBsAg, Anti-HCV, and Anti-HIV negative.

* *Exclusion criteria:* Patients with anti-HCV (+), anti-HIV (+), concomitant cancer, or without testing for the rs1059513 *STAT6* polymorphic gene were not included in the study; Exclusion criteria for cirrhosis patients included HCV infection, alcohol abuse, and use of hepatotoxic drugs, etc.

* *Study location:* The hepatocellular carcinoma and cirrhosis groups were collected at Military Hospital 103, 108 Military Central Hospital, and Can Tho City General Hospital. The healthy group was collected at the Hematology-Transfusion Center, Military Hospital 103.

* *Study period:* from July 2017 to August 2020.

2. Methods

* *Study design:* The study was conducted using a cross-sectional descriptive method.

* *Research process:*

All eligible patients were carefully examined for medical history, clinical symptoms, and laboratory tests for disease diagnosis (including serum AFP levels (ng/mL), tumor characteristics such as quantity, size, and vascular proliferation), disease stage (portal vein invasion (PVI) and extrahepatic metastasis).

The analysis of the polymorphism rs1059513 on *STAT6* was performed on peripheral blood samples of the study subjects following these steps:

- Step 1: Total DNA was extracted from peripheral blood using the GenJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo, USA) following the manufacturer's instructions.

The total DNA product was quantified, and purity was checked by measuring absorbance at 260 nm and 280 nm using a Nanodrop spectrophotometer.

- Step 2: The target gene segment was amplified by the Polymerase chain reaction (PCR) technique using the following primer pair:

GCACACTTGCTGCTGTCTTC
(forward)

CTGCTCTGGACACTTGCTCA
(reverse)

The PCR product was electrophoresed to check the specificity of the primers.

- Step 3: The PCR product was purified using the Gene JET PCR Purification Kit (Thermo, USA) according to the manufacturer's instructions.

- Step 4: 20 µL of the purified PCR product was sent to Apical Scientific Sequencing Company, Malaysia, for Sanger sequencing. The sequencing result was analyzed using Geneious software to compare with the standard Genbank in humans, thereby determining the polymorphism at rs1059513 on STAT6.

* *Data processing and analysis:* Using SPSS 20.0 software. Statistical analysis was carried out using frequency, percentage, mean, and comparison of categorical variables using the χ^2 test or Fisher's exact test. The percentage was rounded to one decimal place. Differences were considered statistically significant when $p < 0.05$.

RESULTS

Table 1. Characteristics of age and gender of the study participants.

Participants	n	Male	Female	Male-to-female ratio	$\bar{X} \pm SD$
Hepatocellular carcinoma	118	104	14	7.4	65.5 ± 11.1
Cirrhosis	86	62	24	2.6	59.5 ± 10.5
Healthy	195	118	77	1.5	19.5 ± 1.2
Total	399	284	115	2.5	41.7 ± 23.2

The hepatocellular carcinoma patients had a mean age of 65.5, higher than the mean age of the cirrhosis group (59.5) and the healthy group (19.5). 88.1% of hepatocellular carcinoma patients were male, with a male-to-female ratio of 7.4, compared to a ratio of 2.6 in the cirrhosis group and 1.5 in the healthy group.

Table 2. Genotype and allele frequencies of rs1059513 *STAT6* polymorphism in hepatocellular carcinoma patients.

Genotypes and alleles		Frequency	Percent (%)
<i>Genotypes (n = 118)</i>			
rs1059513 <i>STAT6</i> polymorphism	AA	79	66.9
	AG	27	22.9
	GG	12	10.2
<i>Alleles (2n = 236)</i>			
	A	185	78.4
	G	51	21.6

In patients with hepatocellular carcinoma, the homozygous AA genotype of the rs1059513 *STAT6* polymorphism had the highest frequency (66.9%), while the homozygous GG genotype had the lowest frequency (10.2%). The A allele frequency was 78.4%, while the G allele frequency was only 21.6%.

Table 3. Comparing the genotype and allele distribution of the rs1059513 *STAT6* polymorphism between the hepatocellular carcinoma group and the healthy control group.

Genotypes and alleles	Hepatocellular carcinoma		Healthy control group		p	
	n = 118	%	n = 195	%		
<i>Genotypes (n)</i>						
rs1059513 <i>STAT6</i> polymorphism	AA	79	66.9	160	82.1	< 0.01
	AG	27	22.9	35	17.9	0.36
	GG	12	10.2	0	0	< 0.01
<i>Alleles (2n)</i>						
	A	185	78.4	355	910	
	G	51	21.6	35	9.0	< 0.01

The homozygous GG genotype and G allele of the rs1059513 *STAT6* polymorphism were found to have a higher frequency in the hepatocellular

carcinoma group than in the healthy group (10.2% vs. 0% and 21.6% vs. 9.0%, respectively), with statistical significance at $p < 0.01$.

Table 4. Comparing the distribution of genotypes and alleles of the rs1059513 *STAT6* polymorphism in the hepatocellular carcinoma group and the cirrhosis group.

Genotypes and alleles	Hepatocellular carcinoma		Cirrhosis		p	
	n = 118	%	n = 86	%		
	<i>Genotypes (n)</i>					
rs1059513 <i>STAT6</i> polymorphism	AA	79	66.9	76	88.4	< 0.01
	AG	27	22.9	9	10.5	< 0.05
	GG	12	10.2	1	1.2	< 0.01
	<i>Alleles (2n)</i>					
	A	185	78.4	161	93.6	
	G	51	21.6	11	6.4	< 0.01

The homozygous GG genotype and G allele of rs1059513 *STAT6* were found to have a higher frequency in the hepatocellular carcinoma group than in the cirrhosis group (10.2% vs. 1.2% and 21.6% vs. 6.4%, respectively), with statistical significance at $p < 0.01$. Meanwhile, the AA genotype was found to be significantly lower in the carcinoma group than in the cirrhosis group (66.9% vs. 88.4%, $p < 0.01$).

Table 5. The relationship between the rs1059513 *STAT6* polymorphism and risk factors of hepatocellular carcinoma (with a healthy control group).

Genotypes and alleles	Hepatocellular carcinoma	Healthy control group	OR (95% CI)	p	
	(n = 118)	(n = 195)			
<i>Genotypes (n)</i>					
rs1059513 <i>STAT6</i> polymorphism	AA	79	160	Ref	
	AG	27	35	1.56 (0.88 - 2.76)	0.12
	GG	12	0	50.47 (2.95 - 863.43)	< 0.01
	AG + GG (G-)	39	35	2.26 (1.33 - 3.83)	< 0.01
<i>Alleles (2n)</i>					
	Allele A	185	355	2.80 (1.76 - 4.45)	< 0.01
	Allele G	51	35		

Individuals carrying the GG genotype and G allele of rs1059513 *STAT6* have a higher risk of hepatocellular carcinoma than those carrying the AA genotype and A allele, with corresponding odds ratios of 50.47 (95%CI: 2.95 - 863.43, $p < 0.01$) and 2.80 (95%CI: 1.76 - 3.83, $p < 0.01$), respectively. Additionally, the AG + GG genotypes were found to increase the risk of hepatocellular carcinoma compared to the AA genotype, with an odds ratio of 2.26 (95%CI: 1.33 - 3.83, $p < 0.01$).

Table 6. The relationship between rs1059513 *STAT6* polymorphism and risk factors of hepatocellular carcinoma (with a cirrhosis control group).

Genotypes and alleles	Hepatocellular carcinoma (n = 118)	Cirrhosis (n = 86)	OR (95% CI)	p	
<i>Genotypes (n)</i>					
	AA	79	76	Ref	
rs1059513 <i>STAT6</i> polymorphism	AG	27	9	2.89 (1.27 - 6.54)	< 0.05
	GG	12	1	11.54 (1.47 - 90.96)	< 0.05
	AG + GG (G-)	39	10	3.75 (1.75 - 8.0)	< 0.01
	<i>Alleles (2n)</i>				
	Allele A	185	161	4.03	< 0.01
	Allele G	51	11	(2.03 - 8.0)	

Individuals carrying the AG, GG, and G allele of rs1059513 *STAT6* were found to have a higher risk of hepatocellular carcinoma than those carrying the AA genotype and A allele, with corresponding odds ratios of 2.89 (95%CI: 1.27 - 6.54, p < 0.05), 11.54 (95%CI: 1.47 - 90.96, p < 0.01), and 4.03 (95%CI: 2.03 - 8.0, p < 0.01), respectively.

Table 7. The relationship between the rs1059513 *STAT6* polymorphism and some clinical, subclinical symptoms in hepatocellular carcinoma patients.

Clinical and subclinical symptoms		AA	AG	GG	p
Age		65.2 ± 10.6	64.4 ± 12.2	69.8 ± 12.1	0.35
Alpha-fetoprotein (AFP)	< 400 ng/mL	40 (50.6)	14 (51.9)	7 (58.3)	0.88
	≥ 400 ng/mL	39 (49.4)	13 (48.1)	5 (41.7)	
Number of tumors	1	29 (36.7)	9 (33.3)	6 (50.0)	0.60
	≥ 2	50 (63.3)	18 (66.7)	6 (50.0)	
Tumor size	< 5 cm	37 (46.8)	11 (40.7)	5 (41.7)	0.84
	≥ 5cm	42 (53.2)	16 (59.3)	7 (58.3)	
Portal vein thrombosis	No	65 (82.3)	24 (88.9)	9 (75.0)	0.54
	Yes	14 (17.7)	3 (11.1)	3 (25.0)	
Metastasis	No	72 (91.1)	22 (81.5)	9 (75.0)	0.17
	Yes	7 (8.9)	5 (18.5)	3 (25.0)	

There was no significant difference in age, serum AFP concentration and some characteristics of the tumor (number, size, presence of portal vein thrombosis and metastasis) among different genotypes of the rs1059513 *STAT6* polymorphism with $p > 0.05$.

DISCUSSION

The study was conducted on 118 inpatient hepatocellular carcinoma patients at three hospitals, including Military Central Hospital 108, Military Hospital 103, and Can Tho Central General Hospital, with an average age of 65.5 ± 11.1 . Our study results are relatively consistent with those of many studies in Vietnam, such as the study by Phan Thi Hien Luong (2020) on 102 HBV-infected hepatocellular carcinoma patients at Bach Mai Hospital to determine the TNF- α -308 and TGF- β 1-509 gene polymorphisms, with an average age of 57.4 ± 9.7 [9]. Therefore, hepatocellular carcinoma in our country is usually detected in middle-aged people because our country is in an area of hepatitis B epidemiology with a high transmission rate from mother to child during birth, while in European countries, the main causes are alcohol and hepatitis C virus infection. Most authors worldwide acknowledge that the age of hepatocellular carcinoma disease depends on many factors such as gender and hepatitis virus infection status, and varies by region [1, 2].

88.1% of hepatocellular carcinoma patients in our study were male, while only 11.9% were female, with a male-to-female ratio of 7.4/1.0. Thus, this

male-to-female ratio is higher than the results of many previous studies (ranging from 2 - 8/1, with an average of 4/1) but is consistent with recent studies such as Phan Thi Hien Luong's study (2020), which had a male-to-female ratio of 11.8/1.0 [9]. The higher male-to-female ratio in hepatocellular carcinoma may be due to men having more exposure to risk factors such as alcohol abuse, smoking, body mass index, iron reserves, and especially a higher rate of hepatitis B and C virus infection than women. In addition, the relationship between sex hormones and the development of hepatocellular carcinoma has been confirmed in many studies, in which testosterone stimulates the development of hepatocellular and accelerates the formation of hepatocellular carcinoma. In contrast, estrogen inhibits cell cycle regulation and inhibits inflammation through Interleukin 6, thereby reducing liver damage and limiting the development of liver cancer [2, 3].

Hepatocellular carcinoma (HCC) remains a highly malignant disease with a complex pathogenesis, in which the JAK/STAT signalling pathway has been widely reported to play an important role in the formation, progression, and development of HCC.

Among the members of the STAT family, we observed a lack of research

on the rs1059513 *STAT6* polymorphism in patients with HCC. Most published studies on this polymorphism are related to patients with an allergic predisposition (such as asthma, eczema, etc.) [10], with a few studies reporting its association with the efficacy of treatment for hepatitis C virus [6] and multiple sclerosis [7].

Among 195 healthy individuals without liver disease, the genotype distribution of the rs1059513 *STAT6* polymorphism was as follows: The homozygous AA genotype had the highest frequency at 66.9%, while the homozygous GG genotype had the lowest frequency at 10.2%. The A allele frequency was 78.4%, while the G allele frequency was only 21.6%.

Our study results were similar to those of Ruan Z. et al. (2011) on 693 healthy Chinese individuals, which also reported the AA genotype of the rs1059513 *STAT6* polymorphism to have the highest frequency at 86.9% and the GG genotype to have the lowest frequency at 0.1% [7]. In a study by Duetsch G. et al. (2002) on 474 white individuals, the A allele frequency of the rs1059513 *STAT6* polymorphism was found to be 92.08%, while the G allele frequency was relatively low at 7.92% [10].

Comparing the frequency of genotypes and alleles of the rs1059513

polymorphism of the *STAT6* between the group of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) and healthy individuals, we found that the GG homozygous genotype and G allele of rs1059513 *STAT6* polymorphism were more prevalent in the HCC group than in the healthy group (10.2% vs. 0% and 21.6% vs. 9.0%, respectively, $p < 0.01$). Individuals carrying the GG genotype and G allele had a higher risk of HCC than those carrying the AA genotype and A allele, with respective odds ratios (OR) of 50.47 (95%CI: 2.95 - 863.43, $p < 0.01$) and 2.80 (95%CI: 1.76 - 3.83, $p < 0.01$). Moreover, individuals carrying the G allele had a higher risk of HCC than those carrying the A allele, with an OR of 2.80 (95%CI: 1.76 - 4.45, $p < 0.01$) (Table 5). Similarly, the GG homozygous genotype and G allele of rs1059513 *STAT6* polymorphism were more prevalent in the HCC group than in the cirrhosis group (10.2% vs. 1.2% and 21.6% vs. 6.4%, respectively, $p < 0.01$), and individuals carrying the AG and GG genotypes and G allele had a higher risk of HCC than those carrying the AA genotype and A allele, with respective OR of 2.89 (95%CI: 1.27 - 6.54, $p < 0.05$), 11.54 (95%CI: 1.47 - 90.96, $p < 0.01$), and 4.03 (95%CI: 2.03 - 8.0, $p < 0.01$) (Table 6). However, we did not find any

association between the rs1059513 *STAT6* polymorphism and clinical or laboratory symptoms in HCC patients.

Currently, research on *STAT6* polymorphism in HCC patients is limited worldwide and has not been conducted in Vietnam. Some experimental studies have shown that *STAT6* inactivation significantly inhibits the survival and migration of two cell lines derived from HCC (HepG2 and Hep3B) and induces programmed cell death [11]. More recently, Kamerkar et al. (2021) used exoASO-*STAT6* (a targeted oligonucleotide-loaded extracellular vesicle) on a HCC cell model and found a significant reduction in tumor growth and complete regression in 50% of cases [12]. In humans, Dong et al. (2019) evaluated the mRNA expression of *STAT6* in HCC tissue and found that tumors with high *STAT6* mRNA expression had a better prognosis and a longer median overall survival time than those with low *STAT6* expression [5].

The relationship between the rs1059513 *STAT6* polymorphism and cancer pathology in general and hepatocellular carcinoma (HCC) in particular needs to be further investigated in order to reach a final conclusion and apply this marker in clinical practice.

CONCLUSION

Based on the study of the rs1059513 *STAT6* polymorphism in 118 HBsAg (+) HCC patients compared to the corresponding polymorphism in 86 cirrhosis patients and 195 healthy individuals, we draw the following conclusions:

- The frequency of the GG genotype at rs1059513 on *STAT6* is lowest in hepatocellular carcinoma patients (10.2%), but higher and statistically significant compared to the corresponding index in cirrhosis patients and healthy individuals (1.2% and 0%, respectively; $p < 0.05$). Individuals with the GG genotype have a higher risk of HCC than those with the AA genotype in the cirrhosis group (OR = 11.54, 95% CI: 1.47 - 90.96, $p < 0.01$) and the healthy group (OR = 50.47, 95%CI: 2.95 - 863.43, $p < 0.01$).

- There is no association between the rs1059513 *STAT6* polymorphism and age, serum AFP levels, and some tumor characteristics in HCC patients.

REFERENCES

1. Sung H, Ferlay J, Siegel RL, et al. Global Cancer Statistics 2020 GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin.* 2021; 71:209-249.

2. Marrero JA, Kulik LM, Sirlin CB, et al. Diagnosis, Staging, and Management of Hepatocellular Carcinoma: 2018 Practice Guidance by the American Association for the Study of Liver Diseases. *Hepatology*. 2018; 68 (2):723-750.
3. Alqahtani A, Khan Z, Alloghbi A, et al. Hepatocellular carcinoma: Molecular mechanisms and targeted therapies. *Medicine*. 2019; 55(9):526-547.
4. Tang JJH., Thng DKH., Lim JJ, et al. JAK/STAT signalling in hepatocellular carcinoma. *Hepat Oncol*. 2020; 10.2217/hep-2020-0001.
5. Dong Z, Chen Y, Yang C, et al. STAT gene family mRNA expression and prognostic value in hepatocellular carcinoma. *OncoTargets and Therapy*. 2019; 12:7175-7191.
6. Lim Y, Hsu Y, Tsai K, et al. The impact of polymorphisms in *STAT6* on treatment outcome in HCV infected Taiwanese Chinese. *BMC Immunology*. 2013; 14:21.
7. Ruan Z, Zhao Y, Yan L, et al. Single nucleotide polymorphisms in IL-4Ra, IL-13 and *STAT6* genes occur in brain glioma. *Frontiers in Bioscience*. 2011; E3:33-45.
8. Vietnam Ministry of Health. *Guidelines for diagnosis and treatment of primary liver cancer*. Issued together with Decision No. 5250/QĐ-BYT dated December 28, 2012 by the Minister of Health (*Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư tế bào gan nguyên phát*. Ban hành kèm theo Quyết định số: 5250/QĐ-BYT ngày 28 tháng 12 năm 2012 của Bộ trưởng Bộ Y tế).
9. Phan Thi Hien Luong. “Study of TNF- α -308 and TGF- β 1-509 gene polymorphisms in patients with HBsAg-positive hepatocellular carcinoma” (“Nghiên cứu đa hình gen TNF- α -308 và TGF- β 1-509 ở bệnh nhân ung thư biểu mô tế bào gan có HBsAg dương tính”). *Doctoral thesis in Medicine*. 2020. Military Medical Academy (Vietnam).
10. Duetsch G, Illig T, Loesgen S, et al. *STAT6* as an asthma candidate gene: Polymorphism screening, association and haplotype analysis in a Caucasian sib-pair study. *Human Molecular Genetics*. 2002; 11(6):613-621.
11. Qing T, Yaminb Z, Guijie W, et al. *STAT6* silencing induces hepatocellular carcinoma-derived cell apoptosis and growth inhibition by decreasing the RANKL expression. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2017; 92:1-6.
12. Kamekar S, Leng C, Zhang K, et al. Exosome mediated reprogramming of tumor associated macrophages by exoASO-*STAT6* for the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC). *J Immunother Cancer*. 2021; 9(Suppl 2):A1-A1054.

EVALUATION OF THE ACTIVITY OF PERIPHERAL BLOOD
NATURAL KILLER CELLS IN HEALTHY SUBJECTS AND BREAST
CANCER PATIENTS

Dieu Thi Thuy Chuyen^{1,2}, *Phung The Hai*²
*Nguyen Hoang Phuong*², *Hoang Trung Kien*²
*Nguyen Ngoc Tuan*², *Nguyen Dang Dung*², *Do Khac Dai*^{2*}

Abstract

Objectives: To study Natural Killer (NK) cell activity (NK-IFN γ) and some indicators related to immunological characteristics of peripheral blood NK cells in healthy people and breast cancer patients. **Methods:** We evaluated NK cell activity through its secretory characteristics (NK-IFN γ) using ATGen's commercial NK VUE Test[®] (ATGen kit) on 35 healthy subjects (medical staff) and 132 cancer patients treated at Vietnam National Cancer Hospital from August 2020 to February 2023. At the same time, we collected peripheral blood samples to conduct immunological characterization of peripheral blood NK cells based on the flow cytometer system (number, expression of the activation and inhibitory receptors such as NKG2A, NKG2D), and some other biomarkers (CEA, CA 15.3). **Results:** The secretory activity of peripheral blood NK cells (NKA-IFN γ) in breast cancer patients ($1,013.46 \pm 1,115.87$ pg/mL) was statistically significantly lower than that in the healthy group ($2,571.38 \pm 827.52$ pg/mL) ($\bar{x} \pm SD$) ($p < 0.001$). The proportion of breast cancer patients with NKA-IFN γ activity of a very low level (≤ 200 pg/mL) was 40.9% and that of the healthy subjects was 0%. There was no relationship between NKA-IFN γ and peripheral blood NK cell count, and the expression levels of the activating receptor NKG2D and the inhibitory receptor NKG2A. Patients with CEA and

¹Department of Biochemistry and Immunology, Vietnam National Cancer Hospital

²Department of Immunology, Vietnam Military Medical University

*Corresponding author: Do Khac Dai (dokhacdai@vmmu.edu.vn)

Date received: 15/3/2023

Date accepted: 26/4/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.321>

CA 15.3 serum levels above the normal limits accounted for relatively low percentages (10.6% and 6.1%). **Conclusion:** Breast cancer patients with very low NK cell activity accounted for a significant proportion (40.9%). NKA-IFN γ activity could be used as a potential tool for monitoring the immune system health status of breast cancer patients before and after receiving treatment interventions.

Keywords: NKA-IFN γ activity; NKG2A; NKG2D; Breast cancer.

INTRODUCTION

Breast cancer is the most common cancer and the second leading cause of death among women worldwide [1]. There are many treatment approaches, such as surgery, chemotherapy, radiation therapy, targeted therapy, and immunotherapy that have significantly reduced mortality rates and recurrence rates of breast cancer. In terms of immunotherapies, checkpoint inhibitors (such as anti-PD-1/PD-L1, anti-CTL-4) and adoptive cell transfusion have been receiving considerable interest in the treatment of breast cancer.

The immune system in humans plays an important role in eliminating pathogens such as cancer-causing viruses or malignant cells. There are two important groups of immune cells responsible for removing malignant cells in the body: Cytotoxic lymphocytes (TCD8+) and Natural Killer cells (NK). The function of malignant-cell

elimination by NK and TCD8+ cells may be suppressed during the interaction between the immune system and cancer cell emergence. From the hypothesis, understanding the altered cancer-resistance markers of immune cells in cancer patients and healthy people is an important issue and needs to be studied.

NK cells play an important role in the immune response against cancer by identifying and killing cancer cells with reduced or no MHC-class I expression [2, 3]. The decision to kill a cell in the body depends on the balance between the two groups of receptors in NK cells: The activating receptor group (such as NKG2D) and the inhibitory receptor group (NKG2A). Activated NK induces direct cytotoxicity through the release of perforin and granzyme, and also controls the immune response by secreting cytokines such as Interferon-gamma (IFN γ) and TNF (tumor necrosis factor).

In lung or prostate cancer patients, some studies have shown that peripheral NK cells demonstrated significantly reduced cytotoxic function and IFN γ secretion function phenotypes as compared to the healthy subjects [4, 5]. These studies used a new reliable method of analyzing NK cell activity via its IFN γ secretion (NK VUE kit) [4, 5]. From these, it is suggested that the assessment of the secretory activity of peripheral blood NK cells by the NK VUE kit (NKA-IFN γ) could be used as an aid in the diagnosis as well as in the treatment of cancer. However, not much information on the activity and immunophenotype of NK cells in healthy Vietnamese women and breast cancer patients has been published.

In this study, we investigated NKA-IFN γ activity and surface marker characteristics of peripheral blood NK cells and some other serum biomarkers in female Vietnamese healthy participants and breast cancer patients.

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

The study recruited 132 breast cancer patients who came for examination and treatment at the Vietnam National Cancer Hospital (Tan Trieu campus) and 35 healthy

medical staff, from August 2020 to February 2023.

* *Inclusion criteria:* Female patients were diagnosed with breast cancer via histopathological examination for the first time; the histopathological types were classified by using an immunohistochemistry assay (IHC); The healthy female medical staff have received periodical health check-ups at the hospital, and have been classified into the health categories I and II; The patients and the healthy volunteers agreed to participate in the study.

* *Exclusion criteria:* Any patients who have been pregnant people, patients with medical diseases: liver failure, kidney failure, autoimmune diseases; Any patients who received or were receiving chemotherapy, radiation therapy, or immunosuppressive drugs; Of note, the healthy controls were not recruited with the intention to match age with the patient group, as some studies showed that there was no correlation between age and NKA-IFN γ [6].

2. Methods

* *Study design:* A cross-sectional descriptive study.

* *Histopathological diagnosis:*

Morphology of breast lesions was accurately diagnosed based on routine

methods being applied at the Center of Pathology and Molecular Biology, Vietnam National Cancer Hospital (Tan Trieu campus).

- Total blood count: 2mL of the human peripheral blood count percentage and the absolute number of lymphocytes from the peripheral blood samples were counted on the DxH 900 automatic hematology analyzer system. The tests were performed according to the routine techniques at the Department of Hematology - Microbiology, Vietnam National Cancer Hospital (Tan Trieu campus).

- Analysis of NK cells on a flow cytometer system: 2mL peripheral blood was stained with fluorescent antibodies detecting CD45, CD3, CD56, NKG2A, NKG2D with antibody dilution ratio and incubation conditions as recommended by the manufacturer (Biolegends). Then, the blood sample was incubated with RBC lysis buffer of Biolegends to break down red blood cells before being analyzed by the ACEA Novocyte flow cytometer at the Department of Immunology, Vietnam Military Medical University.

- Evaluation of natural killer (NK) cell activity in peripheral blood according to ATGEN's NKA VUE commercial kit: Peripheral blood NK cell activity (NKA-IFN γ) was determined by ELISA technique using ATGEN's NK VUE Test[®] commercial kit according to the method described by Lee S. et al. and was performed at the Department of Immunology, Vietnam Military Medical University [4].

Briefly, 1mL of the human peripheral blood was incubated in the NK Vue tube *in vitro* (containing NK cell-specific activating recombinant cytokines) for 24 hours; the concentration of Interferon (IFN)-gamma in the harvested supernatant after the end of incubation was quantified by ELISA technique (measurement unit: pg/mL). The level of NKA-IFN γ activity was considered normal when the NKA-IFN γ was above/equal to 500 pg/mL; low, when NKA-IFN γ was from 200 - 500 pg/mL; and, very low when NKA-IFN γ was below/equal to 200 pg/mL [4].

- Evaluation of some biochemical cancer biomarkers: Quantification of breast cancer markers, including CEA, CA15.3 from 1mL of peripheral blood.

On Cobas 6000 automatic immunoassay system by chemiluminescence immunoassay method was performed according to the routine techniques at the Department of Biochemistry - Immunology, Vietnam National Cancer Hospital (Tan Trieu campus).

** Data analysis:*

The collected data were analyzed on Microsoft Excell software. We used the Student's T-test to compare the data of the two groups, $p < 0.05$ was considered to be statistically significant. We use the correlation test on Excell software (r); interpret r between ± 0.5 and ± 1 as strong correlation, r between ± 0.3 and ± 0.49 as moderate correlation, r greater than 0 to ± 0.29 as weak or no correlation ($r = 0$).

RESULTS AND DISCUSSION

Regarding some NK cell immunophenotypic characteristics assessed by flow cytometry, we found that:

About % NKG2A: The population of NK cells expressing NKG2A (inhibitory receptor) accounted for about 30.56 ± 14.05 and 23.9 ± 11.67

(Mean \pm SD) in the healthy group and the breast cancer group, respectively, although p -value was less than 0.05, the difference was relatively low (*Table 1*). The data were quite similar to the published data by Phan et al. (2016) in the Korean group [7].

About % NKG2D: The population of NK cells expressing NKG2D (activated receptor) accounted for about 94.2 ± 2.64 and 94.55 ± 1.64 ($\bar{x} \pm SD$) in the healthy group and breast cancer group, respectively (no difference, $p > 0.05$) (*Table 1*). These data were also quite similar to the published data of Phan et al. (2016) in the Korean group [7]. Although NKG2D was expressed on almost all peripheral blood NK cells, NK cells in the tumor group had a higher median fluorescence intensity (MFI) level of NKG2D (NKG2D MFI) than that in the healthy group ($p < 0.05$) (*Table 1*). It is necessary to re-examine and further clarify the molecular biological mechanism why NK cells in cancer patients have higher levels of NKG2D activating receptor expression than those in healthy groups.

Table 1. Some immunological characteristics of NK cells and the levels of other cancer markers in breast cancer patients and healthy donors.

Criteria	Breast cancer group (n = 132) ($\bar{X} \pm SD$)	Healthy group (n = 35) ($\bar{X} \pm SD$)	p*
Age	53.67 ± 11.55	38.03 ± 9.18	< 0.001
# Lympho (million/mL)	2.31 ± 0.76	2.34 ± 0.68	> 0.05
% TCD3	61.57 ± 9.91	69.33 ± 7.11	< 0.001
# TCD3 (million/mL)	1.39 ± 0.48	1.63 ± 0.55	< 0.05
% NK	16.09 ± 9.11	15.36 ± 6.91	> 0.05
# NK (million/mL)	0.4 ± 0.33	0.34 ± 0.14	> 0.05
% NKG2A	23.9 ± 11.67	30.56 ± 14.05	< 0.05
% NKG2D	94.55 ± 1.64	94.2 ± 2.64	> 0.05
NKG2D MFI	5321.00 ± 948.07	4946.74 ± 785.70	< 0.05
NKA-IFN γ (pg/mL)	1013.46 ± 1115.87	2571.38 ± 827.52	< 0.001
CEA (ng/mL)	3.08 ± 3.97	1.42 ± 0.82	< 0.001
CA 15.3 (U/mL)	16.24 ± 10.30	14.11 ± 5.31	> 0.05
Stage, n (%)			
0, I	33 (25.0)		
II	74 (56.07)		
III, IV	25 (18.93)		

#: Quantity; %: Percentage; MFI: Median fluorescence intensity; *: T-test method.

Regarding peripheral blood NK cell secretion activity (NKA-IFN γ): Studying a group of healthy women with a sample size (n = 35), the average age was 38 (range 25 - 57), we found that the NKA-IFN γ level was 2571.38 ± 827.52 pg/mL ($\bar{X} \pm SD$). Of these, 34/35 (97.14%) had NKA-IFN γ level of greater than 500 pg/mL (the manufacturer's normal threshold value) (Table 1).

According to the manufacturer's announcement, NKA-IFN γ level of between 200 - 500 pg/mL is considered to be low as a warning value, and NKA-IFN γ below/equals 200 pg/mL is very low [4]. In this study, we determined a threshold of

200 pg/mL as the cut-off threshold dividing subjects with normal and very low NKA-IFN γ activity, similar to some previous authors [8].

Studying cancer subjects (n = 132), we found that the NKA-IFN γ level was 1013.46 ± 1115.87 pg/mL (Mean \pm SD), statistically significantly lower than that of the healthy group (p < 0.001) (Table 1). Up to 54/132 cancer cases, accounting for 40.9 % of cancer subjects, had NKA-IFN γ activity \leq 200 pg/mL (very low NKA-IFN γ), while we did not detect any cases in healthy subjects that had NKA-IFN γ \leq 200 pg/mL; the difference was statistically significant (p < 0.001) (Table 2).

Table 2. Characteristics of NK cell activity (NKA-IFN γ) in the breast cancer patients and the healthy group.

NK cell activity (NKA-IFN γ)	Breast cancer group (n = 132)		Healthy group (n = 35)		Total (n = 167)	p*
	n	%	n	%	n (%)	
NKA-IFN γ \leq 200 pg/mL (very low NKA-IFN γ)	54	40.9	0	0	54 (32.3)	< 0.001
NKA-IFN γ > 200 pg/mL	78	59.1	35	100	113 (67.7)	
Total	132	100	35	100	167 (100)	

Interestingly, most of the cancer subjects (about 80%) were only at a relatively early stage of the disease (0, I, II), but more than 40% of the group had very low NKA-IFN γ . This partly suggested that the altered peripheral blood NK cell activity may be present in the early stages of breast cancer (Tables 1, 2).

On the other hand, when comparing the value of NKA-IFN γ with some other biomarkers, such as CEA and CA 15.3, we found that:

CEA usually fluctuates below 5 ng/mL in healthy subjects; We observed that about 14/132 cancer patients, accounting for 10.61 %, had CEA greater than 5 ng/mL, and 3.8% of the cancer patients had CEA > 7.5 ng/mL [9]. (The level of 50% higher than the upper limit of the normal CEA reference range) (Table 3).

Meanwhile, as discussed above, 40.9% of the tumor group had very-low NKA-IFN γ levels (\leq 200 pg/mL). This suggests a better sensitivity of NKA-IFN γ than that of CEA and CA 15.3 (Table 3).

Table 3. Characteristics of NK cell activity (NKA-IFN γ), CEA, CA 15.3 in the breast cancer patients and the healthy subjects.

Criteria	Breast cancer group (n = 132)		Healthy group (n = 35)	
	n	%	n	%
NKA-IFN γ \leq 200 pg/mL	54	40.9	0	0
CEA > 5 ng/mL	14	10.61	0	0
CEA > 7.5 ng/mL	5	3.78	0	0
CA 15.3 > 30 U/mL	8	6.06	0	0
CA 15.3 > 40 U/mL	5	3.78	0	0

In this study, we also evaluated the correlation between the result of peripheral blood NK cell activity assay and other immunological & biochemical indicators.

We found that peripheral blood NK activity measured by the NK VUE kit was independent of the number of peripheral blood NK cells ($r = 0.063$) (*Table 4*). This again shows when using the NK VUE kit, the levels of IFN-gamma secretion by Promoca-induced peripheral blood NK cells were independent of input NK-cell count, similar to that described by Lee et al. (2014) [4]. At the same time, NKA-IFN γ was also not associated with activating or inhibitory receptor expression levels of peripheral blood NK cells (*Table 4*).

Table 4. Evaluation of the correlation between NKA-IFN γ and some other immunological and biochemical indicators.

Criteria	NKA-IFN γ	Classification of correlation levels
Age	-0.349	moderate
# NK	0.063	weak
% NKG2A	0.204	weak
% NKG2D	0.061	weak
NKG2D MFI	0.064	weak
CEA (ng/mL)	-0.142	weak
CA 15.3 (U/ml)	-0.028	weak

#: quantity; %: percentage

Through the study of immunophenotypic characteristics and secreting activity of NK cells in healthy subjects and breast cancer patients, we found that NKA-IFN γ activity has been changed relatively clearly in the breast cancer group compared with that in the healthy group with approximately 40.9% of breast cancer subjects having very low

NKA-IFN γ (≤ 200 pg/mL) (*Table 1, 2*). The very-low NK cell activity may affect the immunological surveillance of cancerous-cell emergence and growth. Therefore, this study suggests the need to focus more on the immunotherapies to harness NK cell function or activity in this group of breast cancer patients with a very-low NKA-IFN γ activity and at the same time, to evaluate the

clinical improvement of the disease. This test could be a potential tool to monitor the clinical response to the treatment in breast cancer patients as some centers around the world are approaching [10]. Our study has certain limitations on the relatively low sample size and the difference in the mean age between the two groups of healthy and breast cancer subjects.

CONCLUSION

The secretory activity of peripheral blood NK cells (NKA-IFN γ) in the breast cancer group was statistically significantly lower than that in the healthy group ($p < 0.001$).

The rate of NKA-IFN γ activity was very low (≤ 200 pg/mL) in the breast cancer patients accounting for 40.9%, while no NKA-IFN γ cases were detected in the healthy group.

There was no relationship between NKA-IFN γ activity and peripheral blood NK cell count or the expression levels of the activating receptor NKG2D and the inhibitory receptor NKG2A.

NKA-IFN γ activity could be a potential aid in monitoring the immune status of breast cancer patients before and after treatment interventions.

REFERENCES

1. Tran Van T., et al. Medical treatment of breast cancer. *Medical Publishing House*. 2019:5.
2. Vivier E, Raulet DH, Moretta A, et al. Innate or adaptive immunity? The example of natural killer cells. *Science*. 2011; 331(6013):44-49. doi:10.1126/science.1198687.
3. Rocca YS, Roberti MP, Juliá EP, et al. Phenotypic and functional dysregulated blood NK cells in colorectal cancer patients can be activated by Cetuximab plus IL-2 or IL-15. *Front Immunol*. 2016; 7:413. doi:10.3389/fimmu.2016.00413.
4. Lee S byul, Cha J, Kim I kyung, et al. A high-throughput assay of NK cell activity in whole blood and its clinical application. *Biochem Biophys Res Commun*. 2014; 445(3):584-590. doi:10.1016/j.bbrc.2014.02.040.
5. Koo KC, Shim DH, Yang CM, et al. Reduction of the CD16-CD56 bright NK cell subset precedes NK cell dysfunction in prostate cancer. *PLoS ONE*. 2013; 8(11). doi:10.1371/journal.pone.0078049.
6. Borg M, Wen SWC, Hansen TF, et al. Natural killer cell activity as a biomarker for the diagnosis of lung

cancer in high-risk patients. *J Int Med Res.* 2022; 50(6):03000605221108924. doi:10.1177/03000605221108924.

7. Phan MT, Chun S, Kim SH, et al. Natural killer cell subsets and receptor expression in peripheral blood mononuclear cells of a healthy Korean population: Reference range, influence of age and sex, and correlation between NK cell receptors and cytotoxicity. *Hum Immunol.* 2017; 78(2):103-112. doi:10.1016/j.humimm.2016.11.006.

8. Barkin J, Rodriguez-Suarez R, Betito K. Association between natural

killer cell activity and prostate cancer: a pilot study. *Can J Urol.* 2017; 24(2):8708-8713.

9. Guadagni F, Ferroni P, Carlini S, et al. A re-evaluation of carcinoembryonic antigen (CEA) as a serum marker for breast cancer: A prospective longitudinal study. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2001; 7(8):2357-2362.

10. Wang Y, Li W, Huang G, Zhu Y, Tao Q, Lv P. Clinical detection of peripheral blood natural killer cell activity. *J Biosci Med.* 2021; 9(5):28-36. doi:10.4236/jbm.2021.95004.

**STUDY ON CHANGES IN SERUM HBV RNA LEVELS IN PATIENTS
WITH CHRONIC HEPATITIS B TREATED WITH TENOFOVIR
DISOPROXIL FUMARATE**

Nguyen Dinh Ung^{1}, Le Van Nam², Nguyen Hong Thang²
Nguyen Trong Chinh², Ho Huu Tho¹*

Abstract

Objectives: To determine the changes in serum HBV RNA levels in treatment-naïve chronic hepatitis B (CHB) patients who were treated with Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF). **Methods:** 77 treatment-naïve CHB patients were treated with long-term TDF monotherapy at the Department of Infectious Diseases, Military Hospital 103, Vietnam Military Medical University from 2017 to 2020. Samples were collected at several time points: At the baseline, after 3, 6, 9, and 12 months of TDF treatment. Serum HBV DNA and HBV RNA levels were quantified by the Real Time RT-PCR method. Statistical analyses were performed with Medcalc 20.019. **Results:** Serum HBV RNA levels tended to decrease during the TDF treatment in a biphasic pattern. In the first phase, from baseline to 3 months of treatment, HBV RNA levels decreased rapidly (the median slope of the decrease was 0.38 log copies/mL/month). In the second phase, from 3 - 12 months of treatment, serum HBV RNA levels decreased more slowly than in the first phase (the median slope of the decrease was 0.09 log copies/mL/month; $p < 0.05$). Serum HBV RNA levels decreased more slowly than serum HBV DNA levels in the first phase, but there was no significant difference in the second phase ($p > 0.05$). **Conclusion:** Serum HBV RNA levels decreased in a biphasic pattern with a different slope during TDF treatment. Serum HBV RNA levels decreased more slowly than HBV DNA and may complement this marker in the assessment of treatment outcomes and prognosis for chronic hepatitis B.

Keywords: Chronic Hepatitis B (CHB); HBV pgRNA.

¹Vietnam Military Medical University

²Military Hospital 103, Vietnam Military Medical University

*Corresponding author: Nguyen Dinh Ung (dr.ungd4.vmmu@gmail.com)

Date received: 21/4/2023

Date accepted: 30/5/20203

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.356>

INTRODUCTION

Hepatitis B virus (HBV) can cause asymptomatic infections and dangerous complications, such as decompensated liver disease, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma [1]. In 2019, it was estimated that about 4.1% of the global population (284 - 351 million people) is chronically infected with HBV, and approximately 555,000 (487,000 - 630,000) deaths were due to diseases related to HBV [2]. Vietnam is one of the countries with a high prevalence of HBV, with about 6.6% of the population with chronic HBV infection [2]. Globally, about 42% of cirrhotic patients have chronic HBV infection. In Vietnam, the rate was about 35% [3]. The above data proved that chronic HBV infection had been a global health problem and a huge burden on the health of our country.

However, the current treatment for CHB virus still has many problems. To date, antiviral regimens have not been able to completely cure CHB, and when the drug was stopped, HBV rapidly reactivated in the peripheral blood of the patient [4]. Unfortunately, tests based on current HBV markers (HBV DNA, HBeAg, and HBsAg) are not effective in predicting important

treatment outcomes, such as virological response or HBeAg seroconversion [5]. Serum HBV DNA levels were rapidly decreased during the new-generation Nucleos(t)ide analogues (NAs) treatment, such as Tenofovir or Entecavir. HBsAg was often redundantly synthesized from both cccDNA (covalently closed circular DNA) and the integrated gene of the patient genome. The above problems reduce the role of HBV DNA and HBsAg in predicting treatment response and the prognosis of complications [6].

HBV pregenomic RNA (HBV pgRNA) was transcribed directly from cccDNA in infected hepatocytes, serving as a template for the reverse transcriptase to synthesize the DNA minus strand of HBV. Several recent studies have reported that HBV pgRNA is released into the peripheral blood of CHB patients and may be a potential biomarker for early prognosis of HBeAg seroconversion better than serum HBV DNA and HBsAg levels [5]. In addition, the presence of HBV pgRNA in peripheral blood has been shown to be associated with viral reactivation after NAs discontinuation [7]. So far, there has been no consensus on changes in serum HBV

RNA levels during the NAs treatment. Therefore, we conducted this study to: *Evaluate the changes in serum HBV RNA levels during the tenofovir treatment as a basis for further studies on the role of this promising biomarker in the clinical application as well as in the management of HBV infection in the community.*

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

77 treatment-naïve CHB patients were treated at the Department of Infectious Diseases, Military Hospital 103, Military Medical University from 2017 to 2020.

* *Inclusion criteria:* Based on the Guidelines for the diagnosis and treatment of CHB of the Ministry of Health in 2019 [8], including: Patients who were diagnosed with CHB; Patients who were treatment-naïve of NAs; Patients who received monotherapy with TDF; Patients who consented to participate in the 12-month follow-up study.

* *Exclusion criteria:* Pregnant and lactating women, children under 15 years of age; Patients who had severe liver-related complications, such as cirrhosis or liver cancer;

Patients with co-infection with human immunodeficiency (HIV) or hepatitis C virus (HCV); Patients who received therapy with any NAs; Patients who did not comply with treatment.

2. Methods

* *Study design:* A prospective cohort study.

Patients were followed up within 12 months with several times of collecting peripheral blood samples: At the baseline, after 3, 6, 9, and 12 months of TDF treatment.

* *Standard laboratory assessments:*

Serum HBV DNA levels were quantified using the Realtime Sacycler 96/HBV Real-TM Quant Dx. The limit of quantification of this assay was 30 copies/mL, a conversion factor of 1.7 copies per IU and a linear range from 30 copies/mL - 10⁸ copies/mL. The presence of serum HBeAg was measured using an immunoassay on the COBAS E411 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany; Elecsys[®] HBeAg; Analytical sensitivity was 0.3 IU/mL).

* *Quantification of serum HBV RNA levels:*

The levels of HBV RNA were detected by a quantitative one-step

real-time polymerase chain reaction in the Rotor-Gen Q system (QIAGEN, Germany) with a TaqMan[®] probe method. The primers and probe used to detect HBV RNA were as follows: forward primer: 5'- GCCAAAATTCGCAGTCCC-3'; reverse primer: GCCACTCATCAGTCAGCAGGATG; probe: FAM-CGCTGGATGTGTCTGCGGCGT-BHQ1. The real-time PCR mixture (40 µL) contained 8µL of 5x HTOne Ultra RT-qPCR Probe master mix (HT Biotec, Vietnam), 2µL forward primer (10µM), 2µL reverse primer (10µM), 0.8µL probe (10µM), 15.2µL DEPC water, and 12µL template. The thermal cycling program included 10 min at 50°C for reverse transcription, 15 min at 95°C for initial denaturation, and 45 cycles of 15s at 94°C for denaturation, 30s at 63°C for annealing, and 30s at 72°C for extension. A positive control and a non-template control were included in each PCR assay tested. Primers and probes for quantification of HBV pgRNA were designed for the conserved region of the S gene. The reverse primer for quantification of

HBV pgRNA contains a 10-nucleotide sequence at the 3' end that is specific for the HBV genome and further contains a 5' tail of unrelated sequence (underlined). The limit of quantification of this assay was 100 copies/mL.

** Antiviral Drug:*

All patients in this study received Tenofovir Disoproxil Fumarate (Savi Tenofovir 300, SAVIPHARM J.S.C), with a dose of 300 mg daily, continuously for 12 months. After that, patients continued to take the drug as prescribed by the clinician.

** Statistical analysis:*

Results of HBV DNA quantification that were negative or below the limit of detection were converted to 30 copies/mL for statistical analysis, while results of HBV RNA quantification that were negative or below the limit of detection were converted to 100 copies/mL. Statistical analyses were performed using MedCalc version 20.019 (MedCalc Software Ltd, Ostend, Belgium).

3. Ethics

This study was approved by the Ethics Committee of Vietnam Military Medical University (No. 780/QĐ-HVQY, March 28 2018).

RESULTS AND DISCUSSION

* *Characteristics of participants:*

Table 1. Characteristics of participants' age.

Gender	n	Median (IQR)**	p*
Female	10	46.50 (34.00 - 55.00)	0.08
Male	67	34.00 (29.00 - 47.00)	
Total	77	36.00 (30.75 - 49.25)	

* *Mann-Whitney test;* ** *Median (Interquartiles)*

As table 1 shows, the median age of participants in the study was 36 years old, which was the main working age in society. The ages between the male and female groups did not show a statistically significant difference ($p = 0.08 > 0.05$).

Table 2. Characteristics of serum HBV DNA levels during the treatment.

Time points (months)	Serum HBV DNA levels (log copies/mL) Median (IQR)			p*
	Baseline HBeAg negative group	Baseline HBeAg positive group	Total	
Baseline	n = 34 5.89 (4.34 - 6.47)	n = 43 6.99 (5.97 - 7.60)	n = 77 6.39 (5.42 - 7.44)	0.001
3	n = 27 2.63 (2.18 - 3.11)	n = 36 3.43 (2.70 - 4.28)	n = 63 3.12 (2.44 - 3.76)	0.002
6	n = 25 1.48 (1.48 - 1.49)	n = 34 1.50 (1.46 - 2.23)	n = 59 1.48 (1.48 - 2.15)	0.46
9	n = 24 1.46 (1.46 - 1.48)	n = 27 1.48 (1.46 - 2.30)	n = 51 1.46 (1.46 - 1.48)	0.25
12	n = 23 1.48 (1.46 - 1.48)	n = 27 1.48 (1.46 - 2.13)	n = 50 1.48 (1.46 - 1.93)	0.14

* *Mann-Whitney test*

As table 2 shows, serum HBV DNA levels tended to decrease during treatment, corresponding to the virological response of patients to antiviral drugs.

In addition, only at the baseline and after 3 months of treatment was there a difference in serum HBV DNA levels between the two groups with or without HBeAg at the baseline ($p < 0.05$). In contrast, after 6, 9, and 12 months of treatment, there was no statistically significant difference in serum HBV DNA levels between the two groups with or without HBeAg at the baseline ($p > 0.05$).

Table 3. Characteristics of serum HBV RNA levels during the TDF treatment.

Time points (months)	Serum HBV RNA levels (log copies/mL) Median (IQR)			p*
	Baseline HBeAg negative group	Baseline HBeAg positive group	Total	
Baseline	n = 34 4.13 (2.50 - 5.21)	n = 43 5.34 (3.59 - 6.93)	n = 77 4.97 (3.03 - 6.02)	0.003
3	n = 27 3.01 (2.00 - 3.99)	n = 36 3.30 (2.59 - 4.34)	n = 63 3.10 (2.21 - 4.07)	0.14
6	n = 25 2.77 (2.00 - 3.32)	n = 34 2.89 (2.00 - 3.89)	n = 59 2.79 (2.00 - 3.68)	0.12
9	n = 24 2.00 (2.00 - 2.80)	n = 27 3.01 (2.00 - 4.02)	n = 51 2.41 (2.00 - 3.49)	0.02
12	n = 23 2.00 (2.00 - 2.00)	n = 27 2.00 (2.00 - 3.88)	n = 50 2.00 (2.00 - 3.05)	0.02

* *Mann-Whitney test*

As shown in table 3, serum HBV RNA levels gradually decreased during treatment, corresponding to the clinical response to antiviral drugs. In addition, serum HBV RNA levels were higher in the baseline HBeAg-positive group compared with the baseline HBeAg-negative group at the baseline; after 9 and 12 months of treatment, there was statistical significance ($p < 0.05$). In contrast, there was no statistically significant difference in serum HBV RNA levels between the two groups after 3 and 6 months of treatment (all $p > 0.05$).

Table 4. The change of serum HBV RNA level during the TDF treatment.

Phases	Slope of the decrease of serum HBV RNA levels (log copies/mL/months) (Median - IQR)	p
From baseline to 3 rd months (1)	0.38 (0.10 - 0.63)	
From 3 rd to 6 th months (2)	0.06 (0.00 - 0.22)	*p ⁽¹⁾⁻⁽²⁾ < 0.0001
From 6 th to 9 th months (3)	0.02 (0.00 - 0.22)	*p ⁽¹⁾⁻⁽³⁾ < 0.0001 *p ⁽¹⁾⁻⁽⁴⁾ < 0.0001 **p ⁽²⁾⁻⁽³⁾⁻⁽⁴⁾ = 0.69
From 9 th to 12 th months (4)	0.00 (0.00 - 0.15)	*p ⁽¹⁾⁻⁽⁵⁾ < 0.0001
From 3 rd to 12 th months (5)	0.09 (0.00 - 0.19)	

As table 4 shows, the slope of the decline of serum HBV RNA levels gradually decreased during treatment. Phase (1) from baseline 3rd months had the fastest rate of decrease in serum HBV RNA levels (median slope = 0.38 log copies/mL/month), faster than the remaining phases (p < 0.0001). Phase (2): From 3rd - 6th (0.06 log copies/ml/month); phase (3): From 6th - 9th (0.02 log copies/mL/month); phase (4): From 9th - 12th (0.00 log copies/mL/month). There was no difference in the slope of the decrease in serum HBV RNA levels (p⁽²⁾⁻⁽³⁾⁻⁽⁴⁾ > 0.05). When combining phases (2), (3), and (4) into a single phase, the slope of decline in serum HBV RNA levels in this phase was significantly different from that in phase (1) (0.09 vs log copies/mL/month; p < 0.0001).

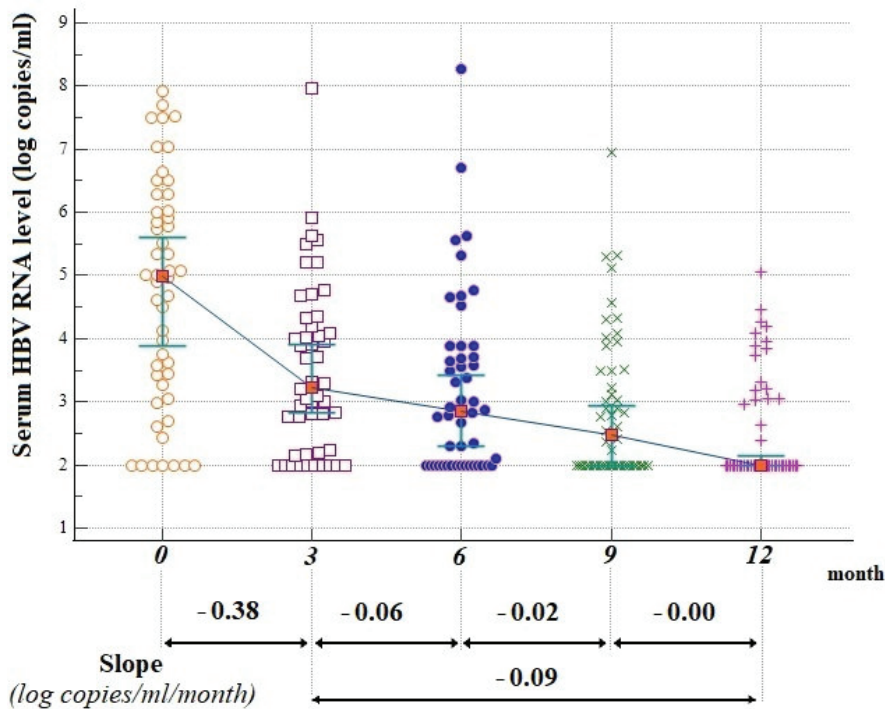


Figure 1. The model of the biphasic pattern of serum HBV RNA levels during TDF treatment.

As figure 1 shows, the change of serum HBV RNA levels over time of treatment was a reduction pattern with a biphasic form: The first phase from the baseline to after the 3rd month of treatment, and the second phase from the 3rd - 12th month of treatment. Recently, some authors have also published reports describing the biphasic decline in serum HBV RNA levels [9]. Accordingly, in 76 HBeAg-positive CHB patients who received Telbivudine and/or Adefovir, the decline in serum HBV RNA levels during NAs was biphasic: In the first phase (serum HBV DNA detectable), serum HBV

RNA levels were decreased rapidly (median of the slope was 0.207 log copies/mL/month, IQR 0.402 log to 0.112 log), and in the second phase (serum HBV DNA was undetectable), serum HBV RNA levels decreased slowly (median of the slope was 0.071 log copies/mL/month; IQR: 0.105 log to 0.039 log). However, the junction between the two phases was defined as the first time when serum HBV DNA was undetectable. This difference may be due to the fact that all patients in our study were treated with TDF, which had a better antiviral effect than Telbivudine and Adefovir [10].

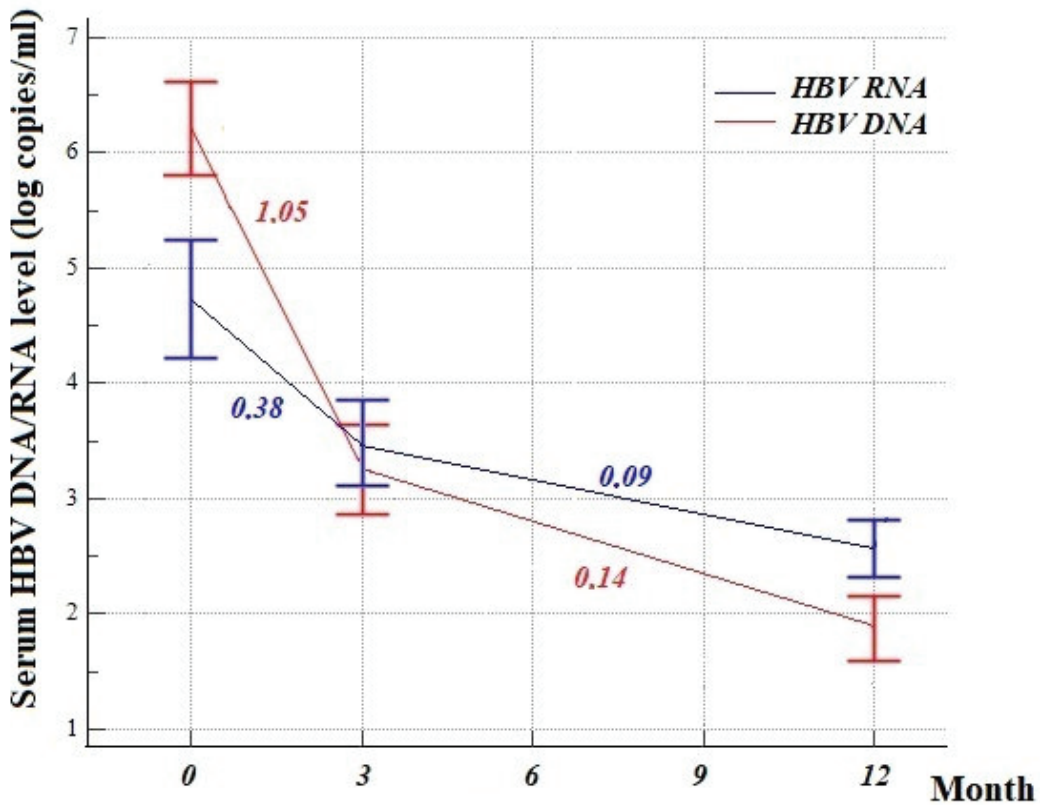


Figure 2. Comparison of the slope of decline between serum HBV DNA and HBV RNA levels during the TDF treatment.

According to figure 2, in the first phase, serum HBV DNA levels decreased significantly faster than serum HBV RNA levels ($p < 0.05$). In contrast, in the second phase, the rate of decrease in levels of these two markers was similar ($p > 0.05$). This result has also been reported in the publication of L. Jansen et al. 2016 [11]. Accordingly, serum HBV DNA and HBV RNA levels were quantified in the serum of 10 CHB patients who were treated with NAs for a period of 120 weeks.

Serum HBV RNA levels decreased less than the serum HBV DNA levels, and mean HBV RNA levels were significantly higher than HBV DNA levels during all time points of the treatment. At 120 weeks of follow-up, 7 of 10 patients had HBV DNA levels below the limit of detection, while only 1 of 10 patients had low HBV RNA levels below the limit of detection (mean \pm standard error of the mean, 2.0 ± 0.1 vs 3.4 ± 0.4 log₁₀ copies/mL, respectively; $p = 0.002$).

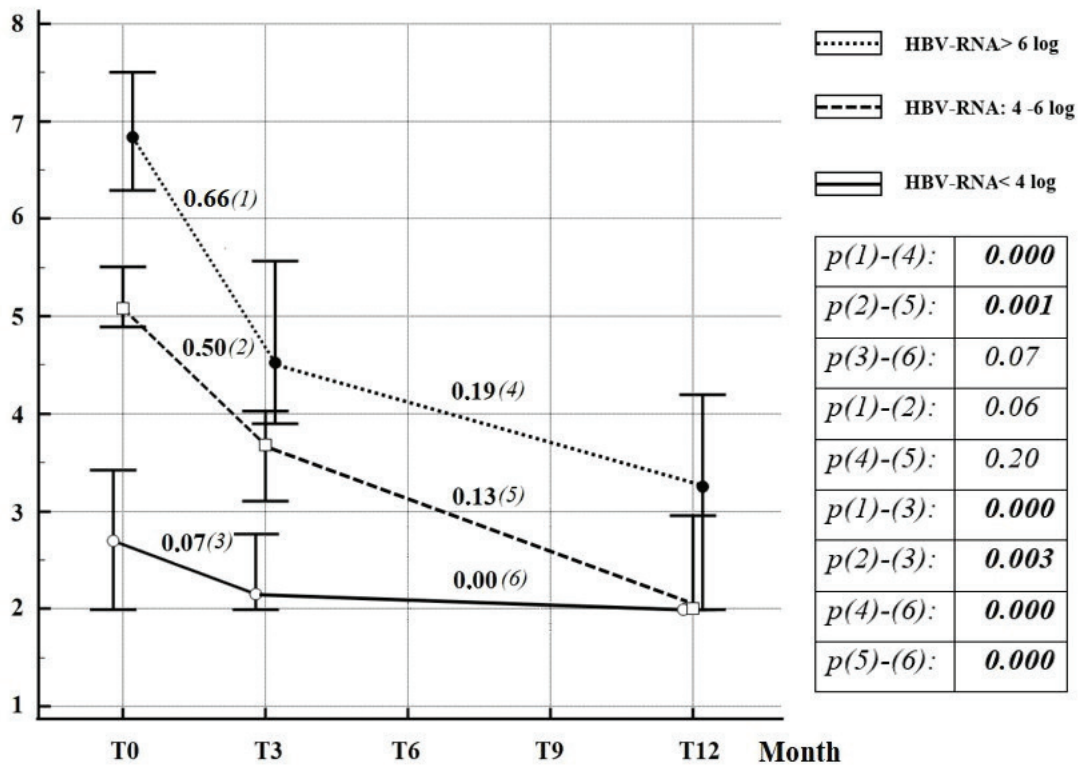


Figure 3. Model of the decline of serum HBV RNA levels, grouped by baseline serum HBV RNA levels.

Based on baseline serum HBV RNA levels, patients were divided into three groups: Group with high serum HBV RNA levels (> 6 log copies/mL); group with moderate serum HBV RNA levels (4 - 6 log copies/mL); and group with low serum HBV RNA levels (< 4 log copies/mL).

As figure 3 shows, the pattern of reduction of serum HBV RNA levels over time of treatment had a clear biphasic pattern in the baseline high serum HBV RNA level group (> 6 log copies/mL, $p^{(1)-(4)} = 0.000 < 0.05$) and the baseline medium serum HBV RNA level group (4 - 6 log copies/mL; $p^{(2)-(5)} = 0.001 < 0.05$). Meanwhile, the group of patients with low serum HBV

RNA levels (< 4 log copies/mL) did not separate into distinct phases ($p^{(3)-(6)} = 0.07 > 0.05$). In addition, there was no statistically significant difference in the rate of reduction of serum HBV RNA levels in the two groups with high and medium baseline serum HBV RNA levels (all $p > 0.05$). While patients in the two groups above had a faster decrease in serum HBV

RNA levels at all phases compared with the group with low serum HBV RNA levels ($p < 0.05$).

In a retrospective study published in 2021 on 185 CHB patients who received at least two consecutive years of treatment with entecavir, I-chin Wu et al. also provided an alternative approach to the pattern of decline in serum HBV RNA levels in response to ETV treatment [12]. The author subgroups patients based on baseline serum HBV RNA levels into three groups with high, moderate, and low levels (≥ 6 log; 4 log \leq & < 6 log; < 4 log). The findings of the study indicate that the group with high baseline levels of HBV pgRNA demonstrated a significant reduction within the first 3 months, followed by minimal variation thereafter. In the group with moderate levels, serum HBV pgRNA levels decreased slowly during the 12th month of treatment and stabilized thereafter. In contrast, in the group with low levels, serum HBV pgRNA levels increased after 3 months and then stabilized. Compared with the group with moderate and low HBV pgRNA levels, the group with high baseline HBV pgRNA levels had higher serum HBV pgRNA levels not only at baseline but also after the 12th and 60th month of treatment. At 3 months, the group with high and moderate HBV

pgRNA levels always had higher HBV pgRNA levels than the group with low HBV pgRNA levels. At 6 months, the same was true for the group with high levels of HBV pgRNA, while there was no significant difference in serum HBV pgRNA levels between the low and medium groups at the 6th, 12th, and 60th months of treatment. Meanwhile, serum HBV DNA levels in groups divided by HBV pgRNA concentration all had a rapid decrease after 3 months, then the trend decreased gradually. There was no significant difference in HBV DNA levels in 3 groups at the 3rd, 6th, 12th, and 60th months.

The results of our study and those of I-chin Wu et al. both showed a biphasic decline of serum HBV RNA levels in the peripheral blood of patients with CHB treated by NAs as well the time of intersection between the two phases of the decline in serum HBV RNA levels was after 3 months of treatment. However, the difference here was observed in the group with low baseline HBV RNA levels below 4 log copies/mL, which not only did not decrease levels after 3 months of treatment but even recorded an increase in serum HBV RNA levels and then stabilized in the second phase. Ichin Wu has suggested that this phenomenon is due to the inhibition of antiviral drugs on reverse transcription

from the HBV pgRNA template to create HBV DNA; thus, increasing the accumulation and leading to HBV pgRNA elevation in the patient's peripheral blood. However, an increase in peripheral blood HBV pgRNA levels was not observed in the group with moderate and high HBV pgRNA levels. While the decline in serum HBV DNA levels after 3 months of treatment was also noted by the author to be very rapid, suggesting the accumulation of HBV pgRNA also increased correspondingly (due to not participating in the reverse transcriptase process, which was inhibited by the drug). Further investigation is required to clarify the differences in peripheral blood HBV pgRNA levels among patients with chronic hepatitis B who received nucleoside/nucleotide analogue therapy for three months. Specifically, the study should focus on comparing patients with moderate and high levels of HBV pgRNA with those exhibiting low levels of the virus.

CONCLUSION

The study found that treating CHB patients with TDF led to a biphasic decline in serum HBV RNA levels. The first phase of decline was more rapid than the second phase. Because serum HBV RNA levels decreased more slowly than serum HBV DNA

levels, the results suggest that HBV RNA has the potential as a marker in times of undetectable HBV DNA under the antiviral inhibition of nucleos(t)ide analogues. These findings represented a significant step towards understanding the clinical application of serum HBV RNA levels in CHB patients in both general and specific contexts in Vietnam. Future studies are needed to further investigate the clinical utility of this marker.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was carried out with funding from the Hanoi Department of Science and Technology under project code 01C-0808-2017-3. We extend our sincere gratitude to Mr Pham Van Quyen, Ms Vu Nguyen Quynh Anh (Department of Genomics and Cytogenetics, Institute of Biomedicine and Pharmacy, Vietnam Military Medical University) and Ms Do Thi Le Quyen (Department of Infectious Diseases, Military Hospital 103) for their invaluable assistance.

REFERENCES

1. Yun-Fan Liaw and Chia-Ming Chu. "Hepatitis B virus infection". *The Lancet*. 2009; 373(9663):582-592.
2. Brittny S Sheena et al. Global, regional, and national burden of hepatitis B, 1990-2019: A systematic

analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2022; 7(9):796-829.

3. Catharina J Alberts et al. Worldwide prevalence of hepatitis B virus and hepatitis C virus among patients with cirrhosis at country, region, and global levels: A systematic review. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2022.

4. Hariklia Kranidioti, Spilios Manolakopoulos, and Salim I Khakoo. Outcome after discontinuation of nucleos(t)ide analogues in chronic hepatitis B: Relapse rate and associated factors. *Annals of Gastroenterology: Quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*. 2015; 28(2):173.

5. Florian van Bömmel et al. Serum hepatitis B virus RNA levels as an early predictor of hepatitis B envelope antigen seroconversion during treatment with polymerase inhibitors. *Hepatology*. 2015; 61(1): 66-76.

6. European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *Journal of Hepatology*. 2012; 57(1): 167-185.

7. Jie Wang et al. Serum hepatitis B virus RNA is encapsidated pregenome

RNA that may be associated with persistence of viral infection and rebound. *Journal of Hepatology*. 2016; 65(4):700-710.

8. Bộ Y tế. Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh viêm gan vi rút B. 2019.

9. Shi Liu et al. Factors associated with the biphasic kinetics of serum HBV RNA in patients with HBeAg - positive chronic hepatitis B treated with nucleos(t)ide analogues. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2020; 52(4):692-700.

10. M-C Tsai et al. Comparison of renal safety and efficacy of telbivudine, entecavir and tenofovir treatment in chronic hepatitis B patients: Real world experience. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016; 22(1):95. e1-95. e7.

11. Louis Jansen et al. Hepatitis B virus pregenomic RNA is present in virions in plasma and is associated with a response to pegylated interferon alfa-2a and nucleos(t)ide analogues. *The Journal of Infectious Diseases*. 2016; 213(2):224-232.

12. I-Chin Wu et al. Clinical implications of serum hepatitis B virus pregenomic RNA kinetics in chronic hepatitis B patients receiving antiviral treatment and those achieving HBsAg loss. *Microorganisms*. 2021; 9(6):1146.

SHORT-TERM SURGICAL OUTCOMES IN PATIENTS WITH DRUG-RESISTANT EPILEPSY DUE TO LESIONAL TEMPORAL LOBE

*Tran Dinh Van^{1,2}, Dong Van He²
Vu Van Hoe¹, Nguyen Thanh Bac^{1*}*

Abstract

Objectives: To describe the outcome of 35 cases of drug-resistant epilepsy due to the lesional temporal lobe surgery at Vietduc University Hospital from May 2018 to September 2022. **Methods:** A prospective description combined with retrospective, longitudinal follow-up of all patients diagnosed with drug resistance due to lesional temporal lobe epilepsy undergoing surgery at Vietduc University Hospital was conducted. **Results:** 35 cases of intractable lesional temporal lobe epilepsy surgery, male/female 1.5/1, partial seizures with loss of consciousness accounted for 99%, and 2/3 of cases occurred without aura. Seizure-free (post-operation 1 month) (Engel I) accounted for 74.3%, and the remaining (25.7%) had improved seizures (Engel 2, 3). Complications after surgery accounted for 17.1%, and there were no cases of death. **Conclusion:** Surgical treatment for drug resistance due to lesional temporal lobe epilepsy is safe and very effective, with a low complication rate.

Keywords: Selective amygdalohippocampectomy; Lesionectomy; Low-income; Temporal mesial sclerosis; Vietduc University Hospital; Temporal lobe epilepsy.

INTRODUCTION

Epilepsy is one of the most common nervous system diseases affecting people of all ages and sexes in the world in general and Vietnam in particular. The prevalence of drug-resistant epilepsy

accounts for 20 - 30% of all people with epilepsy. Temporal lobe epilepsy (TLE) is the most common type of adult epilepsy, accounting for 80% of cases and has the highest rate of drug resistance, often necessitating surgery [1].

¹Department of Neurosurgery, Vietnam Military Medical University

²Neurosurgery Center, VietDuc University Hospital

* Corresponding author: Nguyen Thanh Bac (bacnt103@gmail.com)

Date received: 27/4/2023

Date accepted: 03/6/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.362>

The definition of a patient with drug-resistant epilepsy is one who failed adequate trials of at least two tolerated, appropriately chosen, and used antiepileptic drug schedules (as monotherapies or in combination) to achieve sustained seizure freedom and was diagnosed with drug-resistant epilepsy, as per the definition of ILAE (International League Against Epilepsy) [2]. TLE represents the majority of the partial symptomatic. Seizure types in TLE include simple partial, complex partial, and secondarily generalized seizures. Temporal lobe seizures most often arise in the amygdalo-hippocampal region. More than 90% of patients with mesial TLE report an aura, most commonly an epigastric sensation that often has a rising character. Temporal lobe seizures are usually stereotypic in their symptoms and duration. Patients with TLE often show impairments in attention, memory, mental processing speed, executive functions, mood, personality, and drive-related behaviors. Interictal depression occurs in approximately one-third of TLE patients. TLE is diagnosed by a history of characteristic partial seizure symptoms. The diagnosis is confirmed by the capture of a typical episode during an electroencephalogram (EEG) with epileptiform activity over one or both temporal regions. TLE is

treated with medications, resective surgery, and vagus nerve stimulation (VNS). Epilepsy surgery should be considered in all patients with refractory epilepsy. Meanwhile, VNS provides palliation of seizure reduction for patients with medically refractory epilepsy. This is an expensive treatment used in high-income countries. VNS is indicated for symptomatic localization-related epilepsy with multiple and bilateral independent foci, symptomatic generalized epilepsy with diffuse epileptogenic abnormalities, refractory idiopathic generalized epilepsy, failed intracranial epilepsy surgery, and several other reasons for contraindications to epilepsy surgery.

Vietnam is a low-middle-income country in the ASEAN organization with a population of 99 million people. [3]. The incidence of epilepsy in Vietnam is 4.4 per 1,000 people (95% confidence interval (CI) 30.6 - 590). On meta-analysis reported that the incidence was four times higher in Vietnam than in Singapore (0.75 per 1,000 people, 95%CI 0.73 - 0.77). However, the epilepsy incidence in Vietnam is quite similar to that of the US (4.61 per 1,000 people, 95%CI 4.34 - 4.9) [3]. Epilepsy treatment in Vietnam is not paid enough attention, and the treatment gap is still large. Epilepsy surgery and multidisciplinary

collaboration were unavailable. The epilepsy surgery program in the neurosurgery center of Vietduc University Hospital started in 2015, includes TLE surgery, callosotomy, and endoscopic hamartoma hypothalamus [4]. Epilepsy surgery has since proliferated in Vietduc University Hospital, National Children's Hospital, as well as Ho Chi Minh University of Medicine and Pharmacy Hospital. This manuscript was conducted with aim: *To describe the clinical characteristics and early outcomes of surgery for drug-resistant epilepsy due to the lesional temporal lobe in Vietduc University Hospital.*

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

35 cases of surgical treatment for drug-resistant due to lesional temporal lobe epilepsy at Viet Duc University Hospital from 5/2018 - 9/2022.

* *Inclusion criteria:* Semiology of drug-resistant epilepsy followed by definition of ILAE, IRM finds a lesional temporal lobe, and/or interictal EEG finds epileptic waves concordant on the same side. Post-operatively, patients receive a clinical examination, EEG, and post-operative cranial IRM

post-operative 1 month, 6 months, and 1 year.

* *Exclusion criteria:* Extratemporal lobe epilepsy, bi-temporal lobe epilepsy, a responsible anti-epileptic drug, semiology-EEG-IRM unconcordant, multi-lesion.

2. Methods

* *Study design:* A combination of a retrospective review and a prospective follow-up study.

* *Same size and same selection:* Convenient sample selection, apply the formula for calculating sample size for interventional studies before and after surgery as follows [6, 7]:

$$n = \frac{2 \times C \times (1-r)}{(ES)^2}$$

$C = (Z\alpha/2 + Z\beta)^2$ with error $\alpha = 0.01$, $\beta = 0.20$, then $C = 13.33$, and r is the correlation coefficient between the two evaluations, choose this coefficient as 0.7. ES is the unknown influence factor. Based on a meta-analysis study by Joudi Mashhad (2020) [5], the coefficient of influence from many post-surgery evaluation studies of epilepsy by Binder (2009), Dunkley (2010), Jorgwellmer (2012) and Orio (2017) are 0.48; 0.57; 0.5; 0.78, respectively. Choosing the influence

coefficient according to author Binder (2009) is 0.57. Calculated sample size $n = [2 \times 13.33 \times (1 - 0.7)] / (0.57)^2 = 24$. With an estimated loss rate of 10%, we have to choose: $24 / 0.9 = 26$ patients.

* *Research tools and techniques for collecting information:* All patients were operated on by the primary author at Vietduc University Hospital between 5/2018 and 9/2022. We evaluated clinical factors, EEG, IRM, surgical outcomes, and histopathology.

Preoperative assessment:

Each patient received a 3 Tesla cranial magnetic resonance imaging according to ILAE protocol [6], 32-channel scalp EEG with 30 minutes minimum electroencephalogram recording, memory assessment on the Weschler scale, and a quality-of-life assessment according to the short set of questions with the SF-36 were performed.

Indication of SAH technique: Hippocampal sclerosis on IRM

Indication of lesionectomy technique: Tumor, dysplasia on IRM

Post-operatively, patients receive a clinical examination, electroencephalography, and post-operative cranial magnetic resonance imaging, surgical outcomes were classified according to the Engel classification (Engel, 1993) at 1 month, 6 months, and 1 year.

* *Data processing:* The Chi-square test was used for dichotomous variables, and T-test was used for continuous variables.

3. Research ethics

Formal consent was obtained from all participants, and IRB approval was obtained number 178/2021/CNChT-HĐĐĐ, August 20, 2021 by Military Hospital 103's IRB.

RESULTS

Table 1. The demographic of the subject of study.

Character	Quantity (%)
Sex	Male 22 (62.9)
	Female 13 (37.1)
Age group	< 10 3 (8.6)
	10 - 19 11 (31.4)
	20 - 29 12 (34.3)
	30 - 39 9 (25.7)
	> 40 0

Character	Quantity (%)	
Age of onset of seizures	< 10	20 (57.1)
	10 - 19	11 (31.4)
	20 - 29	3 (8.6)
	30 - 39	1 (2.9)
	> 40	0
Hospital stay (day)	< 7	6 (17.1)
	7 - 14	23 (65.7)
	15 - 30	5 (14.3)
	> 30	1 (2.9)
Number of seizures/months before surgery (median, IQR)	12 (2 - 150)	

The demographic and clinical characteristics of our 35-patient cohort are listed in (Table 1). The male-to-female ratio was approximately 1.5:1. All patients were under 40 years old, with 10 to 29 years old accounting for most patients (65.7%). The age of onset was typically under 10 years of age (57.1%). Patients had an average of 12 seizures per month. The hospital stay was typically 1 - 2 weeks (65.7%), and only 1 patient had a 31-day hospital stay for meningitis treatment and made a full recovery.

Table 2. Drug-resistant temporal seizure characteristics table.

Seizure characteristics	Quantity (%)	
Focal and aware	1 (2.9)	
Focal, Impaired awareness, non-motor onset (absence)	12 (34.3)	
Focal, impaired awareness, motor symptoms	22 (62.8)	
Generalized seizures	0	
Onset	Auras	14 (40)
	No Auras	21 (60)

All seizures were focal, with all but 1 case associated with impaired awareness. 40% of patients had auras.

Table 3. Relationship between age-subgroup of seizure onset and age-subgroup of operation.

Age-subgroup of operation (years old)		< 10	10 - 19	20 - 29	30 - 39	p
Age-subgroup of seizure onset (years old)	< 10	100	90.9	33.3	33.3	0.037
	10 - 19	0	9.1	50	44.4	
	20 - 29	0	0	16.7	11.1	
	30 - 39	0	0	0	11.1	

Age-subgroup of operation and age-subgroup of seizure onset have a statistically significant relationship with a p-value < 0.05.

Table 4. Surgical methods for treating drug-resistant epilepsy.

Characteristics	Quantity (%)
Selective amygdalohippocampectomy (SAH)	18 (51.4)
Lesionectomy	17 (48.6)
Units of blood transfusion peroperation (0 unit)	35 (100)
Units of blood transfusion peroperation (1 - 2 units)	0
Total operating time < 4 hours	17 (48.6)
Total operating time 4 - 6 hours	18 (51.4)
Meningitis post-operation	3 (8.5)
Soft tissue infections post-operation	2 (5.7)
Focal paralysis post-operation	1 (2.9)
Death	0

Selective amygdalohippocampectomy was undergone in 51.4% of cases that localized to the mesial temporal lobe. Lateral/neocortical lesions underwent lesionectomy (48,6%). The duration of surgery less than 4 hours was encountered in 48.6% of cases. No blood transfusions were needed. There were 6 postoperative complications (17.1%): Meningitis (8.5%), transient focal paralysis (2.9%), and soft tissue infection (5.7%). There were no mortalities.

Table 5. Pathological results.

Pathological results	Quantity (%)
Hippocampal sclerosis	17 (48.6)
Focal cortical dysplasia	9 (25.7)
Ganglioglioma	7 (20)
DNET (dysembryoplastic neuroepithelial tumor)	2 (5.7)

Pathological results showed hippocampal sclerosis (48.6%), focal dysplasia (25.7%), and low-grade glioma (25.7%).

Table 6. Classification of post-operative seizures.

Engel outcome scale	Number of patients	Ratio (%)
Free of disabling seizures (Class I)	26	74.3
Rare disabling seizures (Class II)	8	22.9
Worthwhile improvement (Class III)	1	2.8
No worthwhile improvement (Class IV)	0	0
Total	35	100

After surgery, 74.3% achieved Engel I seizure freedom. The remaining cases had diminished but still presented seizures (25.7%).

Table 7. Seizure frequency pre-operation and post-operation 1 month.

Seizure frequency (per month)	n	Medium	SD	Median	p
Pre-operation	35	65.1	94.3	12	< 0.0001
Post-operation	35	7.3	35.6	0	

The seizure frequency post-operation was significantly reduced with $p < 0.05$.

DISCUSSION

This study presents a cohort of 35 patients who underwent selective amygdalohippocampectomy or temporal lesion resection with significantly improved post-operative seizure control and minimal complications, despite being

in a low-resource environment. The results of post-operative seizure control (74.3%) are entirely consistent with similar temporal lobe surgery cohorts reported in the literature in high-income countries. It is similar to Yaşargil (2010) and Wei Li (2019).

Table 8. Engel outcome scale.

Authors	Number of patients	Surgical approach	Engel I
Tran Dinh Van (2023)	35	SAH (18) Lesionectomy (17)	74.3% (post-operation 1 month)
Wei Li. [7] (2019)	131	Temporal lobe surgery	78.6% (post-operation 12 months)
Mario A. Alonso Vanegas [8] (2017)		Review from series articles	65% - 69% (post-operation 12 months)
M. Gazi Yaşargil (2010) [9] (2010)	73	SAH	75.3% (post-operation 3 months)

Our overall complication rate of 17.1% was similar to other published series after drug-resistant TLE surgery [10]. However, there were a notable number of infections. Approximately 15% of infection rate: Three cases of meningitis and two soft tissue infections. These patients recovered well with conservative antibiotic treatment. The infection rate may represent difficulty with maintaining sterility in an operation room with drapes and surgical gowns that are repeatedly reused. This may explain why our infection rate was higher than

in typical high-income countries, for which post-operative meningitis accounted for 6.6% and superficial incisional infections accounted for 1%.

CONCLUSION

Short-term surgical outcomes were favorable for a large majority of patients, highly effective and safe temporal lobe epilepsy surgical care is possible. The data in our study reveal that similar favorable surgical outcomes are achieved which is comparable to that reported in developing countries.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors would like to express their sincerest thanks for the help of teamwork from Saintpétrié Hospital, Rennes Hospital, France, and Alabama Hospital, US.

REFERENCES

1. Engel JR J. Mesial Temporal Lobe Epilepsy: What have We Learned? *The neuroscientist*. 2001; 7(4).
2. Kwan P, Arzimanoglou A, Berg AT, et al. Definition of drug resistant epilepsy: Consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies. *Epilepsia*. 2010; 51(6):1069-1077. doi:10.1111/j.1528-1167.2009.02397.x.
3. Fiest KM, Sauro KM, Wiebe S, et al. Prevalence and incidence of epilepsy: A systematic review and meta-analysis of international studies. *Neurology*. 2017; 88(3):296-303. doi:10.1212/WNL.0000000000003509
4. Dong HV, Tran VD, Nguyen DH, et al. Successful Endoscopic Disconnection for Hypothalamic Hamartomas in a Child with Gelastic Seizures: An Unusual Case in a Resource-Scare Setting. *Int Med Case Rep J*. 2020; 13:425-429. doi:10.2147/IMCRJ.S265810.
5. Joudi Mashhad M, Harati H, Parooie F, Salarzaei M. Epilepsy surgery for refractory seizures: A systematic review and meta-analysis in different complications. *Egypt J Neurol Psychiatry Neurosurg*. 2020; 56(1):35. doi:10.1186/s41983-020-00168-1.
6. Wellmer J, Quesada CM, Rothe L, Elger CE, Bien CG, Urbach H. Proposal for a magnetic resonance imaging protocol for the detection of epileptogenic lesions at early outpatient stages. *Epilepsia*. 2013; 54(11):1977-1987. doi:10.1111/epi.12375
7. The experience of the multidisciplinary team in epilepsy management from a resource - limited country - PMC. Accessed April 26, 2023. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6398094/>.
8. Alonso Vanegas MA, Lew SM, Morino M, Sarmiento SA. Microsurgical techniques in temporal lobe epilepsy. *Epilepsia*. 2017; 58(S1):10-18. doi:10.1111/epi.13684.
9. Yaşargil MG, Krayenbühl N, Roth P, Hsu SPC, Yaşargil DCH. The selective amygdalohippocampectomy for intractable temporal limbic seizures. *J Neurosurg*. 2010; 112(1):168-185. doi:10.3171/2008.12.JNS081112.
10. Mathon B, Navarro V, Bielle F, et al. Complications after surgery for mesial temporal lobe epilepsy associated with hippocampal sclerosis. *World Neurosurg*. 2017; 102:639-650.e2. doi:10.1016/j.wneu.2017.03.128.

**STUDY ON THE TREATMENT RESULTS OF DECOMPRESSIVE
CRANIECTOMY IN SEVERE TRAUMATIC BRAIN INJURY
WITHOUT MASS LESION**

Vu Tri Hieu^{1,3}, Dong Van He², Bui Quang Tuyen³, Nguyen Thanh Bac^{3}*

Abstract

Objectives: To evaluate the treatment results of severe traumatic brain injury without intracranial hematoma by decompressive craniectomy. **Methods:** An uncontrolled intervention study on 45 patients with severe traumatic brain injury, no intracranial hematoma, high intracranial pressure above 20 mmHg, unresponsive to medical therapy, and operated decompressive craniectomy at Viet Duc University Hospital from May 2017 to December 2022. Research variables: Age, gender, cause of the accident, preoperative GCS, pulse and blood pressure before surgery, and CT images before and 3 months after surgery. Comparing treatment results between groups. **Results:** 45 patients were studied, including 42 males and 3 females; the oldest age was 78, and the lowest was 6 years old; traffic accidents accounted for the majority of 86.7%; daily-life accidents was 8.9%; GCS before surgery: 3 - 5 points (55.6%), GCS: 6 - 8 points (44.4%); GCS = 8 points (8.9%). The mean ICP was: 40.09 ± 10.37 mmHg. Results when patients were discharged: 9 patients were dead and 36 patients were alive. **Conclusion:** In the treatment results of decompression craniectomy on patients with a severe traumatic brain injury without intracranial hematoma, the mortality rate, vegetative state, and severe sequelae are still high.

Keywords: Decompression craniectomy; Traumatic brain injury without intracranial hematoma; Intracranial pressure.

¹Department of Neurosurgery, Hai Duong Provincial General Hospital

²Center for Neurosurgery, Viet Duc University Hospital

³Vietnam Military Medical University

*Corresponding author: Nguyen Thanh Bac (bacnt103@gmail.com)

Date received: 14/4/2023

Date accepted: 28/5/2023

<http://doi.org/10.56535/jmpm.v48i5.351>

INTRODUCTION

Traumatic brain injury was defined as severe when the Glasgow Coma Scale score ≤ 8 after initial emergency treatment, accounting for 28.3% of total traumatic brain injuries, with a mortality rate and severe sequelae of 36.6 - 80% [1]. According to the statistics of Viet Duc University Hospital, during 3 years (1995 - 1997), the mortality rate from traumatic brain injury accounted for 93% of the total number of deaths due to accidents and accounted for 3/4 of all deaths in the whole hospital. In 2005, the mortality rate due to severe traumatic brain injury was 64.3% [2, 3]. In 2003, the Intensive Care Unit at Military Central Hospital 108 treated 147 cases of severe traumatic brain injury, with 80% mortality and disability [4]. In the US, there are 1.6 million patients with traumatic brain injury annually, including 52,000 deaths, 90,000 cases with lifelong sequelae, and currently about 2% of the population (5.3 million people) living with sequelae of traumatic brain injury [5].

Increased intracranial pressure in severe traumatic brain injury, which causes decreased cerebral perfusion pressure and decreased oxygen supply to brain tissue, is the main cause of brain damage secondary to death or severe sequelae [5].

Indications for surgery to relieve brain compression, as well as surgical techniques, the timing of surgery, and prognostic factors in patients with severe traumatic brain injury are not yet agreed. Especially for patients with severe traumatic brain injury but small hematoma or no intracranial hematoma, mainly cerebral contusion and cerebral edema, despite intensive resuscitation treatment but unable to control the increase in intracranial pressure skull [6]. Therefore, we conducted this study: *To study the treatment results of decompressive craniectomy in patients with severe traumatic brain injury without intracranial hematoma.*

MATERIALS AND METHODS

1. Subjects

45 patients with severe traumatic brain injury who underwent decompressive craniectomy at the Center for Neurosurgery at Viet Duc University Hospital from May 2017 to December 2022

* *Inclusion criteria:* Patients who were diagnosed with severe traumatic brain injury before surgery (GCS score: 3 - 8); CT scans showed no intracranial hematoma or hematoma less than 20 grams; Measure intracranial pressure with Integra's

Camino instrument (intraparenchymal or intraventricular) with ICP > 20 mmHg after active medical therapy and indications for decompression craniectomy.

* *Exclusion criteria:* Decompression craniectomy without measuring ICP, no continuous ICP monitoring, no surgery; Hematoma and decompression craniectomy with hematoma > 20 grams, weak body, have many medical diseases associated with affecting anesthesia, resuscitation and evaluation of postoperative results; Patients who had a state of traumatic shock, multi-trauma patients with many serious injuries in addition to skull associated with traumatic brain injury; Patients who underwent surgery to release the brain compression elsewhere and transferred to Viet Duc University Hospital for further treatment; Patients with surgical release of brain compression in other cranial pathologies; Patients and family members do not agree to participate in research cooperation.

2. Methods

* *Study design:* A prospective descriptive study with no control intervention.

* *Sample size:* Use the following formula to calculate sample size:

$$n \geq \left(\frac{Z_{1-\alpha/2}}{d} \right)^2 \times p \times (1 - p)$$

n: The number of patients with severe severe traumatic brain injury requiring decompressive craniotomy surgery to be included in the study.

$Z_{1-\alpha/2}$: Limit value calculated from the normal distribution corresponding to the two-sided statistical significance level of the assigned error α . Statistical significance level $\alpha = 0.05$, so $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$.

d: The allowable error when estimating the mortality rate after surgery for severe traumatic brain injury, $d = 0.126$.

p: The mortality rate in patients with severe traumatic brain injury who underwent decompressive craniotomy. According to the study of Yuan Q. et al (2013), a 5-year study with $n = 164$, has a postoperative mortality rate of 22%. Using that ratio we have $p = 0.22$ and $1 - p = 0.78$.

Substitute the formula:

$$n \geq \left(\frac{1,96}{0,126} \right)^2 \times 0,22 \times (1 - 0,22) \rightarrow n \geq 41,5$$

The minimum study subjects were 42 patients. In this study, we performed 45 cases ($n = 45$).

* *Research process:*

An uncontrolled intervention study on 45 patients with severe traumatic

brain injury was treated at Viet Duc University Hospital. All patients underwent clinical examination, CT scan, intracranial pressure (ICP) measurement, and cerebral perfusion pressure measurement. Patients are indicated for surgery based on perception, lesion image on CT and intracranial pressure. If the intracranial pressure < 20 mmHg or is under control, the patient is resuscitated in the neurologic ICU. If intracranial pressure \geq 20 mmHg, ICP cannot be controlled, decompressing craniectomy. Research indicators include

Clinical status, GCS, pupils, breathing, pulse, and blood pressure. Computed tomography image: Intracranial lesions such as hematoma, cerebral contusion, subarachnoid hemorrhage, cerebral edema, midline shift, basilar collapse, collapse, and fundus obliteration. Treatment surgery: Incision, skull opening area, and dural patch. Results: Assessed when the patient is discharged and after 3, 6, and 12 months based on the GOS table.

* *Data processing:* According to statistical algorithms, using SPSS software.

RESULTS AND DISCUSSION

During 5 years, our study was conducted on 45 patients who met the criteria, including 42 males and 3 females, the oldest age was 78, and the lowest was 6 years old. Traffic accidents accounted for the majority of 86.7%, and accidents in daily life were 8.9%.

Table 1: Results when the patient was discharged from the hospital.

Result	Number of patients (n)	Ratio (%)
Living	36	80
Dead	9	20
Total	45	100

There were 9 patients (20%) died immediately after discharge, and 36 patients (80%) survived. Fatal cases are usually patients with severe clinical manifestations such as a low GCS score, bilateral pupillary dilation, loss of light reflexes and often death in the first days after surgery. The cases of intracranial pressure increased very high, and brain edema did not patch the dura. After surgery, the state of increased intracranial pressure still occurred, and then the patient died. The mortality rate in our study was lower than that of Yuan (2012)

[7], with 22% of patients who died after decompression craniectomy in 164 patients with severe traumatic brain injury.

Table 2: Results 3 months after surgery (n = 45).

Result	Number of patients (n)	Ratio (%)
Good (GOS 4, 5)	14	31,1
Bad (GOS 1, 2, 3)	31	68,9
Total	45	100

There are 31 patients (68.9%) with bad GOS results (1 - 3), 14 patients (31.1%) with good GOS (4 - 5), in which, 11 patients with GOS score 5 (30.6%). Our study results were lower than those of Yuan (2017) [7] with 164 patients with severe traumatic brain injury undergoing decompression craniectomy, the mortality rate, vegetative survival, and severe sequelae were 58%, and good recovery result was 42%.

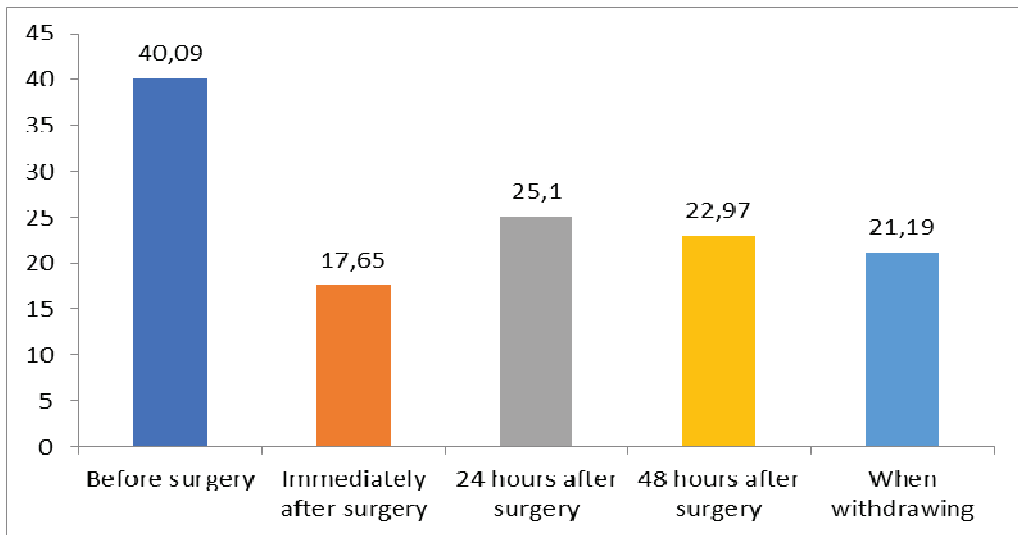


Figure 1. Average intracranial pressure chart over time (n = 31).

The mean intracranial pressure before surgery was 40.09 ± 10.37 mmHg. Right after surgery, the intracranial pressure decreased to 17.65 ± 13.32 mmHg. The average intracranial pressure at the time immediately after surgery 24h, 48h tended to increase higher than the intracranial pressure at the time immediately after surgery, but the increase was not much. The highest increase at 24h was 25.10 ± 14.70 mmHg.

Table 3: Effectiveness in reducing intracranial pressure after surgery compared to before surgery (n = 31).

Time	Intracranial pressure (mmHg)	Decreased intracranial pressure compared to pre-surgery	Rate of reduction in intracranial pressure compared with preoperative	p
Before surgery (1)	40.09 ± 10.37			
Immediately after surgery (2)	17.65 ± 13.32	23.26 ± 12.83	57.39%	< 0.001
24 hours after surgery (3)	25.10 ± 14.70	15.81 ± 14.88	46.29%	< 0.001
48 hours after surgery (4)	22.97 ± 6.90	16.83 ± 11.93	38.21%	< 0.001
When withdrawing (5)	20.32 ± 15.49	20.58 ± 16.81	49.59%	< 0.001

f: Wilcoxon Signed Ranks test

p¹⁻²: Paired comparison of intracranial pressure immediately after surgery and before surgery.

p¹⁻³: Paired comparison of intracranial pressure 24 hours after surgery with preoperative pressure.

p¹⁻⁴: Paired comparison of intracranial pressure 48 hours after surgery and before surgery.

p¹⁻⁵: Paired comparison of intracranial pressure during withdrawal with pre-surgery.

The effect of reducing intracranial pressure immediately after surgery and 24h, 48h after surgery was reduced compared to preoperative intracranial pressure, and this reduction was very significant when compared in pairs (p < 0.001). After 24 and 48 hours of surgery, intracranial pressure increases slightly and then gradually decreases and is usually maintained and controlled with relatively stable medical resuscitation until the device is removed. Therefore, close monitoring of intracranial pressure after surgery is

necessary, especially in the first 48 hours, to promptly detect increased intracranial pressure to prescribe appropriate treatment such as using a hypertonic solution such as mannitol 20%, NaCl 3%, 10% hypertonic saline, or hyperventilation to combat cerebral edema. In addition, it is necessary to combine monitoring of intracranial pressure and other clinical symptoms such as mental status, characteristics of craniofacial defects, pupillary signs as well as other focal neurological signs to promptly Detecting the cause of

increased intracranial pressure, distinguishing the cause due to cerebral edema and bleeding complications after surgery is very necessary. The reduction of intracranial pressure after surgery has helped increase cerebral venous pressure to maintain adequate oxygen supply to the brain, limit irreversible secondary damage, and reduce mortality and postoperative sequelae. Daboussi A. et al. (2009) conducted monitoring of intracranial pressure on 26 patients with traumatic brain injury before, immediately after surgery and 48 hours after decompressive craniectomy. Immediately after surgery, intracranial pressure decreased from 37 ± 17 to 20 ± 13 mmHg, and the cerebral perfusion rate increased from 23 ± 15 to 31 ± 13 cm/s. The authors found that these parameters continued to remain stable during the first 48 hours after surgery [8].

Bor-Seng-Shu E. et al. (2012) reviewed the overview of decompressive craniectomy on severe traumatic brain injury from 20 studies from January 1995 to December 2010 with $n = 479$, with an evaluation of intracranial pressure and cerebral venous pressure showed that the average intracranial pressure decreased immediately after surgery was 17.59 mmHg ($p < 0.00001$), 24 hours after surgery was 14.27 mmHg

($p < 0.00001$) and 48 hours after surgery was 12.69 mmHg ($p < 0.0001$). Intracranial pressure decreased immediately after surgery and lasted for more than 48 hours after surgery, leading to an average increase in cerebral venous pressure after surgery of 7.37 mmHg ($p < 0.0001$). In the study, 8 - 20% of cases did not reduce intracranial pressure after surgery, and these cases often had a bad outcome after treatment [9].

CONCLUSION

Decompressive craniectomy should be indicated for patients with severe traumatic brain injury whose CT scan shows small hematomas or no intracranial hematomas, mainly brain contusions, and cerebral edema, despite intensive resuscitation treatment, but cannot control the increase of intracranial pressure..

- Results at the time of discharge: 9 patients died (20%), 36 patients survived (80%), good GOS score (4, 5) was seen in 14 patients (31.1%), bad GOS score (1, 2, 3) was seen in 31 patients (68.9%).

- Decompressive craniectomy effectively reduces intracranial pressure. The effect of reducing intracranial pressure is obvious and statistically significant, with $p < 0.001$.

- Intracranial pressure decreased, and the effectiveness of intracranial pressure reduction was maintained in the days after surgery until the device was removed and controlled by post-operative medical treatment.

REFERENCES

1. Dong Van He, Nguyen Thi Van Binh. Evaluation of distant outcomes after treatment of severe traumatic brain injury. *Practical Medicine*. 2009; 669:49-54.

2. Nguyen Van Hung. Research on clinical epidemiology and treatment attitude to closed traumatic brain injury caused by road traffic accidents at Viet Duc University Hospital in 2005. *Graduation thesis as a secondary specialist*. 2005. Hanoi Medical University. Interior.

3. Vu Ngoc Tu. Clinical features, computed tomography images and early results after treatment of severe traumatic brain injury at Viet Duc University Hospital. *Graduation thesis as a resident doctor*. 2004. Hanoi Medical University.

4. Tran Duy Anh. Active treatment of patients with severe traumatic brain

injury. *Medical Studies Military*. 2003; 28:107-115.

5. Sahuquillo J, Arian F. Decompressive craniectomy for the treatment of refractory high intracranial pressure in traumatic brain injury. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2009; 25(1):CD003983.

6. Toussaint CP, Origitano TC. Decompressive Craniectomy: Review of Indication, Outcome, and Implication. *Neurosurgery Quarterly*. 2008; 18:45-53.

7. Yuan Q. Comparative study of decompressive craniectomy in traumatic brain injury with or without mass lesion. *Br J Neurosurg*. 2017; 41(2):213-225.

8. Daboussi A, Minville V, Leclerc - Foucras S, et al. Cerebral Hemodynamic changes in severe Head injury patients undergoing decompressive craniectomy. *Journal of Neurosurgical Anesthesiology*. 2009; 21:339-345.

9. Bor - Seng - Shu E, Figueiredo EG, Amorim RL, et al. Decompressive craniectomy: A meta - analysis of influences on intracranial pressure and cerebral perfusion pressure in the treatment of traumatic brain injury. *Journal of Neurosurgery*. 2012; 117:589-596.

THỂ 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 (khoảng 250 từ). 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) sắp xếp theo thứ tự xuất hiện trong bài báo. 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 TẠP CHÍ Y DƯỢC HỌC QUÂN SỰ - HỌC VIỆN QUÂN Y**

SỐ 160 ĐƯỜNG PHÙNG HƯNG, HÀ ĐÔNG - HÀ NỘI

ĐIỆN THOẠI: 069. 566. 255 HẶC GỬI THEO ĐỊA CHỈ EMAIL: tcydhqs@vmmu.edu.vn

