

**TỔNG HỘI Y HỌC VIỆT NAM
HỘI SINH LÝ HỌC VIỆT NAM**

TẠP CHÍ

**SINH LÝ HỌC
VIỆT NAM**

Tập 25, N^o2
6/2021

**Vietnam Journal of Physiology
Volume 25, N^o2, June 2021**

THẺ LỆ GỬI BÀI ĐĂNG TẠP CHÍ SINH LÝ HỌC VIỆT NAM

Tạp chí Sinh lý học Việt Nam là tạp chí chuyên ngành Sinh lý học. Tạp chí đăng tải các công trình nghiên cứu, các bài tổng quan, thông báo khoa học thuộc chuyên ngành Sinh lý học và các chuyên ngành có liên quan với Sinh lý học Y học, Sinh lý học Người và Động vật.

1. Quy định chung về bài đăng trên Tạp chí Sinh lý học Việt Nam

- Các thuật ngữ thống nhất theo tự điển Bách khoa Việt Nam.
- Bài gửi đăng phải đánh máy bằng tiếng Việt rõ ràng, phông chữ Unicode, kiểu chữ Arial, cỡ chữ 12, khổ giấy A4, lề trên 2cm, lề dưới 2cm, lề trái 3cm, lề phải 2cm, cách dòng 1.15 line. Các chữ viết tắt phải được chú thích các từ gốc của các chữ viết tắt đó. Thứ tự các đề mục đánh số Ả-rập, không đánh số La Mã (Thí dụ 1, 1.1, 1.1.1, 2, 2.2...).
- Bài đăng Tạp chí gửi về địa chỉ email tapchi@sinhlyhoc.com.vn, gửi kèm theo tên, địa chỉ liên lạc, địa chỉ email và số điện thoại của tác giả chịu trách nhiệm khoa học về bài báo (Tạp chí không nhận bản in).
- Mỗi tác giả được phép đăng nhiều bài trong 1 số nhưng chỉ được đứng tên đầu ở 1 bài. Bài không đăng được, không trả lại bản thảo.
- Tác giả chịu trách nhiệm khoa học của bài báo phải ký vào văn bản cam kết về bản quyền của mình, các số liệu nghiên cứu, nội dung được đưa ra trong bài báo, các vấn đề về đạo đức nghiên cứu và gửi về địa chỉ Ban biên tập:

Văn phòng Hội Sinh lý học Việt Nam

Tầng 1, Nhà B2, Trường Đại học Y Hà Nội,

Số 1, Phố Tôn Thất Tùng, Quận Đống Đa, TP Hà Nội

2. Một số yêu cầu cụ thể về bài đăng công trình nghiên cứu khoa học

- Bài gửi đăng chưa được đăng ở bất kỳ Tạp chí quốc gia nào.
- Tổng số trang của bài đăng công trình không quá 8 trang giấy A4, không quá 10 trang với bài tổng quan.
- Tổng số các đối tượng minh họa, kết quả (gồm hình, bảng, biểu) không quá 5 (gồm bảng, biểu, hình, ảnh, biểu đồ) và/hoặc 1/4 tổng số trang của bài báo. Tên các đối tượng được ghi theo số thứ tự cho mỗi loại (ví dụ hình 1, hình 2, bảng 1, bảng 2). Tên bảng được đặt ở trên, chính giữa bảng, tên hình, biểu đồ được đặt ở dưới, chính giữa hình, biểu đồ.
- Lệ phí đăng công trình nghiên cứu là 600.000 đồng/bài. Kinh phí được thu nộp khi bài báo được chấp nhận đăng. Thông tin tài khoản của Hội Sinh lý học Việt Nam như sau:

Đoàn Thị Vân Du

Số tài khoản: **1221 0001 39 0003.**

tại Ngân hàng BIDV chi nhánh Hà Thành

- Trình tự các mục trong bài:
 - + Tên bài báo: Được viết ngắn gọn, thể hiện được nội dung chính của bài báo và bắt đầu bằng danh từ
 - + Họ và tên các tác giả, địa chỉ cơ quan, nơi thực hiện công trình (không ghi học hàm, học vị, chức danh). Tác giả thực hiện chính được viết đầu tiên, tác giả chịu trách nhiệm khoa học về bài báo được viết cuối cùng nếu có (ví dụ tên thầy hướng dẫn). Cuối trang thứ nhất của bài báo cần ghi rõ tên tác giả chịu trách nhiệm khoa học về bài báo, kèm theo địa chỉ liên lạc, địa chỉ email và số điện thoại. Liệt kê đầy đủ tất cả các tác giả tham gia bài báo, đề nghị không viết “và cộng sự”.
 - + Tóm tắt tiếng Việt: Viết không quá 300 từ, viết dưới dạng bài văn xuôi thể hiện được mục tiêu, đối tượng nghiên cứu, phương pháp nghiên cứu, kết quả chính của nghiên cứu và kết luận. Từ khóa không quá 5 từ, cụm từ.
 - + Tên bài báo và tóm tắt bằng tiếng Anh đặt ở cuối bài báo, sau tài liệu tham khảo, cần được dịch đầy đủ chính xác từ tên bài báo, tóm tắt và từ khóa bằng tiếng Việt.
 - + Nội dung toàn văn gồm:

- ✓ Đặt vấn đề (bao gồm cả mục tiêu nghiên cứu của đề tài): Cần nêu rõ lý do hoặc giả thuyết nghiên cứu, mục tiêu nghiên cứu (không trùng lặp với tên bài báo).
- ✓ Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Viết ngắn gọn, đầy đủ thông tin bao gồm: đối tượng nghiên cứu, thiết kế nghiên cứu, công cụ nghiên cứu, phương pháp thu thập số liệu, phương pháp phân tích số liệu, đạo đức nghiên cứu.
- ✓ Kết quả nghiên cứu: được thể hiện bằng các bảng, biểu đồ, hình hoặc bằng lời.
- ✓ Bàn luận (bàn luận có thể viết chung với kết quả nghiên cứu, trong trường hợp viết chung thì đề mục cần ghi rõ "Kết quả và bàn luận"): tác giả cần so sánh kết quả nghiên cứu của mình với các tác giả khác và lý giải về kết quả thu được.
- ✓ Kết luận: viết ngắn gọn, trả lời đầy đủ mục tiêu đề ra.
- ✓ Khuyến nghị: nếu có.
- ✓ Lời cảm ơn: cảm ơn quỹ tài trợ, nơi thực hiện nghiên cứu, các cộng sự đóng góp cho công trình.
- ✓ Tài liệu tham khảo

3. Quy định về tài liệu tham khảo

- Tài liệu tham khảo (không quá 15 tài liệu) được xếp theo thứ tự vần chữ cái A, B, C..., tiếng Việt trước, tiếng nước ngoài sau.
- Nếu tài liệu là tạp chí thì ghi tên tác giả, năm xuất bản, tên bài, tên tạp chí, tập, số, trang (đầu và cuối). Ví dụ:
 - + **Dean P, Michell IJ, Redgrave P (1988)**, Responses resembling defensive behaviour produced by microinjection of glutamate into superior colliculus of rats. *Neuroscience*, 24(2):501-510.
- Trường hợp tài liệu tham khảo có từ 10 tác giả trở xuống thì ghi đầy đủ họ tên của 10 tác giả. Trong trường hợp có từ 11 tác giả trở lên thì ghi đầy đủ họ, tên của 5 tác giả đầu tiên, sau đó viết "và cs" nếu bài báo viết bằng tiếng Việt hoặc "et al" nếu bài báo viết bằng tiếng nước ngoài. Ví dụ:
 - + **Dommett E, Coizet V, Blaha CD, Patricia G, Carol C et al (2005)**, How visual stimuli activate dopaminergic neurons at short latency. *Science*, 307(5714):1476-1479.
- Nếu là sách chuyên khảo thì ghi tên tác giả, năm xuất bản, tên sách, nhà xuất bản, TP xuất bản, trang tham khảo. Ví dụ:
 - + **Stein BE, Meredith MA (1993)**, The merging of the senses. Cambridge, MA: MIT, pp.230-235.
- Nếu là một chương trong sách thì ghi tên tác giả của chương, năm xuất bản, tên chương, tên sách, tên người biên tập, thành phố xuất bản, nhà xuất bản, trang tham khảo. Ví dụ:
 - + **Gerfen CR, Wilson CJ (1996)**, The basal ganglia. In: *Handbook of chemical neuroanatomy*, Vol 12: Integrated systems of the CNS, Part III. (Swanson LW, Bjorklund A, Hokfelt T, eds), Amsterdam: Elsevier, pp.371 - 468.
- Nếu tài liệu không thuộc hệ chữ Latinh thì phiên âm tên tác giả (theo tiếng Latinh) và dịch toàn bộ phần còn lại ra tiếng Việt, sau đó mở ngoặc ghi chú tiếng của tài liệu đó. Ví dụ: (tiếng Nga).
- Các tài liệu đưa ra phải được trích dẫn đầy đủ trong nội dung bài báo. Trong đó ít nhất 50% số tài liệu tham khảo cần xuất hiện trong phần bàn luận.

4. Yêu cầu đối với các bài tổng quan, thông báo khoa học và bài dịch

- Đối với các bài Tổng quan cần có đầy đủ các tài liệu tham khảo và nguồn số liệu được trích dẫn trong bài. Tác giả bài Tổng quan được ghi rõ chức danh khoa học, học vị, chuyên ngành, địa chỉ cơ quan (ghi ở cuối trang đầu của bài Tổng quan). Nếu bài tổng quan dài, Ban biên tập sẽ chia làm 2 kỳ, mỗi kỳ dài không quá 10 trang, kể cả hình ảnh, bảng, biểu và tài liệu tham khảo. Số tài liệu tham khảo không quá 20 tài liệu.
- Đối với các bài Thông tin khoa học, các bài dịch cần ghi rõ xuất xứ của nguồn dữ liệu được sử dụng để viết bài thông tin hoặc bài dịch. Đối với bài dịch cần photocopy toàn văn bản bài báo tiếng nước ngoài gửi kèm theo bản dịch.
- Đối với bài tổng quan và các bài thông tin khoa học, tác giả gửi đăng sẽ không phải nộp lệ phí khoa học.

MỤC LỤC

Các bài đăng công trình	Trang
Ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nguồn gốc tế bào đến thành phần yếu tố tăng trưởng tiết từ tế bào gốc trung mô	1
<i>Đỗ Thị Xuân Phương, Nguyễn Thị Ngọc Hà, Mai Thị Hiền, Hoàng Hương Diễm, Hoàng Thị Mỹ Nhung, Nguyễn Thanh Liêm, Thân Thị Trang Uyên</i>	
Đánh giá tác động của dimethyl sulfoxide lên khả năng sống của tế bào cơ tim chuột H9C2	13
<i>Vũ Thị Thu, Phạm Thị Bích, Ngô Thị Hải Yến</i>	
Tác dụng hạ glucose máu của viên nang GYDENPHY trên chuột nhắt trắng được gây đái tháo đường type 1	24
<i>Nguyễn Trịnh Thạch Thi, Nguyễn Duy Tuấn, Nguyễn Thanh Hà Tuấn, Đỗ Thị Hương Lan, Nguyễn Hoàng Ngân</i>	
Ảnh hưởng của NP đối với một số chỉ số huyết học và miễn dịch trên chuột mang khối u rắn sarcoma TG180	33
<i>Bùi Thị Thu Hà, Vũ Mạnh Hùng, Nguyễn Thanh Hải, Nguyễn Thanh Hà Tuấn</i>	
Hiệu quả cầm máu và làm lành vết thương của keo fibrin tự thân trên động vật thực nghiệm	45
<i>Hoàng Thu Soan, Vũ Tiến Thắng, Vũ Thị Kim Liên, Bùi Thị Kiều Vân, Vũ Hoàng Phương Thúy, Nguyễn Mai Hương, Phạm Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Thu Thái</i>	
Nghiên cứu đột biến của gen G6PD ở bệnh nhân thiếu hụt enzyme G6PD	55
<i>Ngô Thị Thảo, Trần Văn Khánh</i>	
Đặc điểm sarcopenia ở người bệnh cao tuổi có bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính giai đoạn ổn định	67
<i>Nguyễn Thị Thu Hương, Nguyễn Trung Anh, Vũ Thị Dịu, Vũ Thị Thanh Huyền</i>	
Nguyên nhân và cách xử trí cơn hạ đường huyết ở bệnh nhân cao tuổi có đái tháo đường tại Bệnh viện Thanh Nhàn	76
<i>Nguyễn Trung Anh, Nguyễn Thị Thu Hương, Vũ Thị Thanh Huyền</i>	
Đánh giá hiệu quả điều trị co thắt nửa mặt nguyên phát bằng Botulinum toxin A	86
<i>Trương Huệ Linh, Nguyễn Văn Liệu</i>	
Tình trạng chảy máu sau phẫu thuật và ứng dụng bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ở bệnh nhân phẫu thuật tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội	94
<i>Nguyễn Thị Minh Khuê, Nguyễn Quang Tùng</i>	
Tiêu hao năng lượng ở người khỏe mạnh khi thực hiện nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp	102
<i>Đỗ Thanh Tuấn, Nguyễn Đức Sơn, Lê Đình Tùng</i>	

ẢNH HƯỞNG CỦA MÔI TRƯỜNG NUÔI CẤY VÀ NGUỒN GỐC TẾ BÀO ĐẾN THÀNH PHẦN YẾU TỐ TĂNG TRƯỞNG TIẾT TỪ TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ

Đỗ Thị Xuân Phương^{1,2,3,*}, Nguyễn Thị Ngọc Hà², Mai Thị Hiền²,
Hoàng Hương Diễm^{2,6}, Hoàng Thị Mỹ Nhung^{1,3,4},
Nguyễn Thanh Liêm¹, Thân Thị Trang Uyên^{1,5,**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nguồn gốc tế bào đến sự biểu hiện của một số yếu tố tăng trưởng trong thể exosome tiết từ tế bào gốc trung mô dây rốn (umbilical cord-derived mesenchymal stem cells – UCMSC) và tế bào gốc trung mô tuỷ xương (bone marrow-derived mesenchymal stem cells - BMMSC). **Phương pháp:** 03 mẫu UCMSC được nuôi trong StemMACs và PowerStem, 03 mẫu BMMSC được nuôi trong StemMACs và ACF Plus. Tại giai đoạn cấy chuyển lần 2 của tế bào, môi trường nuôi cấy được thu lại và phân lập thể exosome. Thể exosome sau đó sẽ được kiểm tra đánh giá hàm lượng các yếu tố tăng trưởng gồm có: yếu tố tăng trưởng tế bào nội mô mạch máu A (VEGF-A), yếu tố tăng trưởng tế bào sợi (FGF-2), yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF) và yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu BB (PDGF-BB). **Kết quả:** UCMSC và BMMSC tiết exosome có chứa hàm lượng chất tăng trưởng khác nhau. UCMSC nuôi trong môi trường PowerStem tiết thể exosome chứa các chất tăng trưởng tế bào với hàm lượng cao nhất. Trong khi đó UCMSC và BMMSC nuôi trong môi trường StemMACs tiết thể exosome chứa hàm lượng chất tăng trưởng ít hơn. Các chất tăng trưởng tế bào được tiết thông qua thể exosome còn phụ thuộc vào loại tế bào, khi cùng được nuôi trong môi trường StemMACs thì chỉ có UCMSC tiết FGF-2 và PDGF-BB nhưng lại không được tiết ra từ BMMSC. **Kết luận:** UCMSC và BMMSC nuôi cấy đều tiết thể exosome vào môi trường nuôi cấy. Các thể exosome này có chứa các yếu tố tăng trưởng VEGF-A, FGF-2, HGF và PDGF-BB với hàm lượng khác nhau phụ thuộc vào nguồn gốc tế bào và loại môi trường nuôi cấy.

Từ khóa: Tế bào gốc trung mô, thể tiết exosome, yếu tố tăng trưởng.

¹Viện nghiên cứu Tế bào gốc và Công nghệ gen Vinmec, Công ty Vinmec; ²Trung tâm công nghệ Cao, Viện Ứng dụng Y học tái tạo, Công ty Vinmec; ³Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên Hà Nội, Đại học Quốc gia Hà Nội; ⁴Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzym và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội; ⁵Viện Ứng dụng Y học tái tạo, Công ty Vinmec; ⁶Viện Khoa học công nghệ Việt Nam – Hàn Quốc (VKIST)

* Tác giả thực hiện chính: **Đỗ Thị Xuân Phương**

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học: **Thân Thị Trang Uyên**, Email: v.uyenttt@vinmec.com

Ngày tiếp nhận: 5/6/2021, Ngày phản biện: 6/6/2021, Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tế bào gốc trung mô (mesenchymal stem cells – MSC) đang nổi lên là một nguồn tế bào gốc tiềm năng trong y học tái tạo để điều trị một số bệnh. Cơ chế chữa bệnh của MSC được cho là do có khả năng biệt hoá thành tế bào chuyên hoá và tiết chất tiết ra môi trường ngoại bào xung quanh để sửa chữa tế bào bị tổn thương, kích thích tế bào thể tăng sinh, tái tạo và hoạt động chức năng [1]. Các chất tiết này có thể được đóng gói trong các túi tiết hay còn gọi là thể tiết ngoại bào, trong đó có thể tiết exosome.

Exosomes (EX - thể tiết exosome) là túi tiết nhỏ (đường kính khoảng 40 – 250 nm) và chúng đóng vai trò quan trọng trong sự giao tiếp tế bào [1 2]. Các bằng chứng khoa học gần đây cho thấy thể tiết exosome có nguồn gốc từ MSC có nhiều vai trò được lý và cũng được cho là đóng vai trò tương tự như MSC trong điều trị [1]. Hiệu quả điều trị của thể tiết exosome phụ thuộc vào các vật chất sinh học bên trong như: microRNA, protein, lipid; trong đó, các yếu tố sinh học là chất tăng trưởng đảm nhiệm vai trò quan trọng góp phần làm cho thể tiết exosome có tiềm năng ứng dụng trong y học tái tạo [2-4]. Tuy nhiên, hàm lượng và thành phần sinh học được đóng gói trong thể tiết exosome phụ thuộc vào nhiều yếu tố: loại môi trường nuôi cấy, loại tế

bào, kỹ thuật nuôi cấy tế bào hay các yếu tố kích thích khác.

Để tìm hiểu ảnh hưởng của môi trường nuôi cấy và nguồn gốc tế bào có ảnh hưởng đến thành phần yếu tố tăng trưởng tiết ra trong thể exosome hay không, trong nghiên cứu này chúng tôi tiến hành thử nghiệm nuôi hai loại tế bào UCMSC và BMMSC trong hai loại môi trường thương mại khác nhau. Thể exosome tiết ra từ UCMSC và BMMSC trong môi trường nuôi cấy ở giai đoạn lần 2 nuôi cấy sẽ được thu lại và định lượng các chất tăng trưởng nhằm mục tiêu đánh giá mối liên quan về hàm lượng của chúng trong exosome với loại môi trường nuôi cấy và nguồn gốc tế bào.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng và vật liệu nghiên cứu

- Đối tượng nghiên cứu: UCMSC và BMMSC từ người hiến khỏe mạnh lưu trữ tại Trung tâm Công nghệ Cao, Viện Ứng dụng Y học tái tạo, Công ty Vinmec.

- Vật liệu nghiên cứu: Môi trường nuôi cấy UCMSC và BMMSC tại lần cấy chuyển thứ 2 (P2) khi tế bào đạt 80% diện tích bề mặt chai nuôi cấy. Thể tiết exosome phân lập được từ môi trường nuôi cấy tế bào.

- Địa điểm nghiên cứu: Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm công nghệ cao, Viện Ứng dụng Y học tái tạo và Viện nghiên cứu Tế bào gốc và Công nghệ gen Vinmec.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* Nuôi cấy UCMSC và BMMSC

UCMSC và BMMSC ở lần 1 được rửa đông và mỗi loại tế bào được nuôi cấy ở 02 môi trường thương mại không chứa huyết thanh và yếu tố động vật. UCMSC được nuôi cấy trong StemMACs (Miltenyi Biotec, Germany) và PowerStem (Pan Biotech, Germany), BMMSC được nuôi cấy trong StemMACs (Miltenyi Biotec, Germany) và MesenCult™ ACF Plus Medium (StemCell Technologies, Canada). Ban đầu MSC được cấy với mật độ 5000 tế bào/cm² trong chai nuôi cấy tế bào đã được tráng phủ với dung dịch CTST™ CELLstart™ substrate (Gibco, Massachusetts, USA) (độ pha loãng 1: 300 trong PBS). Tế bào được nuôi ở điều kiện 5% CO₂ và 37°C 2 lần. Khi tế bào đạt 80% bề mặt chai nuôi cấy lần 2 thì kết thúc nuôi cấy, thu thập môi trường nuôi cấy để phân lập thể exosome và thu thập tế bào để kiểm tra chất chỉ thị.

* Xác định đặc điểm chất chỉ thị tế bào gốc trung mô

UCMSC và BMMSC ở lần 2 sau khi thu hoạch môi trường nuôi cấy được tách ra khỏi bề mặt chai bằng cách bổ sung CTST™ TrypLe™ Select Enzyme (Thermo Fisher Scientific, USA) và ủ 5 phút ở 37°C. Khi tế bào được phân tách hoàn toàn, bổ sung PBS vào chai nuôi cấy để bất hoạt enzyme, hỗn hợp này được ly tâm thu MSC. MSC sau đó được phân tích biểu hiện

của các chất chỉ thị bề mặt dương (CD90, CD105, và CD73) và chất chỉ thị âm (CD45, CD34, CD11b, CD19 và HLA-DR) của MSC bằng bộ kit Human MSC Analysis (BD Biosciences, California, US). Sử dụng phương pháp phân tích tế bào dòng chảy (Beckman Coulter flow cytometer) kết hợp với phần mềm Navios.

* Xác định sự già hoá tế bào

UCMSC và BMMSC được nuôi cấy để phân tích mức độ già hoá tế bào ở giai đoạn thu thể tiết exosome. MSC ở lần 2 được cấy với mật độ $0,2 \times 10^6$ tế bào/giếng (đĩa 96 giếng) và ủ qua đêm ở 37°C và 5% CO₂. Sau đó tế bào được nhuộm để đánh giá sự già hoá dựa vào mức độ biểu hiện hoạt tính β -galactosidase (Kit Senescence Cells Histochemical Staining, Sigma-Aldrich, USA): nhuộm với DAPI (DAPI Staining Solution, Abcam, UK), soi kiểm tra và chụp ảnh bằng kính hiển vi soi ngược IX73 (Olympus, Japan). Phân tích hình ảnh bằng phần Image J (ver.1.46r).

* Xác định hàm lượng yếu tố tăng trưởng trong exosome

Phân lập thể exosome: Môi trường nuôi cấy MSC được ly tâm ở tốc độ 300g x 10 phút x 4°C, loại bỏ tế bào chết và mảnh vỡ tế bào. Sau đó ly tâm tiếp ở tốc độ 2.000g x 10 phút và 16.500g x 30 phút x 4°C, loại bỏ các quần thể túi tiết kích thước lớn. Dịch nổi được ly tâm ở tốc độ 100.000g x 90 phút x 4°C, thu thập cặn chứa thể tiết

exosome. Thể exosome được kiểm tra hình thái bằng kính hiển vi điện tử truyền qua JEM1010 (JEOL) ở điều kiện 80 KV.

Phân tích các thể exosome để định lượng các yếu tố tăng trưởng: yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu A (VEGF-A), yếu tố tăng trưởng tế bào sợi (FGF-2), yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF), yếu tố tăng trưởng có nguồn gốc tiểu cầu BB (PDGF-BB). Bộ kit sử dụng là Human Custom ProcartaPlex 4-Plex (Invitrogen), đo trên hệ thống phân tích miễn dịch Luminex® 100/200™ (bước sóng reporter laser là 532 nm và classification laser là 635 nm), phần mềm xPONENT 3.1.

2.6 Phân tích số liệu

Kết quả nghiên cứu được phân tích trên phần mềm GraphPad Prism (phiên bản 8.4.3). Số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn. So sánh sử dụng thuật toán T-test theo cặp. Kết quả chỉ được xem là có ý nghĩa thống kê khi $p\text{-value} < 0,05$.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

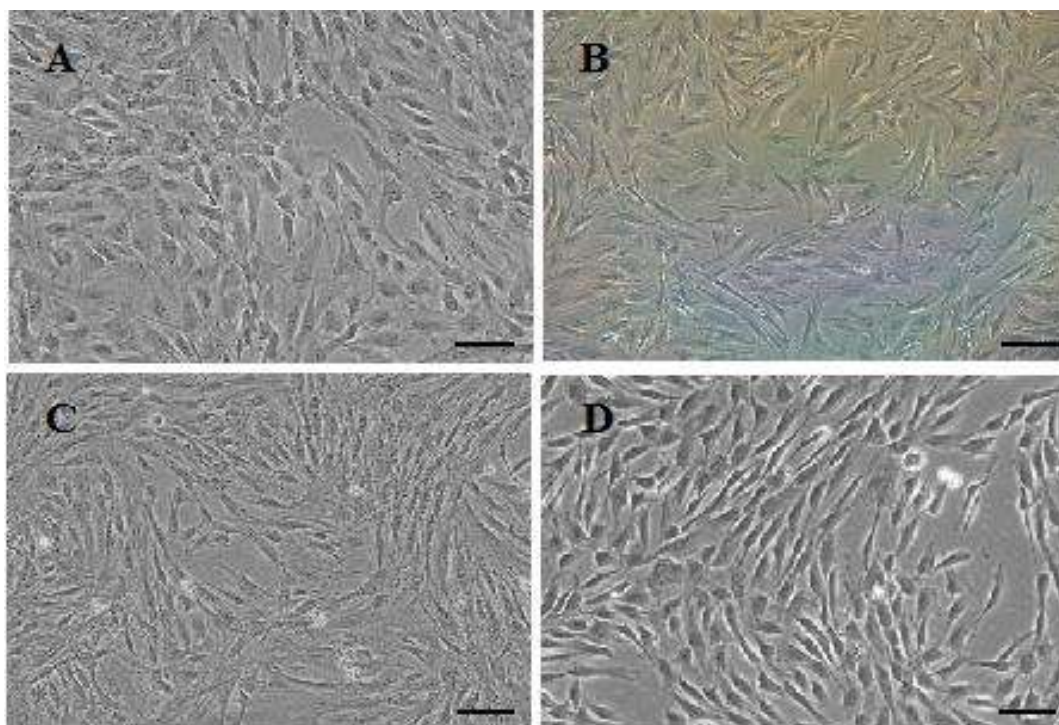
3.1 Đặc điểm hình thái, chất chỉ thị, già hoá của tế bào nuôi cấy

Kết quả hình thái: MSC có hình thái tương tự tế bào sợi như trong hình 1. Hình thái và kích thước tế bào tương đồng nhau giữa các mẫu tế bào nuôi cấy.

Hình thái tế bào là đồng nhất khi được nuôi trong cùng loại môi trường. Không nhận thấy sự khác nhau về hình dạng tế bào có liên quan đến nguồn gốc và loại môi trường. Đặc điểm hình thái và kích thước này là tương đồng với các công bố khoa học khác và khuyến cáo về nghiên cứu MSC [5].

Kết quả phân tích chất chỉ thị MSC: Kết quả phân tích chất chỉ thị MSC cho thấy chất chỉ thị dương đều biểu hiện ở mức độ $> 99\%$ và chất chỉ thị âm biểu hiện ở mức độ $< 2\%$ ở tất cả các mẫu tế bào kiểm tra. Không có sự khác biệt có ý nghĩa về mức độ biểu hiện các chất chỉ thị được phân tích giữa hai loại UCMSC và BMMSC, UCMSC và BMMSC nuôi trong hai loại môi trường ($p > 0,05$). Điều này cho thấy các mẫu tế bào biểu hiện đồng đều chất chỉ thị bề mặt. Kết quả tổng kết phần trăm tế bào biểu hiện chất chỉ thị bề mặt tế bào các mẫu MSC được mô tả trong **Bảng 1**.

Kết quả già hoá tế bào: Không có bất cứ dấu hiệu già hoá nào được phát hiện ở UCMSC và BMMSC. Điều này cho thấy trạng thái sinh lý tế bào ở giai đoạn tiết thể exosome không bị biệt hoá/già hóa và đồng đều giữa các loại tế bào. Các hình ảnh phân tích mức độ già hoá tế bào được mô tả trong **Hình 2**.

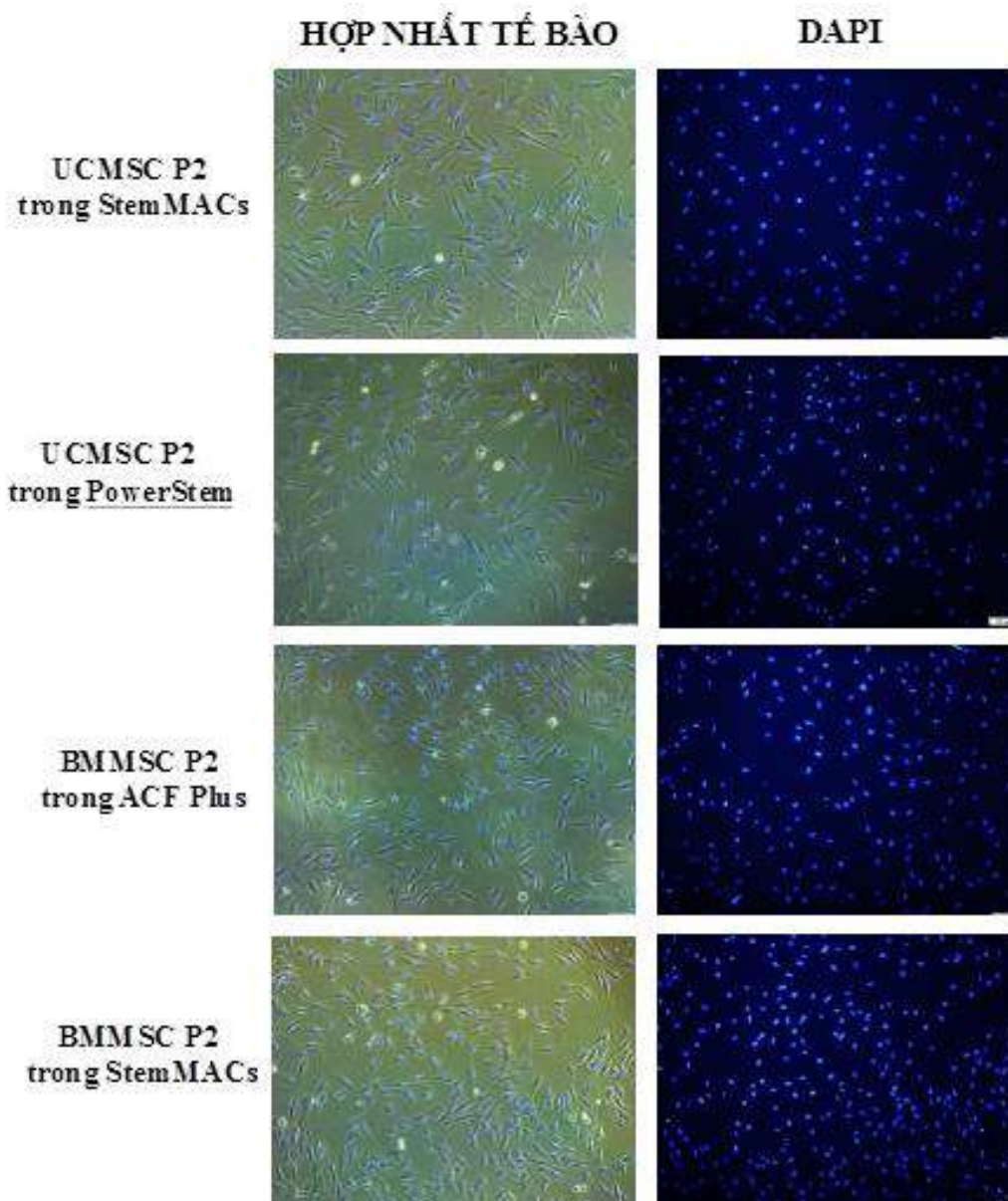


Hình 1. Hình thái MSC ở lần 2

(A) BMMSC nuôi trong ACF Plus, (B) BMMSC nuôi trong StemMACS, (C) UCMSC nuôi trong PowerStem và (D) UCMSC nuôi trong StemMACS. Hình ảnh được chụp dưới kính hiển vi Nikon Inverted Microscope Eclipse Ti-S, vật kính x, thước đo: 100 μ m.

Bảng 1. Biểu hiện chất chỉ thị MSC từ dây rốn và tuỷ xương nuôi cấy trong các loại môi trường khác nhau

Loại tế bào	Môi trường	CD90 (%)	CD105 (%)	CD73 (%)	Dấu chuẩn âm (%)
UCMSC	StemMACS	99,90 $\pm$ 0,14	99,43 $\pm$ 0,68	99,86 $\pm$ 0,20	0,28 $\pm$ 0,22
	PowerStem	99,80 $\pm$ 0,23	99,60 $\pm$ 0,68	99,66 $\pm$ 0,20	0,24 $\pm$ 0,15
BMMSC	StemMACS	99,95 $\pm$ 0,05	99,78 $\pm$ 0,06	99,96 $\pm$ 0,05	1,11 $\pm$ 0,38
	ACF Plus	99,99 $\pm$ 0,01	99,92 $\pm$ 0,06	100 $\pm$ 0,00	1,28 $\pm$ 0,19

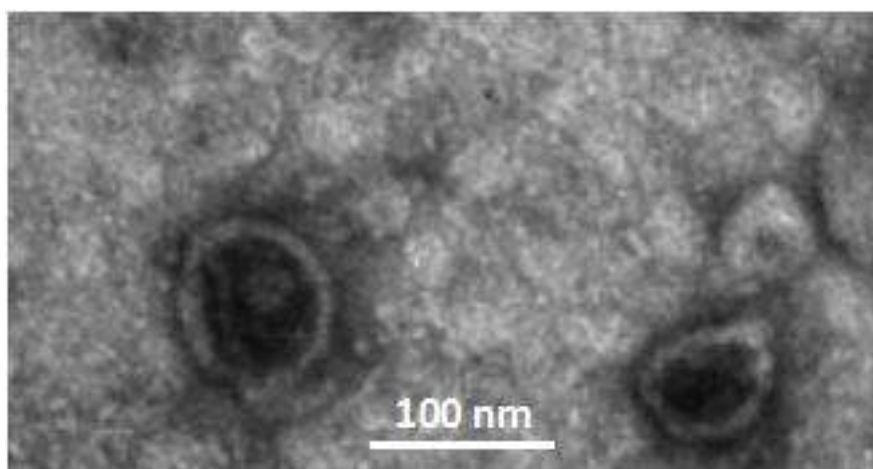


Hình 2. Hình ảnh mô tả MSC được nhuộm với thuốc nhuộm bắt màu với β -galactosidase. UCMSC và BMMSC nuôi trong các loại môi trường đều không bắt màu thuốc nhuộm và không biểu hiện dấu hiệu của hoạt tính β -galactosidase (màu xanh lá).

3.2 Phân tích exosome

* **Hình thái exosome:** Exosome đã thu được từ môi trường nuôi cấy MSC có hình dạng đồng nhất giống cái cốc (cup-shaped

morphology) như trong hình 3. Kích thước của thể tiết exosome thu được khoảng 70-100 nm khi soi chụp dưới kính hiển vi điện tử truyền qua.



Hình 3. Hình ảnh exosome được chụp dưới kính hiển vi điện tử truyền qua

Exosome thu được có hình dạng cái cốc (cup-shaped morphology), có kích thước khoảng 7-100 nm. Hình ảnh này tương tự các công bố quốc tế khác về hình thái của thể

exosome được tiết ra từ nhiều loại tế bào khác nhau [6].

*** Nồng độ yếu tố tăng trưởng:**

Nồng độ yếu tố tăng trưởng được trình bày trong bảng 2 và hình 4.

Bảng 2. Nồng độ yếu tố tăng trưởng VEGF-A, FGF-1, HGF và PDGF được phát hiện trong thể exosome

Yếu tố tăng trưởng	UCMSC		BMMSC	
	PowerStem	StemMACS	ACF plus	StemMACS
VEGF-A (pg)	9.34 ± 3.75	2.82 ± 4.63	8.79 ± 1.51	0.15 ± 0.21
FGF-2 (pg)	51.06 ± 29.9	1.17 ± 1.46	17.96 ± 10.76	0
HGF (pg)	31.15 ± 0.57	2.37 ± 0.69	1.26 ± 0.51	0.51 ± 0.72
PDGF-BB (pg)	2.03 ± 0.91	2.17 ± 3.75	3.57 ± 2.92	0

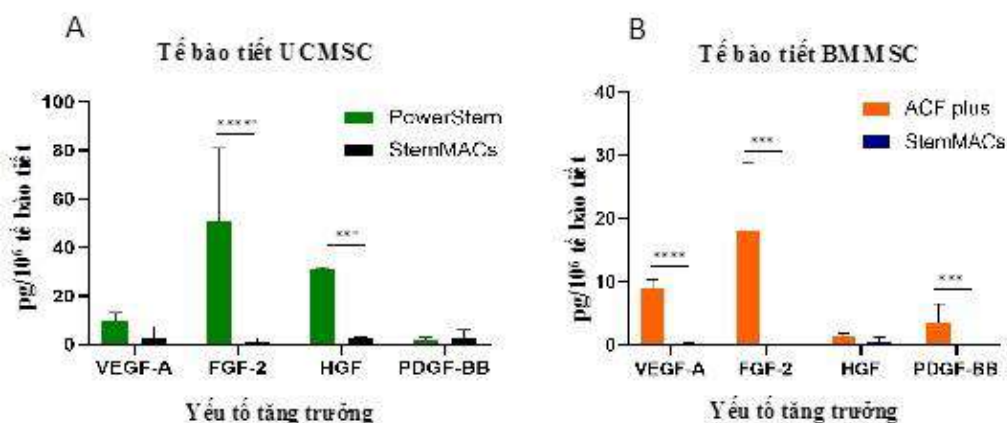
UCMSC nuôi trong cả hai môi trường StemMACS và PowerStem, BMMSC nuôi trong ACF Plus đều tiết thể tiết exosome có chứa cả 4 yếu tố tăng trưởng VEGF-A, FGF-1, HGF và PDGF. Ngoài ra, BMMSC nuôi trong StemMACS tiết thể tiết exosome chỉ chứa 2 yếu tố VEGF-A và HGF. Điều này cho thấy sự tiết yếu tố tăng trưởng vào trong thể tiết exosome phụ thuộc

vào môi trường nuôi cấy. Bên cạnh đó, cùng được nuôi trong StemMACS nhưng UCMSC cho thể tiết exosome chứa cả 4 yếu tố tăng trưởng còn BMMSC cho thể tiết exosome chỉ chứa 02 yếu tố tăng trưởng. Điều này cho thấy sự tiết yếu tố tăng trưởng trong exosome phụ thuộc vào nguồn gốc tế bào.

Về mức độ biểu hiện của các yếu tố tăng trưởng, FGF biểu hiện

cao nhất trong thể tiết exosome phân lập từ UCMSC nuôi trong PowerStem, với hàm lượng $51,06 \pm 29,9$ pg và HGF biểu hiện cao thứ hai với hàm lượng $31,15 \pm 0,57$ pg. Hàm lượng hai yếu tố FGF và HGF trong thể exosome tiết từ UCMSC nuôi trong PowerStem cũng cao hơn so với hàm lượng của chúng đo được trong exosome phân lập từ MSC nuôi trong StemMACs. Ở thể tiết exosome từ tế bào BMMSC nuôi trong ACF Plus biểu hiện hàm lượng FGF là cao nhất với $17,96 \pm 10,76$ pg, cao thứ hai là VEGF-A với $8,79 \pm 1,51$ pg. Bên cạnh đó, hàm lượng của các yếu tố tăng

trưởng VEGF-A, FGF-2 và PPDGF-BB trong thể tiết exosome từ BMMSC nuôi trong ACF Plus cao hơn so với nuôi trong StemMACs. Hàm lượng các yếu tố tăng trưởng trong thể exosome rất quan trọng quy định hiệu quả tác động của thể exosome lên tế bào đích. Do vậy, định lượng được các yếu tố tăng trưởng này cũng như nghiên cứu các kỹ thuật kích thích tế bào tiết thể exosome có chứa hàm lượng chất tăng trưởng cao hơn là rất quan trọng cho định hướng nghiên cứu ứng dụng thể exosome trong điều trị.



Hình 4. Biểu đồ so sánh hàm lượng yếu tố tăng trưởng đo được trong thể exosome phân lập từ UCMSC và BMMSC. A) Hàm lượng yếu tố tăng trưởng trong exosome tiết từ UCMSC;) Hàm lượng yếu tố tăng trưởng trong exosome tiết từ BMMSC. **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$, ****: $p < 0,0001$.

4. BÀN LUẬN

Các kết quả đặc điểm của tế bào nuôi cấy trong nghiên cứu này, gồm có hình thái, kích thước và chất chỉ thị đều thể hiện sự tương đồng với các kết quả của nghiên

cứu của các tác giả khác cũng như của Hiệp hội quốc tế về liệu pháp tế bào (ISCT - International Society for Cellular Therapy) [5]. Bên cạnh đó, không có sự già hoá của tế bào quan sát thấy tại thời điểm cấy

chuyển lần 2. Do vậy, các môi trường nuôi cấy hoàn toàn phù hợp cho MSC phát triển.

Chúng tôi cũng chỉ ra rằng các yếu tố tăng trưởng quan trọng, gồm có VEGF-A, FGF-2, HGF, và PDGF-BB, tham gia vào nhiều hoạt động sinh học khác nhau của quá trình liền vết thương được UCMSC và BMMSC tiết vào thể exosome. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu trước đây của chúng tôi và các nghiên cứu khác với MSC ở giai đoạn cấy chuyển cao hơn và được nuôi trong các điều kiện thường cũng như hypoxia đều tiết các yếu tố tăng trưởng [2, 3]. Do vậy, thể tiết exosome trong nghiên cứu này là quan trọng làm tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo về vai trò của nó trong sinh lý học đóng liền vết thương.

Việc nghiên cứu chất tăng trưởng trong exosome hiện nay chưa được triển khai nhiều và chỉ có một số các nghiên cứu báo cáo về chất tăng trưởng tiết ra từ MSC [7, 8]. Tuy nhiên, tế bào trong các nghiên cứu này được nuôi trong môi trường truyền thống có bổ sung huyết thanh nhau thai bò (Fetal bovine serum - FBS) [7, 8]. Bên cạnh đó, hàm lượng và thành phần các yếu tố được phát hiện ra trong exosome là đa dạng và không giống nhau, các kỹ thuật đo lường cũng khác nhau; do vậy, rất khó để đánh giá sự tương quan giữa các nghiên cứu [2, 7, 8]. Trong nghiên

cứu của chúng tôi, các loại môi trường nuôi cấy MSC là môi trường thương mại không sử dụng huyết thanh nhau thai bò và các yếu tố từ động vật (serum- and xeno-free). Khi so sánh hai loại tế bào nuôi trong cùng điều kiện môi trường, chúng tôi nhận thấy BMSMC và UCMSC có khả năng tiết yếu tố tăng trưởng khác nhau; và khi so sánh một loại tế bào nuôi trong hai điều kiện môi trường, kết quả cũng cho hàm lượng yếu tố tăng trưởng khác nhau (Bảng 2 và Hình 4). Điều này cho thấy việc tiết yếu tố tăng trưởng này phụ thuộc vào nguồn gốc tế bào và loại môi trường nuôi cấy. Tuy nhiên, thành phần của các loại môi trường thương mại trong nghiên cứu của chúng tôi không được nhà sản xuất công bố. Do vậy, cũng không thể khẳng định rằng do yếu tố dinh dưỡng nào có trong môi trường nuôi cấy liên quan đến thành phần và hàm lượng các chất tăng trưởng được phát hiện ra trong exosome.

5. KẾT LUẬN

UCMSC và BMMSC sơ cấp nuôi cấy in vitro trong môi trường thương mại không chứa huyết thanh và các yếu tố từ động vật (serum- and xeno-free) biểu hiện các đặc tính sinh lý bình thường của MSC. Trong quá trình nuôi cấy, MSCs tiết thể tiết exosome ra môi trường có chứa các chất tăng

trưởng tế bào VEGF-A, FGF-2, HGF và PDGF-BB. Nồng độ các yếu tố tăng trưởng này phụ thuộc vào nguồn gốc MSC, trong đó khả năng UCMSC tiết các yếu tố tăng trưởng cao hơn BMMSC, UCMSC nuôi trong PowerStem và BMMSC nuôi trong ACF Plus có khả năng tiết yếu tố tăng trưởng cao hơn khi được nuôi trong StemMACs.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin cảm ơn TS. Nguyễn Xuân Hưng - Viện trưởng Viện Ứng dụng Y học tái tạo đã tạo điều kiện và góp ý cho chúng tôi hoàn thiện nghiên cứu này. Chúng tôi cũng xin cảm ơn đề tài ISC.18.07 (Công ty Vinmec) đã tài trợ cho chúng tôi để nghiên cứu được thực hiện.

KHUYẾN NGHỊ

Tiếp tục nghiên cứu 04 yếu tố tăng trưởng VEGF-A, FGF-2, HGF và PDGF-BB trên cỡ mẫu lớn hơn. Mở rộng nghiên cứu ra phạm vi rộng hơn các yếu tố tăng trưởng khác có vai trò trong y học tái tạo, đặc biệt trong việc đóng liền vết thương nhằm phát triển ứng dụng thể tiết exosome trong điều trị vết thương.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Phinney DG, Pittenger MF (2017).** Concise Review: MSC-Derived Exosomes for Cell-Free Therapy. *Stem cells* (Dayton, Ohio). 35(4):851-8. Epub 2017/03/16. doi: 10.1002/stem.2575. PubMed PMID: 28294454.
2. **Than UTT, Guanzon D, Leavesley D, Parker T (2017).** Association of Extracellular Membrane Vesicles with Cutaneous Wound Healing. *International journal of molecular sciences*.18(5). Epub; doi: 10.3390/ijms18050956. PubMed PMID: 28468315; PubMed Central PMCID: PMC5454869.
3. **Qiu G, Zheng G, Ge M, Wang J, Huang R, Shu Q, et al (2019).** Functional proteins of mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles;10(1):359. doi: 10.1186/s13287-019-1484-6.
4. **Qiu G, Zheng G, Ge M, Wang J, Huang R, Shu Q, et al (2018).** Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles affect disease outcomes via transfer of microRNAs. 9(1):320.
5. **Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al (2006).** Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 8(4):315-317.
6. **Théry C, Amigorena S, Raposo G, Clayton A (2008).** Isolation and characterization of exosomes from cell culture supernatants and biological fluids. *Current protocols in cell biology*, Chapter 3: Unit 3.22.

- doi:10.1002/0471143030.cb0322s30. PubMed PMID: 18228490.
7. **Oliver Y, Clayton L, Joseph W, Joseph SA, Joehleen AA, Peter D, et al (2019).** Exosomes Derived from Human Primed Mesenchymal Stem Cells Induce Mitosis and Potentiate Growth Factor Secretion. (2019). Stem Cells and Development, 28(6), 398-409.10.1089/scd.2018.0200
8. **Nakamura Y, Miyaki S, Ishitobi H, Matsuyama S, Nakasa T, Kamei N, Akimoto T, et al (2015).** Mesenchymal-stem-cell-derived exosomes accelerate skeletal muscle regeneration. FEBS Lett. 589(11):1257-65. doi: 10.1016/j.febslet.2015.03.031.

SUMMARY

INFLUENCE OF MEDIA AND CELLULAR ORIGIN ON GROWTH FACTORS SECRETED BY MESENCHYMAL STEM CELLS

Do Thi Xuan Phuong^{1,2,3,*}, Nguyen Thi Ngoc Ha², Mai Thi Hien²,
Hoang Huong Diem^{2,6}, Hoang Thi My Nhung^{1,3,4},
Nguyen Thanh Liem¹, Than Thi Trang Uyen^{1,5,**}

*Vinmec Research Institute of Stem cell and Gene technology,
Vinmec Healthcare System;*

² *Hitech Center, Vinmec Institute of Applied Sciences and Regenerative
Medicine,*

Vinmec Healthcare System;

³ *Faculty of Biology,*

VNU University of Science

⁴ *The key laboratory of Enzyme and Protein technology,*

VNU University of Science

⁵ *Vinmec Institute of Applied Sciences and Regenerative Medicine,
Vinmec Healthcare System;*

⁶ *Vietnam - Korea Institute of Science and Technology (VKIST)*

Objective: Investigating influences of the culture media and cellular origin on the expression of several growth factors carried by exosomes secreted from umbilical cord-derived mesenchymal stem cells (UCMSC) and bone marrow-derived mesenchymal stem cells (BMMSC). **Methods:** 03 UCMSC samples was cultured in StemMACs and PowerStem, 03 BMMSC samples was cultured in StemMACs and ACF Plus. At the passage 2, conditioned media were collected for exosome isolation. Exosomes were then investigated for the expression of growth factors, including: vascular endothelial growth factor A (VEGF-A), fibroblast growth factor 2 (FGF-2), hepatocellular growth factor (HGF) and platelet-derived growth factor BB (PDGF-BB). **Results:** Both UCMSC and BMMSC at secreted exosomes carrying growth factors with different amount. UCMSC cultured in PowerStem could secret exosomes with the largest amount of growth factors. Besides, UCMSC and BMMSC cultured in StemMACs secreted exosomes carrying fewer amounts of growth factors. Secretion of growth factors through exosomes depends on the cell origin where both cell types were cultured in StemMACs, only UCMSC secreted FGF-2 and PDGF-BB but BMMSC did not. **Conclusion:** Both UCMSC and BMMSC cultured in commercial serum- and xeno-free media could secret exosomes into cell culture media. These exosomes carried growth factors, including VEGF-A, FGF-2, HGF and PDGF-BB, with different expression levels.

Key words: mesenchymal stem cells, exosomes, growth factors.

ĐÁNH GIÁ TÁC ĐỘNG CỦA DIMETHYL SULFOXIDE LÊN KHẢ NĂNG SỐNG CỦA TẾ BÀO CƠ TIM CHUỘT H9C2

Vũ Thị Thu^{1*}, Phạm Thị Bích¹, Ngô Thị Hải Yến¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu này nhằm đánh giá tác động của nồng độ Dimethyl Sulfoxide (DMSO) lên khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện nuôi cấy thông thường và trong điều kiện thiếu oxy/tái cung cấp oxy (hypoxia/reoxygenation, HR). **Phương pháp:** Tế bào H9C2 được nuôi trong điều kiện thường và điều kiện HR có bổ sung DMSO ở dải nồng độ 0,001÷10%. Khả năng sống của tế bào ở các nhóm mẫu thí nghiệm được phân tích bằng kit CCK-8. **Kết quả:** Kết quả nghiên cứu cho thấy khả năng sống của tế bào H9C2 trong các điều kiện môi trường nuôi cấy có nồng độ DMSO 0,001÷0,5% (v/v) không có sự khác biệt so với nhóm đối chứng. Trong khi đó, tỷ lệ sống của tế bào H9C2 giảm đáng kể khi môi trường nuôi cấy có nồng độ DMSO lớn hơn 1% (v/v, $p < 0,05$). **Kết luận:** Trong các điều kiện thực nghiệm, sự tác động của DMSO đối với tế bào H9C2 là phụ thuộc vào liều nồng độ.

Từ khóa: DMSO, H9C2, khả năng sống, thiếu oxy/tái cung cấp oxy.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Trong vài thập niên gần đây, việc sàng lọc nhằm tìm kiếm chất mới cũng như tối ưu hóa điều kiện sử dụng các thuốc có tác dụng bảo vệ tim mạch đã đạt được nhiều thành tựu đáng kể [3, 8, 9]. Điểm đáng chú ý là các nghiên cứu đánh giá hoạt chất hay dược chất thường sử dụng Dimethyl Sulfoxide (DMSO) làm dung môi hòa tan. Tuy nhiên một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng DMSO có

thể làm nhiễu hoặc ảnh đến kết quả thí nghiệm [2, 7, 11]. Vì vậy, trước mỗi nghiên cứu, việc xác định nồng độ DMSO tối ưu mà không làm ảnh hưởng đến kết quả là cần thiết.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã khảo sát tác động của nồng độ DMSO lên khả năng sống của tế bào cơ tim chuột H9C2 trong điều kiện nuôi cấy thường và trong điều kiện thiếu oxy/tái cung cấp oxy (hypoxia/reoxygenation, HR). Trong điều kiện HR môi trường nuôi cấy tế bào có nồng độ khí oxy được điều chỉnh giảm thấp (hypoxia) hay có bổ sung Cobalt chlorit (CoCl_2). DMSO được bổ sung vào môi trường nuôi cấy ở các dải liều nồng độ 0÷10% (v/v).

¹Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội

*Tác giả thực hiện và chịu trách nhiệm khoa học:

Vũ Thị Thu

Email: vtthu2015@gmail.com

Ngày nhận bài: 21/5/2021

Ngày phản biện: 05/6/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

Kết quả phân tích cho thấy, tỷ lệ tế bào sống ở các nhóm tế bào H9C2 nuôi trong các điều kiện môi trường được xử lý DMSO ở dải nồng độ 0,001÷0,5% (v/v) là không có sự khác biệt đáng kể so với điều kiện thường. Tuy nhiên, tỷ lệ sống của tế bào H9C2 bị giảm khi nồng độ DMSO trong môi trường nuôi vượt ngưỡng 1% ($p<0,05$). Kết quả thu được là quan trọng và là cơ sở cho các nghiên cứu sử dụng DMSO làm dung môi trong các mô hình thử thuốc trên dòng tế bào cơ tim chuột H9C2.

2. ĐỐI TƯỢNG, VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng, vật liệu, hóa chất và thiết bị

Dòng tế bào cơ tim phôi chuột H9C2 (hãng ATCC®, Mỹ) được tặng bởi Trung tâm nghiên cứu bệnh chuyển hóa tim mạch, Trường Đại học Inje, Hàn Quốc. Các vật liệu chính được sử dụng trong nghiên cứu gồm: môi trường Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM, Gibco, USA), Photphate buffered saline (PBS, Gibco, USA), huyết thanh phôi bê (Fetal bovine serum -FBS, Gibco, USA); kit xác định tỷ lệ tế bào sống (CCK-8, Sdojindo - Japan); Dimethyl Sulfoxide (DMSO, Sigma, USA); Cobalt chloride (CoCl_2 , Sigma, USA) đĩa nuôi cấy kích thước 60x15mm, 90x20mm, đĩa 96 giếng thành trong (SPL Life Sciences, Korea), kính hiển vi soi ngược Axiovert (Germany); máy đọc đĩa

96 giếng, buồng Hypoxia (Việt nam) và các vật tư tiêu hao khác.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Nuôi cấy tế bào cơ tim chuột H9C2

Tế bào cơ tim chuột H9C2 được nuôi cấy trong môi trường DMEM có bổ sung 10% FBS và 1% PS ở 37°C và 5% CO_2 . Môi trường được thay mới sau 2-3 ngày. Tế bào được cấy chuyển khi mật độ đạt 80% bề mặt đĩa nuôi.

2.3.2. Nuôi cấy tế bào H9C2 ở điều kiện bình thường có xử lý DMSO

Tế bào được nuôi ở mật độ 5×10^3 tế bào/giếng ở 37°C, 5% CO_2 . Sau 24 giờ nuôi cấy, môi trường cũ được loại bỏ và thay bằng môi trường mới có DMSO ở các nồng độ 0,001%, 0,05%, 0,01%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2% và 10% (v/v). Sau 48 giờ nuôi cấy, khả năng sống của tế bào được xác định bằng kit CCK-8. Thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần.

2.3.3. Nuôi cấy tế bào H9C2 ở điều kiện HR có xử lý DMSO

Điều kiện thiếu oxy/tái cung cấp oxy (HR) được thiết lập bằng hai cách: sử dụng buồng hypoxia chứa hỗn hợp khí (95% N_2 , 5% CO_2) và sử dụng hóa chất CoCl_2 300 μM như được mô tả trong nghiên cứu trước đây [1].

Mô hình HR sử dụng buồng thiếu oxy có xử lý DMSO

Tế bào H9C2 được nuôi trong đĩa 96 giếng với mật độ 5×10^3 tế bào/giếng. Sau 24 giờ nuôi cấy, tế

bào được chia thành nhóm đối chứng và nhóm HR như sau:

1) Nhóm đối chứng: tế bào tiếp tục được nuôi trong điều kiện môi trường nuôi bình thường (DMEM, 10% FBS, 1% PS, 37°C và 5%CO₂) trong 48 giờ;

2) Nhóm HR thử nghiệm: tế bào H9C2 được nuôi 6 giờ trong buồng thiếu oxy (95%N₂ và 5%CO₂) và 24 giờ trong các môi trường nuôi mới ở điều kiện 37°C, 5% CO₂ với môi trường nuôi DMEM bình thường (nhóm HR); và với môi trường nuôi DMEM bình thường và có bổ sung thêm DMSO ở các nồng độ 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, và 2% (nhóm HR+DMSO). Cuối thời điểm thí nghiệm mô hình, tỷ lệ sống của tế bào được đánh giá bằng kit CCK-8. Mỗi thí nghiệm được lặp lại ít nhất 3 lần.

Mô hình HR sử dụng CoCl₂ có xử lý DMSO

Tế bào H9C2 được nuôi trong đĩa 96 giếng với mật độ 5x10³ tế bào/giếng. Sau 24 giờ nuôi, tế bào được chia thành nhóm đối chứng và nhóm thử nghiệm mô hình như sau:

1) Nhóm đối chứng: tế bào tiếp tục được nuôi trong điều kiện môi trường nuôi bình thường (DMEM, 10% FBS, 1% PS, 37°C và 5% CO₂) trong 48 giờ;

2) Nhóm HR thử nghiệm: tế bào H9C2 được nuôi 24 giờ trong môi trường DMEM có bổ sung CoCl₂ 300 µM. Sau đó, môi trường chứa CoCl₂ được loại bỏ, tế bào tiếp tục

được nuôi thêm 24 giờ trong các môi trường mới ở điều kiện 37°C, 5%CO₂ với môi trường nuôi DMEM bình thường (nhóm HR hay HR-CoCl₂); và với môi trường nuôi giống ở nhóm HR và có bổ sung thêm DMSO ở các nồng độ 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, và 2% (nhóm HR-CoCl₂+DMSO).

Cuối thời điểm thí nghiệm, tỷ lệ sống của tế bào được đánh giá bằng kit CCK-8. Mỗi thí nghiệm lặp lại ít nhất 3 lần.

2.3.4. Xác định khả năng sống của tế bào bằng CCK-8

Tỷ lệ sống của tế bào được xác định nhờ sử dụng kit CCK-8 dựa trên sự khử WST-8 (không màu) bởi dehydrogenase trong tế bào thành formazan (màu cam) như mô tả trước [1]. Kết quả tỷ lệ sống của tế bào ở các nhóm thí nghiệm được phân tích dựa trên ít nhất 3 lần lặp lại.

2.3.5. Chụp ảnh tế bào

Hình ảnh tế bào H9C2 trong các nhóm mẫu thí nghiệm được chụp bằng kính hiển vi soi ngược có gắn camera kết nối với phần mềm chụp ảnh Opticalview 7.0

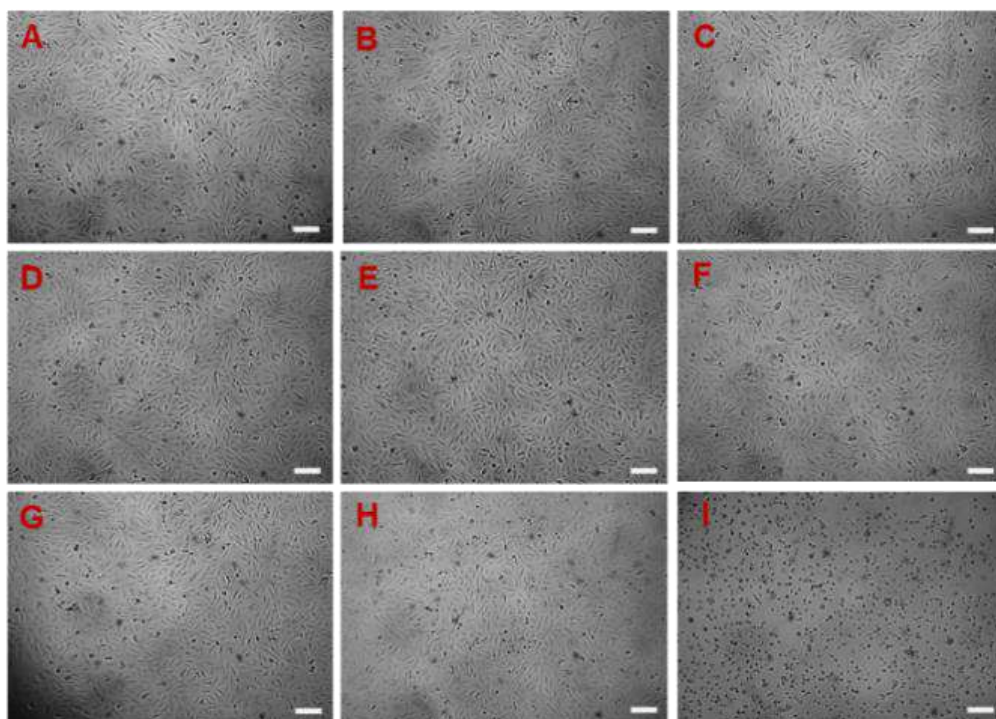
2.3.6. Xử lý số liệu

Phần mềm Excel 2016 và Origin 8.5 được sử dụng để phân tích kết quả. Số liệu được trình bày dưới dạng $X \pm SD$ (X: giá trị trung bình, SD: độ lệch chuẩn). Sự khác biệt được giữa các nhóm được phân tích bằng Anova và Tukey test. Giá trị p theo hai phía nhỏ hơn 0,05 phản ánh sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

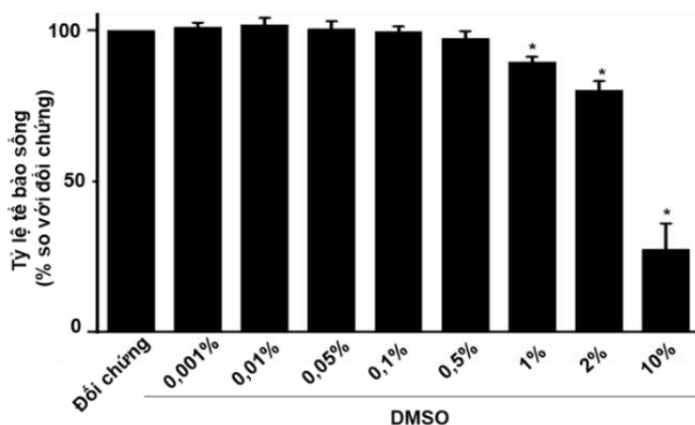
3. KẾT QUẢ

3.1. Khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện nuôi cấy bình thường có xử lý DMSO

Ảnh hưởng của DMSO ở các nồng độ khác nhau lên khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện nuôi cấy bình thường được thể hiện ở Hình 1 và Hình 2.



Hình 1. Hình ảnh tế bào H9C2 trong điều kiện nuôi bình thường. A) Tế bào được nuôi trong DMEM; B-I) Tế bào được nuôi trong DMEM có bổ sung DMSO ở các nồng độ tương ứng (v/v) 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2% và 10%. Vật kính 5x, thước đo 5 μ m.

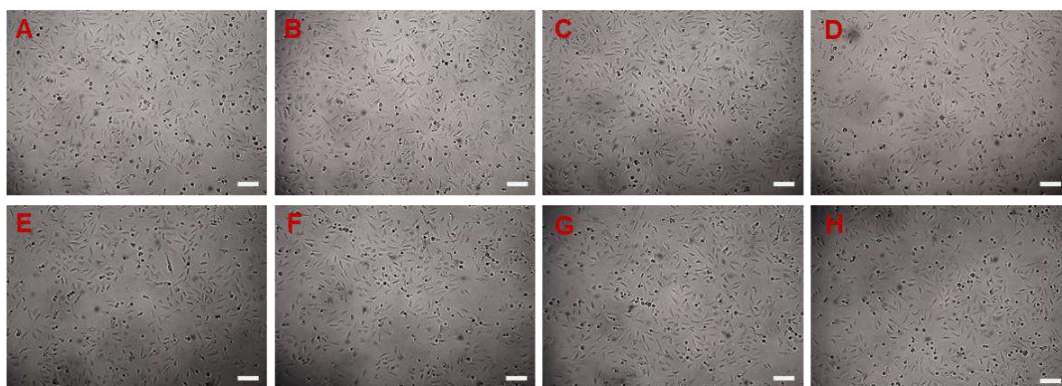


Hình 2. Biểu đồ tỷ lệ sống của tế bào H9C2 trong điều kiện nuôi bình thường. Đối chứng: Nhóm tế bào được nuôi trong DMEM; DMSO: Nhóm tế bào được nuôi trong DMEM có bổ sung DMSO ở các nồng độ tương ứng (v/v) 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1%, 2% và 10%. * $p < 0,05$ so với đối chứng; số lần lặp lại: $n=3$.

Kết quả cho thấy, tỷ lệ sống của tế bào H9C2 được nuôi cấy trong điều kiện 37°C, 5% CO₂ có bổ sung DMSO ở các nồng độ 0,001÷0,5% (v/v) trong 48 giờ là tương tự với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, tỷ lệ này giảm ở các nồng độ DMSO 1%, 2% và 10% (v/v, $p < 0,05$, Hình 2). Đặc biệt, ở nồng độ DMSO 10% tỷ lệ sống của tế bào giảm mạnh và chỉ đạt 27,48% so với đối chứng. Hình ảnh chụp các tế bào H9C2 ở các nồng độ cao của DMSO cũng cho thấy hiện tượng nhiều tế bào bị bong tách và trôi lơ lửng trong môi trường nuôi (Hình 1.G-I).

3.2. Khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện HR có xử lý DMSO

Chúng tôi tiến hành thí nghiệm xác định ảnh hưởng của DMSO trong điều kiện HR sử dụng buồng thiếu oxy thông qua việc đánh giá tỷ lệ tế bào sống trong các nhóm nghiệm. Tế bào được nuôi trong môi trường nuôi cấy ít đường, không có FBS và nồng độ oxy thấp hơn trong 6 giờ. Sau đó tế bào được nuôi ở môi trường có điều kiện oxy bình thường có bổ sung thêm DMSO ở các nồng độ 0,001%, 0,05%, 0,01%, 0,1%, 0,5%, 1% và 2% trong 24 giờ. Ảnh hưởng của DMSO ở các nồng độ khác nhau lên khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện HR có bổ sung DMSO ở các nồng độ khác nhau được thể hiện ở Hình 3 và 4.

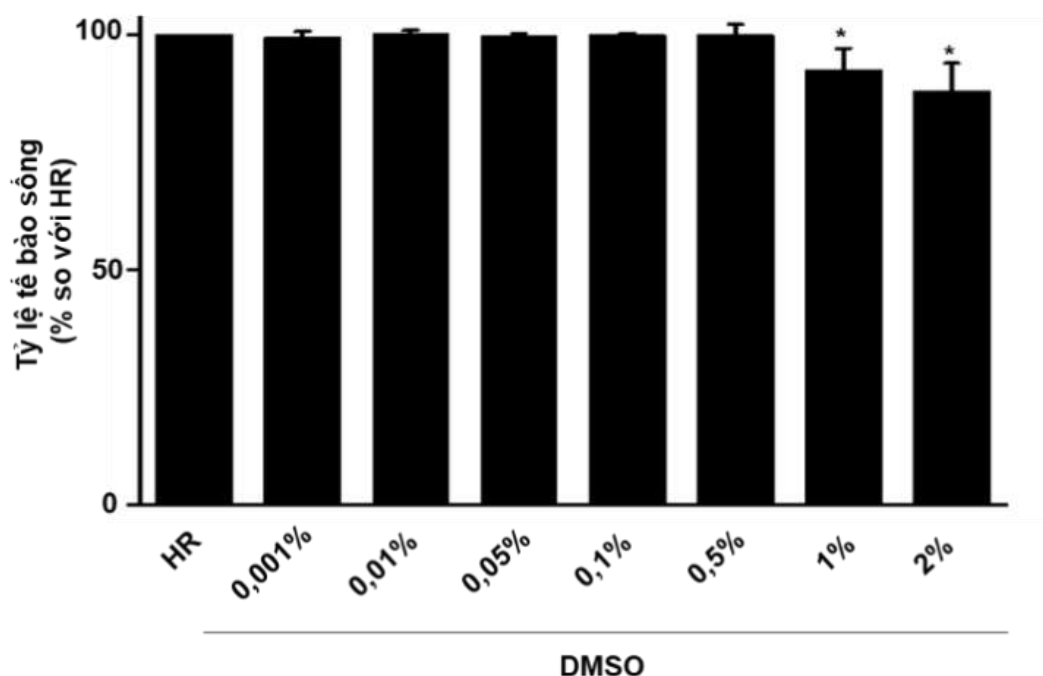


Hình 3. Hình ảnh tế bào H9C2 nuôi trong điều kiện HR gây bởi buồng thiếu oxy. A) Tế bào được nuôi trong điều kiện HR không bổ sung DMSO; B- H) Tế bào được nuôi trong môi trường HR có bổ sung DMSO ở các nồng độ tương ứng (v/v) 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1% và 2%; Vật kính 5x, thước đo 5 μ m.

Kết quả cho thấy, ở điều kiện nồng độ trên 1% giảm có ý nghĩa thống kê so với khi nuôi trong môi trường không có

DMSO. Cụ thể, tỷ lệ tế bào sống ghi được ở các nhóm nghiệm có DMSO 1% và 2% là tương ứng 92,6% và 88,1% (khi so với nhóm HR). Trong khi đó, DMSO ở khoảng nồng độ 0,001÷0,05%

gần như không làm thay đổi khả năng sống của tế bào thể hiện thông qua hình ảnh mật độ tế bào (Hình 3) và tỷ lệ sống chết (Hình 4).

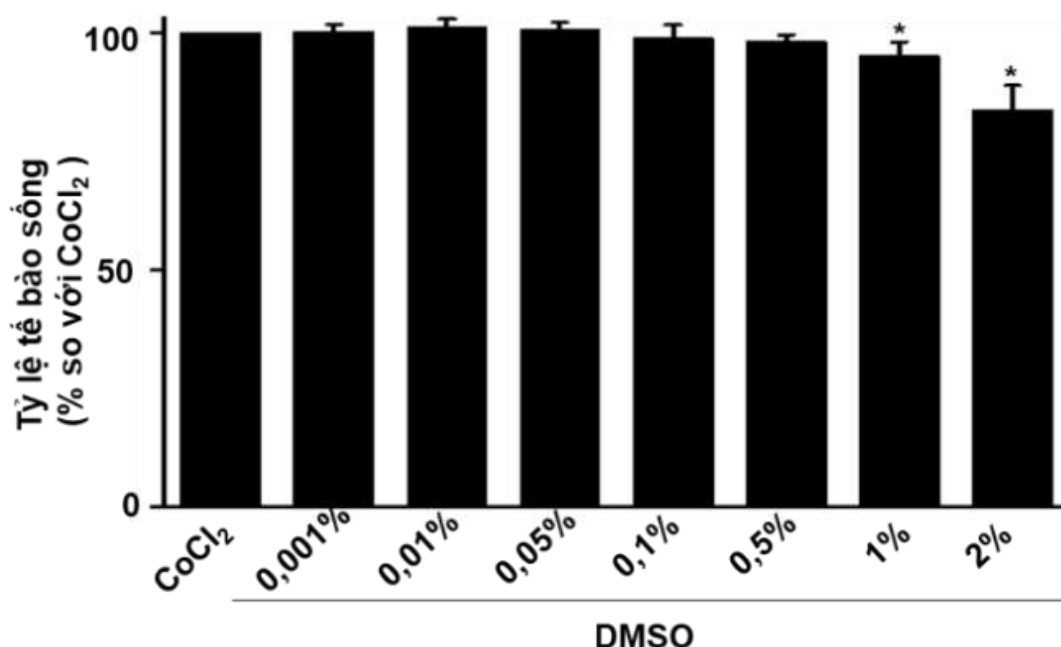


Hình 4. Biểu đồ tỷ lệ sống của tế bào H9C2 trong điều kiện HR gây bởi buồng thiếu oxy. HR: Nhóm tế bào được nuôi trong điều kiện HR không bổ sung DMSO; DMSO: Nhóm tế bào được nuôi trong điều kiện HR có bổ sung DMSO ở các nồng độ tương ứng (v/v) 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1% và 2%. * $p < 0,05$ so với HR; số lần lặp lại: $n=3$.

3.3. Khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện HR-CoCl₂ có xử lý DMSO

Tác động của DMSO cũng được khảo sát trong mô hình HR gây bởi CoCl₂. Kết quả cho thấy tỷ lệ sống của tế bào H9C2 là không khác biệt giữa nhóm nhóm HR-CoCl₂ (hay

CoCl₂) và nhóm CoCl₂ bổ sung DMSO (hay CoCl₂+DMSO) ở nồng độ 0,001, 0,01, 0,05, 0,1 và 0,5% (v/v) trong giai đoạn mô phỏng tái cung cấp oxy (Hình 5). Trong khi đó, khi tăng nồng độ DMSO 1% và 2% thì khả năng sống của tế bào H9C2 giảm mạnh còn 95,2% và 83,8%.



Hình 5. Biểu đồ tỷ lệ sống của tế bào H9C2 trong điều kiện HR gây bởi CoCl_2 . CoCl_2 : Nhóm tế bào được nuôi trong điều kiện HR- CoCl_2 không bổ sung DMSO; DMSO: Nhóm tế bào được nuôi trong điều kiện HR- CoCl_2 có bổ sung DMSO ở các nồng độ tương ứng (v/v) 0,001%, 0,01%, 0,05%, 0,1%, 0,5%, 1% và 2%. * $p < 0,05$ so với CoCl_2 ; Số lần lặp lại: $n=3$.

4. BÀN LUẬN

DMSO là dung môi được sử dụng nhiều trong lĩnh vực sinh-y-dược học do nó có khả năng hòa tan chất ở nồng độ cao [4, 5]. Tuy nhiên, một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng DMSO có thể gây nhiễu và ảnh hưởng đến kết quả thực nghiệm đánh giá hoạt tính của các chất [7, 10-12]. Nghiên cứu trước đây cũng đưa ra khuyến nghị khi sử dụng DMSO ở nồng độ thấp trong các thí nghiệm phân tích đánh giá hoạt tính bảo vệ thần kinh của các chất [11].

Do vậy, để loại bỏ các tác động của DMSO trong các nghiên cứu

bệnh lý nhồi máu cơ tim sử dụng tế bào H9C2, việc xác định nồng độ DMSO tối ưu đóng vai trò đặc biệt quan trọng. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành đánh giá ảnh hưởng của DMSO lên khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện bình thường và trong điều kiện thiếu oxy/tái cung cấp oxy. Kết quả thu được cho thấy, tác động của DMSO đối với tế bào cơ tim phụ thuộc vào liều sử dụng. Trong các điều kiện nuôi cấy thông thường và điều kiện mô hình bệnh lý HR, nồng độ DMSO trong môi trường nuôi cấy nhỏ hơn 1% (v/v) gần như không tác động đến khả năng sống của tế bào cơ tim H9C2. Trong khi

đó, khi môi trường nuôi cấy có bổ sung DMSO nồng độ 1% hoặc cao hơn thì mật độ và hình thái tế bào H9C2 bị thay đổi đáng kể và sự tác động này phụ thuộc vào liều lượng sử dụng dung môi. Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của Rajarshi Pal và cs [10]. DMSO về cơ bản đã làm thay đổi hình thái và sự gắn kết của các tế bào đồng thời với việc làm giảm đáng kể khả năng sống của tế bào theo cách phụ thuộc vào liều [10], dẫn đến sự thay đổi đáng kể trong biểu hiện gen, hàm lượng protein và chức năng của các tế bào gan đã biệt hóa. DMSO ở khoảng nồng độ 0,5%÷2% có tác động ức chế đáng kể đến sự biểu hiện của nhiều cytokine/chemokine gây viêm; đặc biệt là khi nồng độ DMSO khoảng 2%, khả năng sống của bạch cầu đơn nhân bị giảm đáng kể [7]. Tuy nhiên, nghiên cứu của Maria và cs [13] lại chỉ ra rằng sau 24 giờ nuôi trong môi trường có DMSO từ 0,001% đến 0,2%, tổng số tế bào gốc phôi chuột tăng đáng kể. Ngoài ra, sự tăng đáng kể số lượng tế bào có thể quan sát được khi kéo dài thời gian nuôi trong môi trường có DMSO ở các liều thử nghiệm [14]. Trong khi đó, nghiên cứu của chúng tôi lại chưa ghi nhận được sự tăng số lượng tế bào H9C2 khi môi trường nuôi cấy có bổ sung DMSO ở liều nồng độ thử. Tương tự, nghiên cứu trước đây trên nguyên bào sợi của da cũng đã chỉ ra rằng môi trường nuôi có DMSO 0,1% là an toàn cho sự tăng trưởng

của tế bào. Nồng độ DMSO thấp (0,01÷0,001%) làm tăng sinh tế bào, nhưng DMSO cũng làm giảm khả năng sống của tế bào một cách phụ thuộc vào liều lượng trong khoảng nồng độ 0,5÷3%. Ở môi trường nuôi có DMSO lớn hơn 3% thì hầu hết tế bào bị chết [12]. Trong một công bố khác, DMSO nồng độ 2,5% v/v được cho là không làm thay đổi khả năng sống của tế bào lympho; đồng thời, dung môi này tác động làm giảm khả năng sống của tế bào khi nồng độ của nó đạt 5% và 10% v/v [6]. Như vậy có thể thấy rằng, nồng độ DMSO ảnh hưởng đến khả năng sống trên các dòng tế bào khác nhau là khác nhau. Vì vậy, trong các nghiên cứu sử dụng DMSO làm dung môi trong các phân tích hoạt chất hay thuốc, việc phân tích và tìm nồng độ DMSO tối ưu mà không ảnh hưởng đến kết quả phân tích, đặc biệt là khả năng sống của tế bào là cần thiết. Trong nghiên cứu này chúng tôi đã xác định được dải nồng độ DMSO 0,001%÷0,5% không tác động đến khả năng sống của tế bào H9C2 khi chúng được nuôi trong điều kiện bình thường và điều kiện thiếu oxy/tái cung cấp oxy.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu này đã cung cấp số liệu đánh giá tác động của DMSO lên khả năng sống của tế bào H9C2 trong các điều kiện bình thường và mô hình thực nghiệm thiếu oxy/tái cung cấp oxy. Kết quả

cho thấy, trong các điều kiện thực nghiệm, sự tác động của DMSO đối với tế bào H9C2 là phụ thuộc vào liều nồng độ. Ở dải liều 0,001÷0,5% (v/v), DMSO không thể hiện tác động đến khả năng sống của tế bào H9C2 trong điều kiện nuôi bình thường và điều kiện mô hình thực nghiệm bệnh lý. Điều này cung cấp cơ sở khoa học về nồng độ an toàn và gợi ý sử dụng DMSO đối với dòng tế bào H9C2 cho các nghiên cứu sinh-y-dược học liên quan.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi chân thành cảm ơn quỹ nghiên cứu Nafosted 106-YS.06-2016.23 đã hỗ trợ kinh phí; Giáo sư Han Jin và Kim Hyoung Kyu (CMDM, Inje, Hàn Quốc) đã tặng nhóm nghiên cứu mẫu tế bào H9C2; PGS. TS. Nguyễn Lai Thành, Đặng Thị Hà Trang đã hỗ trợ công tác triển khai nghiên cứu. Nghiên cứu được thực hiện tại Trung tâm Khoa học sự sống, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự Nhiên, ĐHQG Hà Nội.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Ngô Thị Hải Yến, Đoàn Thị Dâu, Phạm Thị Bích, Vũ Thị Thu** (2019), Thiết kế và đánh giá hiệu quả buồng thiếu oxy (buồng hypoxia) ứng dụng trong mô hình bệnh thiếu máu cục bộ - tái tưới máu cơ tim in vitro. Tạp chí Sinh lý học Việt Nam, 23(3):1-8.
2. **An J, Yang H, Zhang Q, Liu C, Zhao J, Zhang L, Chen B** (2016), Natural products for treatment of osteoporosis: The effects and mechanisms on promoting osteoblast-mediated bone formation. Life Sci, 147: 46-58.
3. **Aravinthan A, Kim JH, Antonisamy P, Kang CW, Choi J, Kim NS, Kim JH** (2015), Ginseng total saponin attenuates myocardial injury via anti-oxidative and anti-inflammatory properties. Journal of ginseng research, 39(3): 206-212.
4. **Balakin KV, Savchuk NP, Tetko IV** (2006), In silico approaches to prediction of aqueous and DMSO solubility of drug-like compounds: trends, problems and solutions. Curr Med Chem, 13(2): 223-41.
5. **Cushnie TPT, Cushnie B, Echeverría J, Fowsantear W, Thammawat S, Dodgson JLA, Law S, Clow SM** (2020), Bioprospecting for Antibacterial Drugs: a Multidisciplinary Perspective on Natural Product Source Material, Bioassay Selection and Avoidable Pitfalls. Pharmaceutical research, 37(7): 125.
6. **de Abreu CL, Henrique FO M, Dos Santos MG, Meireles AB, Gomes de Almeida V, de Fátima PW, Alves de Avelar-Freitas B, Eustáquio Alvim Brito-Melo G** (2017), Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Decreases Cell Proliferation and TNF- α , IFN- γ , and IL-2 Cytokines Production in Cultures of

- Peripheral Blood Lymphocytes. *Molecules*, 22(11):1798.
7. **Elisia I, Nakamura H, Lam V, Hofs E, Cederberg R, Cait J, Hughes MR, Lee L, Jia W et al** (2016), DMSO Represses Inflammatory Cytokine Production from Human Blood Cells and Reduces Autoimmune Arthritis. *PLoS One*, **11**(3): e0152538.
 8. **He S, Wang X, Zhong Y, Tang L, Zhang Y, Ling Y, Tan Z, Yang P, Chen A** (2017), Hesperetin post-treatment prevents rat cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation injury in vitro via activating PI3K/Akt signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 91:1106-1112.
 9. **Lim KH, Ko D and Kim JH** (2013), Cardioprotective potential of Korean Red Ginseng extract on isoproterenol-induced cardiac injury in rats. *J Ginseng Res*, 37(3):273-82.
 10. **Pal R, Mamidi MK, Das AK, Bhonde R** (2012), Diverse effects of dimethyl sulfoxide (DMSO) on the differentiation potential of human embryonic stem cells. *Arch Toxicol*, 86(4):651-61.
 11. **Sanmartín-Suárez C, Soto-Otero R, Sánchez-Sellero I, Méndez-Álvarez E** (2011), Antioxidant properties of dimethyl sulfoxide and its viability as a solvent in the evaluation of neuroprotective antioxidants. *J Pharmacol Toxicol Methods*, **63**(2):209-15.
 12. **Singh M, McKenzie K, Ma X** (2017), Effect of dimethyl sulfoxide on in vitro proliferation of skin fibroblast cells. *Journal of Biotech Research*, **8**:78-82.
 13. **Sousa MI, Correia B, Branco AF, Rodrigues AS and João Ramalho-Santos** (2020), Effects of DMSO on the Pluripotency of Cultured Mouse Embryonic Stem Cells (mESCs). *Stem Cells International*, 2020:8835353.
 14. **Yi JK, Park S, Ha JJ, Kim DH, Huang H, Park SJ, Lee MH, Ryoo ZY, Kim SH, Kim MO** (2020), Effects of Dimethyl Sulfoxide on the Pluripotency and Differentiation Capacity of Mouse Embryonic Stem Cells. *Cell Reprogram*, 22(5):244-253.

SUMMARY**EVALUATING THE AFFECT OF DIMETHYL SULFOXIDE ON THE VIABILITY OF H9C2 CARDIOMYOCYTES****Vu Thi Thu¹, Pham Thi Bich¹, Ngo Thi Hai Yen¹****¹VNU University of Science**

Objective: The study was conducted to evaluate the affect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) concentration on the viability of H9C2 cells under the different cultural conditions. **Methods:** H9C2 cells were cultured under normal conditions and subjected to hypoxia/reoxygenation model. DMSO at the doses of 0,001÷10% (v/v) was added to the cultural medium during normal culture period and reoxygenation period. Cellular viability of the experimental groups was assessed by using CCK-8 kit. **Results:** The results indicated that the viability of H9C2 cardiomyocytes was stable in the different culture media supplied with DMSO at the doses of 0,001÷0,5% (v/v). Meanwhile, supplementation of DMSO at the doses of 1% and 2% significantly decreased the survival rate of H9C2 cells (v/v, $p < 0,05$). **Conclusion:** The affect of DMSO on H9C2 cardiomyocytes is dose-dependant maner.

Keywords: DMSO, H9C2, cell viability, hypoxia/reoxygenation.

TÁC DỤNG HẠ GLUCOSE MÁU CỦA VIÊN NANG GYDENPHY TRÊN CHUỘT NHẮT TRẮNG ĐƯỢC GÂY ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TYPE 1

Nguyễn Trịnh Thạch Thi^{1*}, Nguyễn Duy Tuấn¹,
Nguyễn Thanh Hà Tuấn², Đỗ Thị Hương Lan², Nguyễn Hoàng Ngân^{2**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt mô hình đái tháo đường (ĐTĐ) tuýp 1 gây bởi Streptozocin. **Phương pháp:** Chuột nhắt trắng được tiêm phúc mạc Streptozocin 150mg/kg để gây ĐTĐ tuýp 1. Sau đó, chuột được cho uống Gydenphy hàng ngày trong 10 ngày, nồng độ glucose máu ở các lô uống Gydenphy so với lô chúng uống nước cất và lô tham chiếu tiêm phúc mạc insulin được so sánh. **Kết quả:** Nồng độ glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 576 mg/kg/24h và liều 1152 mg/kg/24h) giảm so với lô chúng tại thời điểm sau 4h, 8h ($p < 0,05$) và tại thời điểm sau 3, 10 ngày ($p < 0,01$). Tác dụng hạ glucose máu của Gydenphy liều 576 mg/kg/ngày và liều 1152 mg/kg/ngày tại các thời điểm sau uống thuốc 4h, 8h và 3 ngày thấp hơn so với tác dụng của insulin 0,1, UI/kg/ngày; tuy nhiên, tác dụng đạt tương đương với insulin sau 10 ngày liên tục dùng thuốc. **Kết luận:** Viên nang Gydenphy có tác dụng hạ glucose máu trên chuột nhắt trắng gây ĐTĐ tuýp 1.

Từ khóa: ĐTĐ tuýp 1, Gydenphy, chuột nhắt trắng.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Năm 2017, trên toàn cầu, ước tính có khoảng 462 triệu người bị ảnh hưởng bởi đái tháo đường (ĐTĐ) tuýp 2. Hiện nay, ở Việt Nam có khoảng 5,76 triệu người mắc đái tháo đường [4]. Ở bệnh nhân ĐTĐ, tình trạng tăng glucose máu kéo dài dẫn đến những rối loạn chuyển hóa, để lại những hậu quả xấu đối với hệ

tim mạch gây nên nhiều các biến chứng mạn. Do vậy, các thuốc điều trị nhằm kiểm soát glucose máu, có thể giảm được nguy cơ tiến triển của các biến chứng, hạn chế tác dụng phụ của thuốc ngày càng trở nên cấp thiết và là vấn đề quan tâm hàng đầu. Y học cổ truyền có nhiều vị thuốc điều trị chứng Tiêu khát [1]. Việt Nam thế giới đang có xu hướng tìm kiếm và phát triển các thuốc có nguồn gốc tự nhiên vừa có hiệu quả tốt, vừa ít tác dụng phụ, có thể dùng trong thời gian lâu dài. Me rừng, thạch học tía, giảo cổ lam thu hái tại Cao Bằng được đánh giá là có chất lượng tốt, hàm lượng hoạt chất cao. Đây cũng là những dược liệu đã được nhiều nghiên cứu đánh giá có

¹Học viện Y Dược học Cổ truyền Việt Nam

²Học viện Quân y

*Tác giả thực hiện chính:

Nguyễn Trịnh Thạch Thi

** Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Nguyễn Hoàng Ngân

Email: nganvnu@gmail.com.

Ngày tiếp nhận: 15/5/2021

Ngày phản biện: 21/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

tác dụng tốt làm hạ Glucose máu, điều chỉnh rối loạn mỡ máu... Viên nang Gydenphy là sản phẩm của đề tài cấp tỉnh Cao Bằng được bào chế từ 3 dược liệu me rừng, thạch học tía, giảo cổ lam. Sự phối kết hợp các dược liệu với những thành phần hoạt chất khác nhau, cơ chế tác dụng lên hạ glucose máu khác nhau, hỗ trợ cho nhau tạo tác dụng hiệp đồng, giúp sản phẩm đạt hiệu quả cao trong hạ glucose máu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành nghiên cứu với mục tiêu đánh giá tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy trên động vật thực nghiệm gây ĐTĐ tuýp 1.

2. VẬT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu, đối tượng và thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu: Viên nang Gydenphy với hàm lượng cao dược liệu trong mỗi viên là 400mg, do Học viện Quân y cung cấp, đạt tiêu chuẩn cơ sở (TCCS). Cao dược liệu này được bào chế từ ba loại cao Cao Giảo cổ lam (90,0 mg), Cao Thạch học (86,0mg), Cao Me rừng (224,0 mg) cùng với tá dược vừa đủ 1 viên.

Liều dùng được tính theo mg cao dược liệu trong viên nang. Theo kinh nghiệm dân gian về liều dùng của các dược liệu, kết hợp tính toán từ quá trình bào chế, chúng tôi tính ra liều dự kiến có tác dụng trên người là mỗi ngày 06 viên (2400 mg), hay $2400\text{mg}/50\text{kg}/24\text{h} = 48\text{mg}/\text{kg}/24\text{h}$. Quy đổi liều từ người sang động vật,

liều dự kiến có tác dụng trên chuột nhắt (hệ số quy đổi 12) là $576\text{mg}/\text{kg}/\text{ngày}$, được lấy làm liều 1 trong thử nghiệm này. Liều 2 là $1152\text{mg}/\text{kg}/\text{ngày}$, được lấy gấp đôi liều 1. Bột thuốc được phân tán đều trong nước cất thành hỗn dịch thuốc thử, với các nồng độ khác nhau tùy theo mức liều dùng, và cho chuột uống bằng kim cong đầu tù chuyên dụng.

Thuốc tham chiếu: Insulin (Humulin 30/70 Fioles do Pháp sản xuất), mỗi ml có 100 UI. Insulin được pha loãng trong nước muối sinh lý đến nồng độ 0,01 UI/ml, tiêm phúc mạc cho chuột liều 0,1 ml/10g.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu: Chuột nhắt trắng trường thành, chủng Swiss, số lượng 40 con, giống đực, cân nặng 18 - 22g, dùng cho gây mô hình ĐTĐ tuýp 1 và đánh giá tác dụng hạ glucose máu. Động vật do Ban động vật Học viện Quân y cấp, nuôi dưỡng trong phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm. Việc chăm sóc, tiến hành thí nghiệm và xử lý động vật sau thí nghiệm tuân thủ theo đạo đức nghiên cứu trên động vật và nguyên tắc sử dụng động vật thí nghiệm của Học viện Quân y.

2.1.3. Thiết bị, hóa chất: Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml. Máy xét nghiệm sinh hóa tự động Chemix 180 hãng Sysmex. Cân điện tử của Nhật, độ chính xác 0,001 gam. Bộ dụng cụ mổ động vật cỡ nhỏ; Que thử glucose máu và máy đọc kết quả One Touch

Profile Metter do hãng Johnson & Johnson sản xuất; Máy xét nghiệm Elisa bán tự động Awareness Stat Fax 4200; Máy đo quang phổ (BioRad); Máy ly tâm lạnh Universal 320 (Hettich - Đức).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Phương pháp gây mô hình ĐTD tuýp 1 ở chuột nhắt trắng.

Chuột nhắt trắng Swiss giống đực, được tiêm màng bụng liều đơn STZ 150mg/kg để gây ĐTD theo kiểu mô phỏng ĐTD tuýp 1, theo Doaa Mohamed El-Nagar và cộng sự [3].

Glucose máu lúc đói được định lượng tại các thời điểm 0 giờ, 48 giờ và 7 ngày tính từ thời điểm tiêm STZ. Trước khi lấy máu xét nghiệm glucose, cho chuột nhịn ăn qua đêm trong 16 tiếng. Chuột được lấy máu ở đuôi, ngay sau đó được tiến hành xét nghiệm glucose máu sử dụng que thử glucose máu và máy đọc kết quả One Touch Profile Metter do hãng Johnson & Johnson sản xuất.

Chuột có mức glucose máu ≥ 300 mg/dL ($\geq 16,7$ mmol/dL) được coi là bị ĐTD [2,3].

2.2.2. Đánh giá tác dụng hạ glucose máu ở chuột nhắt trắng gây ĐTD type 1

Các con chuột bị ĐTD (glucose máu ≥ 300 mg/dL), sau khi được tiêm *Streptozocin* 7 ngày, được chia 4 lô, mỗi lô 10 con.

+ Lô 1 (lô chứng): uống nước cất.

+ Lô 2 (lô tham chiếu): tiêm insulin liều 0,1 UI/kg thể trọng/ngày.

+ Lô 3 (lô nghiên cứu): uống Gydenphy 576 mg/kg/ngày.

+ Lô 4 (lô nghiên cứu): uống Gydenphy 1152 mg/kg/ngày.

Chuột được cho uống hoặc tiêm theo phân lô trong 10 ngày. Xét nghiệm đường huyết lúc đói ở các thời điểm trước dùng thuốc 0h, 4h, 8h sau dùng thuốc lần đầu, và ở thời điểm sau 3 ngày và 10 ngày dùng thuốc (lấy máu xét nghiệm ở thời điểm 4h sau dùng thuốc). Xử lý thống kê, so sánh giữa các lô, rút ra kết luận về tác dụng của chế phẩm trên chuột nhắt trắng theo kiểu mô phỏng ĐTD tuýp 1.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được trình bày dưới dạng Mean $\pm$ SD. Sử dụng Student's t test để so sánh sự khác nhau giữa hai giá trị trung bình, bằng phần mềm SPSS 20.0. Kết quả so sánh được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tuân thủ đạo đức trong nghiên cứu y sinh học và hướng dẫn về chăm sóc và sử dụng động vật thực nghiệm của Học viện Quân y.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả gây mô hình đái tháo đường tuýp 1 ở chuột nhắt trắng bằng Streptozocin (STZ)

Kết quả gây mô hình đái tháo đường tuýp 1 ở chuột nhắt trắng được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1. Nồng độ glucose máu chuột sau tiêm STZ (Mean $\pm$ SD)

Thời điểm lấy máu	Nồng độ glucose máu (mg/dL)				p
	Lô 1 (1)	Lô 2 (2)	Lô 3 (3)	Lô 4 (4)	
Trước tiêm STZ (a)	119,96 $\pm$ 20,57	120,32 $\pm$ 19,84	124,14 $\pm$ 24,75	122,51 $\pm$ 22,72	> 0,05
Sau tiêm 48h (b)	341,07 $\pm$ 34,94	342,89 $\pm$ 33,12	344,34 $\pm$ 35,13	339,98 $\pm$ 28,94	> 0,05
Sau tiêm 7 ngày (c)	401,31 $\pm$ 77,53	399,67 $\pm$ 88,09	406,22 $\pm$ 79,90	400,04 $\pm$ 84,63	> 0,05
p	$p_{b,c-a} < 0,01$ $p_{b-c} < 0,05$	$p_{b,c-a} < 0,01$ $p_{b-c} < 0,05$	$p_{b,c-a} < 0,01$ $p_{b-c} < 0,05$	$p_{b,c-a} < 0,01$ $p_{b-c} < 0,05$	-

Nhận xét: Tại thời điểm 48h sau tiêm STZ 150mg/kg, nồng độ glucose máu chuột ở các lô dao động quanh 340 mg/dL, tăng cao so với trước khi tiêm STZ (dao động quanh 140 mg/dL), khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ glucose máu chuột các lô tiêm STZ sau đó tiếp tục tăng, tại thời điểm 7 ngày sau tiêm STZ nồng độ glucose máu chuột lên ở mức quanh 400 mg/dL.

Với tiêu chí đánh giá chuột bị đái tháo đường mức glucose huyết ≥ 300 mg/dL, chuột ở các lô tiêm STZ tại thời điểm 48h sau tiêm đã được coi là đái tháo đường, và biểu hiện bệnh lý đái tháo đường của chuột ổn định và rõ rệt hơn tại thời điểm 7 ngày sau tiêm STZ.

3.3. Tác dụng hạ glucose máu của viên nang *Gydenphy* trên chuột nhắt trắng đái tháo đường tuýp 1

Bảng 2. Nồng độ glucose máu chuột sau uống *Gydenphy* (Mean $\pm$ SD)

Thời điểm lấy máu	Nồng độ glucose máu (mg/dL)			
	Lô 1 (1) (uống nước cất)	Lô 2 (2) (tiêm insulin)	Lô 3 (3) (uống <i>Gydenphy</i> L1)	Lô 4 (4) (uống <i>Gydenphy</i> L2)
Tại 0h (a)	401,31 $\pm$ 77,53	399,67 $\pm$ 88,09	406,22 $\pm$ 79,90	400,04 $\pm$ 84,63
Sau 4h (b)	397,49 $\pm$ 79,44	177,63 ^{Δ} $\pm$ 29,67 (giảm 55,56 %)	314,13 ^{Δ*} $\pm$ 35,13 (giảm 22,67 %)	308,49 ^{Δ*} $\pm$ 28,94 (giảm 22,88 %)
Sau 8h (c)	393,48 $\pm$ 74,95	161,25 ^{Δ} $\pm$ 28,03 (giảm 59,65 %)	310,31 ^{Δ*} $\pm$ 29,48 (giảm 23,61 %)	300,85 ^{Δ*} $\pm$ 28,39 (giảm 24,80 %)
Sau 3 ngày (d)	391,12 $\pm$ 74,26	170,17 ^{Δ} $\pm$ 19,66 (giảm 57,42 %)	257,71 ^{Δ*} $\pm$ 28,39 (giảm 36,56 %)	248,98 ^{Δ*} $\pm$ 23,30 (giảm 37,76 %)
Sau 10 ngày (e)	389,12 $\pm$ 71,69	166,35 ^{Δ} $\pm$ 18,38 (giảm 58,38 %)	172,35 ^{Δ} $\pm$ 17,65 (giảm 57,57 %)	167,79 ^{Δ} $\pm$ 17,11 (giảm 58,05 %)
p	> 0,05	$p_{b,c,d,e-a} < 0,01$	$p_{b,c-a} < 0,05$; $p_{d,e-a} < 0,01$; $p_{b,c,e} < 0,05$;	

Δ : $p < 0,01$ so với (1); Δ : $p < 0,05$ so với (1); *: $p < 0,05$ so với (2)

Nhận xét: Các chuột ở lô 1 chỉ uống nước cất, sau 4h, 8h, 3 ngày và 10 ngày nồng độ glucose máu luôn ở mức cao, hầu như không thay đổi ($p > 0,05$). Nồng độ glucose máu chuột ở lô 2 (tiêm Insulin) tại các thời điểm sau dùng thuốc giảm nhanh và mạnh (từ 55,56% đến 59,65%) so với trước dùng thuốc, với $p < 0,01$; đồng thời cũng giảm rõ khi so với ở lô 1 chỉ uống nước cất ($p < 0,01$). So với trước dùng thuốc, nồng độ glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại thời điểm sau 4h giảm lần lượt là 22,67% và 22,88% ($p < 0,05$); tại thời điểm sau 8h giảm lần lượt là 23,61% và 24,08% ($p < 0,05$); tại thời điểm sau 3 ngày giảm lần lượt là 36,56% và 37,76% ($p < 0,01$); tại thời điểm sau 10 ngày giảm lần lượt là 57,57% và 58,05% ($p < 0,01$). So với ở lô 1 chỉ uống nước cất, nồng độ glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại các thời điểm sau 4h và sau 8h giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; tại các thời điểm sau 3 ngày và sau 10 ngày giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại thời điểm sau 10 ngày dùng thuốc giảm nhiều nhất, giảm có ý nghĩa thống kê so với trong cùng lô tại các thời điểm sau 4h và sau 8h ($p < 0,05$), và tương đương so với ở lô dùng insulin ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

ĐTĐ tuýp 1 ở người có đặc điểm là sự phá hủy của tế bào beta tuyến tụy do tự miễn dịch, dẫn đến giảm sản xuất insulin. Ở các mô hình động vật, sự thiếu hụt insulin trong quá trình sản xuất có thể xảy ra bởi nhiều cơ chế khác nhau. Một số mô hình bệnh được sử dụng phổ biến như: gây phá hủy tế bào beta của tuyến tụy (là tế bào sản xuất insulin) bằng hóa chất, do quá trình tự miễn, hoặc bằng cách lai tạo các giống chuột có bệnh ĐTĐ tuýp 1. Chuột ĐTĐ phụ thuộc insulin do di truyền, mô hình gây ĐTĐ do virus gây ra. Mô hình không sử dụng động vật gặm nhấm như lợn, chó và động vật linh trưởng.

Để đánh giá tác dụng hạ glucose máu của viên nang Gydenphy trên mô hình ĐTĐ tuýp 1, trong nghiên cứu này chúng tôi sử dụng mô hình ĐTĐ do hóa chất (Streptozocin) liều cao (150mg/kg). Theo các nghiên cứu đã công bố [2, 3], liều cao Streptozocin gây ra sự phá hủy nặng các tế bào beta tuyến tụy, từ đó gây thiếu hụt bền vững insulin, tương tự như cơ chế ĐTĐ tuýp 1 ở người. STZ thúc đẩy sự phân hủy tế bào β , sau khi khởi phát ĐTĐ, rối loạn chức năng tế bào β được duy trì bởi tình trạng tăng đường huyết dai dẳng. Mô hình có ưu điểm là tiến hành đơn giản, thích hợp để sử dụng khi thử nghiệm các loại thuốc hoặc liệu pháp mà cơ chế hoạt động chính là hạ đường huyết theo

cách không phụ thuộc vào tế bào beta. ĐTĐ thường được gây ra khoảng 5–7 ngày trước khi bắt đầu thử nghiệm để đảm bảo tình trạng tăng đường huyết ổn định [2]. Liều STZ đơn gây ĐTĐ type 1 còn phụ thuộc vào chủng, giới, dao động từ mức 100mg/kg-200mg/kg với một liều đơn duy nhất. Với chuột nhắt giống Swiss liều thích hợp để gây mức đường huyết $> 300\text{mg/dl}$, sau khi tiến hành dò liều chúng tôi nhận thấy liều STZ thích hợp gây ĐTĐ tuýp 1 dao động quanh mức 150mg/kg. Dò liều từ 100mg/kg khởi đầu, sau đó tăng dần lên 10mg/kg cân nặng cho liều tiếp theo. Phù hợp với nghiên cứu năm 2016 của Badr Abdullah Aldahmash chuột được nhin ăn trong 20 giờ trước khi gây ra ĐTĐ bằng cách tiêm STZ hòa tan trong dung dịch đệm citrate 0,1 mol/l lạnh, pH 4,5 (luôn được chuẩn bị tươi để sử dụng ngay trong vòng 5 phút). STZ tiêm liều duy nhất (150 mg/kg) được tiêm trong màng bụng. Nồng độ đường huyết được đo sau 3 ngày tiêm STZ để xác định ĐTĐ. Các mẫu máu được thu thập từ đuôi, xác định glucose trong máu bằng phương pháp đo quang phổ glucose oxidase/peroxidase (Braham và Tinder, 1972) [3]. Mức liều tiêm STZ của chúng tôi thấp hơn so với liều 200mg/kg của Brian L Furman (2015) [2], có lẽ do việc sử dụng chủng loại chuột khác nhau. Sau khi tiêm STZ ngày nồng độ glucose máu chuột gây ĐTĐ tuýp 1 tăng dần so với trước khi

tiêm và cao hơn mức mong muốn là 234 mg/dl, thời điểm 48h glucose máu dao động quanh mức 340 mg/dl và đặc biệt sau thời điểm tiêm 7 ngày nồng độ glucose máu chuột ổn định ở mức 400 mg/dl.

Kết quả nghiên cứu cho thấy Gydenphy liều 576 mg/kg/ngày và 1152 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng làm giảm glucose máu ($p < 0,05$ so với lô chứng bệnh lý).

Hiệu quả của viên nang Gydenphy trên chuột nhắt trắng gây ĐTĐ tuýp 1 được thể hiện ở Bảng 2. Ở lô 1 chỉ uống nước cất, nồng độ glucose máu luôn ở mức cao, hầu như không thay đổi ($p > 0,05$). Ở lô tiêm insulin nồng độ glucose giảm nhanh và mạnh so với trước dùng thuốc, với $p < 0,01$. Kết quả nghiên cứu cho thấy Gydenphy liều 576 mg/kg/ngày và 1152 mg/kg/ngày đều thể hiện tác dụng làm giảm glucose máu ($p < 0,05$ so với lô chứng bệnh lý). Nồng độ glucose máu ở các lô dùng Gydenphy (liều 1 và liều 2) tại thời điểm sau 10 ngày dùng thuốc giảm nhiều nhất, giảm có ý nghĩa thống kê so với trong cùng lô tại các thời điểm sau 4h và sau 8h ($p < 0,05$), và tương đương so với ở lô dùng Insulin ($p > 0,05$). Kết quả này phù hợp với một số kết quả nghiên cứu [3, 5, 6] cho thấy thuốc từ dược liệu phải sau nhiều ngày uống mới thể hiện tác dụng rõ rệt nhất. Đây là cơ sở để thiết kế nghiên cứu cho chuột uống thuốc trong 10 ngày.

Kết quả nghiên cứu về tác dụng hạ đường huyết của Gydenphy

hoàn toàn phù hợp với đặc điểm tác dụng của các dược liệu trong bài thuốc dùng bào chế viên nang Gydenphy với tính chất dược liệu, khả năng hạ glucose máu của từng dược liệu.

Như Giảo cổ lam ức chế hoạt động của protein tyrosine phosphatase 1B [7], tăng cường độ nhạy insulin, cải thiện độ nhạy insulin của gan bằng cách ức chế tạo gluconeogenesis, kích thích giải phóng insulin ở đảo tụy khi nồng độ đường cao, kích thích giải phóng insulin từ các đảo tụy, ức chế phụ thuộc vào liều lượng đối với hoạt động của α -glucosidase, ức chế sự hấp thụ glucose và ảnh hưởng đến sự biểu hiện protein của GLUT2, nhưng không ảnh hưởng đến sự biểu hiện protein của SGLT1, kích thích tiết insulin ở nồng độ glucose cao nhưng hạn chế ở nồng độ glucose thấp, tăng biểu hiện của màng cơ xương với protein GLUT-4 và ức chế tình trạng viêm cơ xương [8].

Thạch học giảm lượng đường huyết lúc đói ở chuột mắc bệnh ĐTĐ, giảm quá trình apoptosis của tế bào đảo nhỏ ở chuột bị ĐTĐ, giảm biểu hiện mRNA Bax, tăng biểu hiện của Bcl-2mRNA trong mô tụy của chuột mắc bệnh ĐTĐ, ngăn ngừa bệnh ĐTĐ liên quan đến sự gia tăng glycogen và taurine ở gan cũng như điều chỉnh năng lượng và chuyển hóa axit amin, hoạt động chống oxy hóa của Thạch học để ngăn các biến chứng ĐTĐ do STZ gây ra [5].

Me rừng kích thích sự hấp thụ glucose trong tế bào mỡ 3T3-L1 theo cách phụ thuộc vào liều lượng, tác dụng của cả me rừng ở 200 μ g/ml tương đương với insulin và lớn hơn pioglitazone [6], thông qua hiệu ứng nhạy cảm với insulin (kích thích hấp thụ glucose vào tế bào mỡ), ức chế tốt α -glucosidase (Corilagin) cải thiện việc sử dụng glucose ở ngoại vi, tăng độ nhạy insulin hoặc đặc tính chống oxy hóa Gydenphy là một trong những cơ sở khoa học cho việc sử dụng rộng rãi và phát triển sản phẩm chăm sóc sức khỏe.

5. KẾT LUẬN

Viên nang Gydenphy liều 576mg/kg/ngày và liều 1152 mg/kg/ngày có tác dụng làm giảm glucose máu trên chuột nhất trắng gây ĐTĐ tuýp 1 bằng Streptozocin.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu là một phần nội dung trong đề tài nghiên cứu cấp tỉnh Cao Bằng do Học viện Quân y chủ trì. Chúng tôi cảm ơn tỉnh Cao Bằng đã cấp kinh phí cho thực hiện nghiên cứu, cảm ơn Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bộ Y tế (2009)**, Lão khoa Y học cổ truyền, Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr. 117-145.
2. **Brian LF (2015)**, Streptozotocin - Induced Diabetic Models in Mice

- and Rats", Current Protocols in Pharmacology. 70, 10.1002/047114755.
3. **Aldahmash BA, El-Nagar DM, Ibrahim KE (2016)**, Attenuation of hepatotoxicity and oxidative stress in diabetes STZ-induced type 1 by biotin in Swiss albino mice, Saudi J Biol Sci, 23(2):311-317.
 4. **Ngoc NB, Lin ZL, Ahmed W (2020)**, Diabetes: What Challenges Lie Ahead for Vietnam? Ann Glob Health, 86(1):1.
 5. **Hou SZ, Liang CY, Liu HZ, Zhu DM, Wu YY, et al (2016)**, Dendrobium officinale Prevents Early Complications in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats, Evid Based Complement Alternat Med. 2016:6385850.
 6. **Samidha A, Kalekar (2013)**, Insulin sensitizing effect of 3 Indian medicinal plants: An in vitro study, Indian J Pharmacol. 45(1):30-3.
 7. **Hung TM, Hoang DM, Kim JC, Jang HS, Ahn JS, Min BS (2009)**, Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory by dammaranes from Vietnamese Giao-Co-Lam tea, J Ethnopharmacol. 124(2):240-5..
 8. **Huyen VT, Phan DV, Thang P, Hoa NK, Ostenson CG (2013)**, Gynostemma pentaphyllum Tea Improves Insulin Sensitivity in Type 2 Diabetic Patients, J Nutr Metab. 2013:765383.

SUMMARY**EFFECTS OF GYDENPHY CASPULES ON STREPTOZOTOCIN-INDUCED TYPE1 DIABETIC IN SWISS MOUSE MODEL**

**Nguyen Trinh Thach Thi¹ , Nguyen Duy Tuan¹, Nguyen Thanh Ha Tuan²,
Do Thi Huong Lan, Nguyen Hoang Ngan²**

¹Vietnam University of Traditional Medicine

²Vietnam Military Medical University

Objective: Evaluation the hypoglycemic effect of Gydenphy capsules on Streptozotocin-induced type 1 diabetic in Swiss mouse model. **Methods:** The type 1 diabetic model was established by intraperitoneal injections of Streptozotocin 150mg/kg in Swiss mouse. Then, the Gydenphy were orally administered daily at a dose of 576 mg/kg/day or 1152 mg/kg/day in 10 days. Blood glucose concentration in the Gydenphy oral groups with that of water control group and the intraperitoneal insulin injection group was compared.

Results: Blood glucose concentration in the groups using Gydenphy (dose 576 mg/kg/24h and dose 1152 mg/kg/24h) significant decreased compared to the distilled water group at ($p < 0.05$ at the time of 4 hours, 8 hours; $p < 0.01$ at the time of 3, 10 days). The hypoglycemic effect of Gydenphy at 576 mg/kg/day and 1152 mg/kg/day at 4 hours, 8 hours and 3 days were inferior to insulin 0.1 UI/kg/day for glycemic control. However, the hypoglycemic effect of Gydenphy were equivalent to insulin after 10 consecutive days on treatment.

Conclusion: Gydenphy capsules have hypoglycemic effects on Streptozotocin-induced type 1 diabetes in Swiss mouse model.

Keywords: Type 1 diabetes, Gydenphy, Swiss mice.

ẢNH HƯỞNG CỦA NP ĐỐI VỚI MỘT SỐ CHỈ SỐ HUYẾT HỌC VÀ MIỄN DỊCH TRÊN CHUỘT MANG KHỐI U RẮN SARCOMA TG180

Bùi Thị Thu Hà^{1,2,*}, Vũ Mạnh Hùng³, Nguyễn Thanh Hải⁴,
Nguyễn Thanh Hà Tuấn³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá ảnh hưởng của cao chiết giàu saponin chiết xuất từ rễ tam thất có hấp - NP(H) và không hấp hơi nóng - NP(O) lên một số chỉ số huyết học và miễn dịch trên chuột nhắt trắng mang khối u rắn sarcoma 180.

Phương pháp: Chuột được tiêm tế bào Sarcoma TG180 vào đùi để gây khối u, sau đó cho uống NP(O), NP(H), Lentinan hoặc nước muối sinh lý từ ngày thứ 6 đến ngày 22 kể từ khi tiêm. Ngày 22, mẫu máu được lấy để xét nghiệm IL-2, TNF- α và các chỉ số huyết học; khối lượng tương đối của lách, tuyến ức được xác định. **Kết quả:** NP(H) và NP(o) (liều 300 mg/kg/ngày và 900 mg/kg/ngày) đều làm tăng số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, điều chỉnh số lượng bạch cầu và tiểu cầu về mức sinh lý, tăng IL-2 và TNF- α máu, tăng cân nặng tương đối của lách và tuyến ức. Tác dụng làm tăng số lượng hồng cầu và hemoglobin của NP(H) tốt hơn so với NP(o) ở cùng mức liều cũng như so với Lentinan liều 240 mg/kg/ngày ($p < 0,05$). Tác dụng làm tăng IL-2 và TNF- α máu, tăng khối lượng tương đối của lách và tuyến ức của NP(H) tương đương so với Lentinan liều 240 mg/kg/ngày ($p > 0,05$) và tốt hơn so với NP(o) ở cùng mức liều ($p < 0,05$). **Kết luận:** Cao chiết giàu saponin chiết xuất từ rễ tam thất có tác dụng cải thiện chỉ số huyết học và tăng cường miễn dịch trên chuột nhắt trắng mang khối u rắn sarcoma 180, trong đó cao chiết từ tam thất hấp thể hiện tác dụng tốt hơn so với cao chiết từ tam thất không hấp.

Từ khóa: tam thất, hấp hơi nóng, chỉ số huyết học, tăng cường miễn dịch.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tam thất (*Panax notoginseng*) là một dược liệu có nhiều tác dụng quý: kháng u, tăng cường miễn dịch, chống oxy hoá, bảo vệ gan,...

Trong đánh giá tác dụng kháng u của tam thất, các nghiên cứu chỉ ra tam thất được xử lý hấp qua hơi nóng làm tăng hàm lượng các ginsenoside có hoạt tính ức chế tế bào ung thư, đồng thời làm tăng tác dụng miễn dịch và chống oxy hóa, tăng tác dụng kháng khối u ... [4,5]. Nâng cao thể trạng, cải thiện tình trạng miễn dịch luôn được quan tâm trong điều trị ung thư. So với hóa chất và xạ trị diệt tế bào ung thư

¹Bệnh viện Y học cổ truyền-Bộ Công an

²Viện Dược liệu, ³Học viện Quân Y

⁴Đại học Quốc gia Hà Nội

*Tác giả thực hiện và chịu trách nhiệm chính:

Bùi Thị Thu Hà

Email: buihuha2206@yahoo.com.vn

Ngày tiếp nhận: 22/5/2021

Ngày phản biện: 24/5/2021

Ngày chấp nhận: 15/6/2021

đồng thời diệt cả tế bào lành, các dược liệu như tam thất thể hiện được tác dụng ức chế tế bào ung thư đồng thời với tác dụng tăng cường miễn dịch và một số tác dụng hỗ trợ khác, có thể được xem là một sự hỗ trợ làm tăng hiệu quả và tính an toàn trong điều trị ung thư.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đánh giá ảnh hưởng của cao chiết giàu saponin chiết xuất từ rễ tam thất có hấp và không hấp hơi nóng lên một số chỉ số huyết học và miễn dịch trên chuột nhắt trắng mang khối u rắn sarcoma TG180.

2. CHẤT LIỆU, ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Chất liệu, đối tượng và thiết bị nghiên cứu

2.1.1. Thuốc nghiên cứu: các mẫu cao chiết giàu saponin chiết xuất từ rễ tam thất khô có hấp hơi nóng ở 120°C trong 8h, ký hiệu là NP(H) và cao chiết giàu saponin chiết xuất từ rễ tam thất không hấp hơi nóng, ký hiệu là NP(O). Mẫu dược liệu tam thất là rễ củ 4 năm của cây tam thất (*Panax notoginseng* (Burk.) F.H.) được trồng tại Simacai, Lào Cai. Các cao NP (H) và NP(O) ước bào chế tại Viện dược liệu Trung ương, đạt tiêu chuẩn cơ sở. Hàm lượng các saponin trong cao định chuẩn NP(O) và NP(H) được trình bày ở Bảng 1.

Bảng 1. Hàm lượng các saponin trong cao định chuẩn *Panax notoginseng* (Mean $\pm$ SD)

Tên mẫu	Độ ẩm (%)	Hàm lượng các saponin trong cao (%)						
		Rg1	Re	Rb1	Rh1	Rd	Rg3	Tổng
NP(o)	9,90	11,70 $\pm$ 0,16	1,81 $\pm$ 0,01	14,89 $\pm$ 0,18	0,30 $\pm$ 0,01	3,23 $\pm$ 0,08	0,38 $\pm$ 0,01	32,32 $\pm$ 0,41
NP(H)	6,60	Không phát hiện	Không phát hiện	5,30 $\pm$ 0,07	2,57 $\pm$ 0,12	0,83 $\pm$ 0,03	16,16 $\pm$ 0,07	24,62 $\pm$ 0,20

Thuốc tham chiếu: Lentinan (Carbosynth Limited., UK; Batch: FL 333211401). Product code FL33321; CAS No.37339-90-5.

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu

- Chuột nhắt trắng trưởng thành, chủng Swiss, số lượng 70 con, không phân biệt giống, cân nặng 20 - 22g, do Ban động vật Học viện Quân y cấp, nuôi dưỡng trong

phòng nuôi động vật thí nghiệm ít nhất một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

- Dòng tế bào u sarcoma TG 180 dùng để cấy gây khối u đuôi trên chuột nhắt trắng: là dòng tế bào

sống trôi nổi trong môi trường nuôi cấy in vitro, có nguồn gốc từ chuột nhắt trắng Mus musculus chủng Swiss Webster bị ung thư mô liên kết, do ATCC cung cấp, được hoạt hóa và nhân nuôi tại bộ môn Sinh học tế bào, Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội.

2.1.3. Thiết bị, hóa chất: Kim đầu tù cho chuột uống, cốc chia vạch, bơm kim tiêm 1ml. Thước kẹp caliper dùng đo kích thước khối u đùi chuột.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Tiến hành nghiên cứu trên 7 lô chuột nhắt trắng, mỗi lô 10 con.

- Lô 1 - chứng sinh lý (SL): chuột không gây u, uống nước muối sinh lý 0,3 mL/20g.

- Lô 2 - ung thư (UT): chuột gây u, uống nước muối sinh lý 0,3 mL/20g.

- Lô 3 - Lentinan (LTN): chuột gây u, uống Lentinan liều 240 mg/kg/ngày.

- Lô 4 - NP(O)-1: chuột gây u, uống NP(O) liều 300 mg/kg/ngày.

- Lô 5 - NP(O)-2: chuột gây u, uống NP(O) liều 900 mg/kg/ngày.

- Lô 6 - NP(H)-1: chuột gây u, uống NP(H) liều 300 mg/kg/ngày.

- Lô 7 - NP(H)-2: chuột gây u, uống NP(H) liều 900 mg/kg/ngày.

Chuột gây u bằng cách tiêm 0,1 mL hỗn dịch tế bào Sarcoma TG180 (5×10^6 tế bào/mL) vào cơ đùi sau bên phải. Các chuột nhắt trắng sau 5 ngày được tiêm huyền dịch chứa 5×10^5 tế bào sarcoma TG 180 vào dưới da đùi phải đều

xuất hiện những khối ung thư phát triển tại dưới da đùi, thể tích khối u tăng dần theo thời gian gây u. Chế phẩm NP(O), NP(H), Lentinan và nước muối sinh lý được cho chuột uống (theo phân lô) từ ngày thứ 6 kể từ khi tiêm thành công tế bào ung thư Sarcoma TG180, và cho uống liên tục trong 16 ngày.

Vào thời điểm kết thúc thí nghiệm (ngày thứ 22 sau cấy truyền khối u chuột), tiến hành lấy mẫu để đánh giá các chỉ số nghiên cứu.

- Lấy máu hốc mắt của chuột để định lượng IL-2, TNF- α và các chỉ số huyết học.

- Sau khi lấy máu, giết chuột bằng làm lệch đốt sống cổ, bóc lộ lách, tuyến ức, lọc sạch các tổ chức xung quanh, dùng gạc thấm khô rồi đem cân, qua đó tính khối lượng của lách và tuyến ức chuột trên 100g thể trọng chuột.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được trình bày dưới dạng giá trị trung bình (Mean) $\pm$ SD. Sử dụng phân tích phương sai 1 chiều (One-way ANOVA) và Post Hoc least-significant differences (LSD) test để so sánh sự khác nhau giữa hai giá trị trung bình, bằng phần mềm IBM SPSS Statistics 20.0. Kết quả so sánh được coi là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tuân thủ theo đạo đức trong nghiên cứu y sinh học và hướng dẫn về chăm sóc và sử dụng động vật thực nghiệm của Học viện Quân y.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Kết quả đánh giá các chỉ số huyết học

a. Kết quả đánh giá số lượng và công thức bạch cầu trong máu chuột nghiên cứu

- Ở lô chuột gây u không điều trị (UT), số lượng bạch cầu tăng cao, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý (SL) với $p < 0,05$. Các lô gây u được điều trị bằng Letinan (LTN), cao định

chuẩn tam thất hấp (NP(H)-1 và NP(H)-2, và cao định chuẩn tam thất không hấp (NP(O)-1 và NP(O)-2), số lượng bạch cầu thấp hơn so với lô UT ($p < 0,05$), trở về tương đương so với lô SL ($p > 0,05$).

- Công thức bạch cầu không có sự thay đổi nhiều giữa các lô ($p > 0,05$).

Số lượng và công thức bạch cầu trong máu chuột được trình bày ở

Bảng 2.

Bảng 2. Số lượng và công thức bạch cầu trong máu chuột (Mean $\pm$ SD, $n=10$).

Lô nghiên cứu	Số lượng bạch cầu (G/L)	Công thức bạch cầu				
		NEU (%)	LYM (%)	MONO (%)	EOS (%)	BASO (%)
SL (1)	7,26 $\pm$ 1,44	74,25 $\pm$ 5,92	19,02 $\pm$ 1,65	4,91 $\pm$ 0,36	0,56 $\pm$ 0,04	0,58 $\pm$ 0,16
UT (2)	10,14 $\pm$ 2,90	75,53 $\pm$ 5,26	18,61 $\pm$ 1,80	4,75 $\pm$ 0,62	0,51 $\pm$ 0,05	0,62 $\pm$ 0,17
LTN (3)	7,54 $\pm$ 1,48	74,36 $\pm$ 6,10	18,65 $\pm$ 1,59	5,19 $\pm$ 0,83	0,52 $\pm$ 0,02	0,61 $\pm$ 0,09
NP(O)-1 (4)	8,03 $\pm$ 1,26	74,90 $\pm$ 6,74	18,83 $\pm$ 1,72	5,31 $\pm$ 0,27	0,55 $\pm$ 0,04	0,51 $\pm$ 0,13
NP(O)-2 (5)	7,90 $\pm$ 0,91	74,66 $\pm$ 6,63	18,68 $\pm$ 1,58	5,41 $\pm$ 0,27	0,55 $\pm$ 0,01	0,51 $\pm$ 0,14
NP(H)-1 (6)	7,41 $\pm$ 1,38	75,04 $\pm$ 6,24	18,41 $\pm$ 1,54	5,45 $\pm$ 0,22	0,57 $\pm$ 0,04	0,53 $\pm$ 0,16
NP(H)-2 (7)	7,38 $\pm$ 1,37	74,45 $\pm$ 6,93	19,04 $\pm$ 2,01	5,42 $\pm$ 2,47	0,54 $\pm$ 0,07	0,56 $\pm$ 0,18
p	$p_2 < 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$	$> 0,05$

b. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu huyết học

- So với lô chứng sinh lý (SL), ở lô gây u không điều trị (UT) có số lượng hồng cầu và hemoglobin giảm ($p < 0,01$), hematocrit giảm ($p < 0,05$), số lượng tiểu cầu tăng cao ($p < 0,05$).

- So với lô UT, các lô NP(H)-1 và NP(H)-2 có số lượng hồng cầu và hemoglobin tăng ($p < 0,01$), hematocrit tăng ($p < 0,05$), số lượng tiểu cầu giảm ($p < 0,05$). Các chỉ số này thay đổi về mức tương đương so với lô SL.

- Các lô LTN, NP(O)-1 và NP(O)-2 có số lượng hồng cầu và

hemoglobin tăng ($p < 0,05$), hematocrit tăng ($p < 0,05$), số lượng tiểu cầu giảm ($p < 0,05$) so với lô UT. Tuy nhiên, số lượng hồng cầu và hemoglobin ở các lô này vẫn còn thấp hơn so với lô SL cũng như các lô NP(H)-1 và NP(H)-2 ($p < 0,05$).

- Số lượng tiểu cầu, số lượng hồng cầu, hemoglobin và hematocrit giữa các lô LTN, NP(O)-1 và NP(O)-2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Thể tích trung bình hồng cầu giữa các lô chuột nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Các chỉ tiêu huyết học của chuột được trình bày ở Bảng 3.

Bảng 3. Kết quả đánh giá một số chỉ tiêu huyết học ($n = 10$, $\bar{X} \pm SD$)

Lô nghiên cứu	Số lượng hồng cầu (T/L)	Hb (g/L)	Hct (%)	MCV(fl)	Số lượng tiểu cầu (G/L)
SL (1)	$7,74 \pm 1,30$	$168,24 \pm 16,90$	$44,20 \pm 3,63$	$51,35 \pm 4,51$	$584,81 \pm 150,01$
UT (2)	$5,89^{\Delta} \pm 0,90$	$141,30^{\Delta} \pm 14,31$	$40,14^{\Delta} \pm 3,06$	$51,19 \pm 4,03$	$838,60^{\Delta} \pm 238,85$
LTN (3)	$6,73^{*} \pm 0,76$	$153,18^{*} \pm 9,61$	$42,95^{*} \pm 2,24$	$51,22 \pm 4,35$	$628,34^{*} \pm 123,89$
NP(O)-1 (4)	$6,66^{*} \pm 0,74$	$153,04^{*} \pm 9,92$	$42,89^{*} \pm 2,05$	$51,24 \pm 3,98$	$619,68^{*} \pm 154,82$
NP(O)-2 (5)	$6,72^{*} \pm 0,75$	$154,12^{*} \pm 10,83$	$43,01^{*} \pm 2,38$	$51,27 \pm 4,36$	$608,21^{*} \pm 136,50$
NP(H)-1 (6)	$7,49^{*} \pm 0,95$	$164,08^{*} \pm 13,02$	$43,68^{*} \pm 3,20$	$51,31 \pm 3,97$	$603,19^{*} \pm 120,55$
NP(H)-2 (7)	$7,59^{*} \pm 1,06$	$166,14^{*} \pm 14,29$	$44,05^{*} \pm 3,12$	$51,33 \pm 4,41$	$615,29^{*} \pm 136,70$
p	$p_{6,7-3,4,5} < 0,05$	$p_{6,7-3,4,5} < 0,05$	$p_{6,7-3,4,5} > 0,05$	$> 0,05$	$p_{6,7-3,4,5} > 0,05$

Δ : $p < 0,05$ so với lô SL; Δ : $p < 0,01$ so với lô SL; $*$: $p < 0,05$ so với lô UT; $**$: $p < 0,01$ so với lô UT

3.2. Kết quả đánh giá nồng độ IL-2 và TNF- α máu

- Ở lô gây u không điều trị (UT), nồng độ IL-2 và TNF- α máu tăng so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$).

- Các lô dùng thuốc, nồng độ IL-2 và TNF- α máu tiếp tục tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô UT ($p < 0,01$ với các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2; $p < 0,05$ với các lô NP(O)-1 và

NP(O)-2. Nồng độ IL-2 và TNF- α máu chuột ở các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với ở các lô NP(O)-1 và NP(O)-2 ($p < 0,05$).

- Nồng độ IL-2 và TNF- α máu giữa các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Nồng độ IL-2 và TNF- α trong máu chuột được trình bày ở **Bảng 4**.

Bảng 4. Kết quả đánh giá nồng độ IL-2 và TNF- α máu
($n = 10$, Mean $\pm$ SD)

Lô nghiên cứu	IL-2 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
SL (1)	7,22 $\pm$ 0,68	25,38 $\pm$ 2,39
UT (2)	8,03 [▲] $\pm$ 0,88	27,45 [▲] $\pm$ 1,43
LTN (3)	9,68 ^{**Δ} $\pm$ 1,02	30,72 ^{**Δ} $\pm$ 2,34
NP(O)-1 (4)	8,72 ^{*Δ} $\pm$ 0,49	28,84 ^{*Δ} $\pm$ 1,35
NP(O)-2 (5)	8,89 ^{*Δ} $\pm$ 0,58	29,01 ^{*Δ} $\pm$ 1,04
NP(H)-1 (6)	9,54 ^{**Δ} $\pm$ 0,77	31,55 ^{**Δ} $\pm$ 3,03
NP(H)-2 (7)	9,93 ^{**Δ} $\pm$ 0,99	31,70 ^{**Δ} $\pm$ 2,94
P	$p_{6,7,3-4,5} < 0,05$; $p_{6,7-3} > 0,05$	$p_{6,7,3-4,5} < 0,05$; $p_{6,7-3} > 0,05$

▲: $p < 0,05$ so với lô SL; Δ: $p < 0,01$ so với lô SL; *: $p < 0,05$ so với lô UT; **: $p < 0,01$ so với lô UT

3.4 Kết quả đánh giá khối lượng của lách và tuyến ức

- Ở lô gây u không điều trị, khối lượng lách và tuyến ức chuột (tính trên 100 g chuột) tăng so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$).

- Các lô dùng thuốc, khối lượng lách và tuyến ức chuột (tính trên 100 g chuột) tiếp tục tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô UT ($p < 0,01$ với các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2; $p < 0,05$ với các lô NP(O)-1 và NP(O)-2. Khối

lượng lách và tuyến ức chuột (tính trên 100 g chuột) ở các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với ở các lô NP(O)-1 và NP(O)-2 ($p < 0,05$).

- Khối lượng lách và tuyến ức chuột (tính trên 100 g chuột)

giữa các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2 khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Khối lượng tương đối của lách và tuyến ức chuột (tính trên 100g chuột) được trình bày ở

Bảng 5.

Bảng 5. Khối lượng tương đối của lách và tuyến ức chuột các lô chuột nghiên cứu ($n = 10$, Mean $\pm$ SD)

Lô nghiên cứu	Khối lượng lách chuột tính trên 100 g chuột (mg/100g)	Khối lượng tuyến ức chuột tính trên 100 g chuột (mg/100g)
SL (1)	3,97 $\pm$ 0,31	1,95 $\pm$ 0,15
UT (2)	4,27 [▲] $\pm$ 0,32	2,16 [▲] $\pm$ 0,18
LTN (3)	4,88 ^{**Δ} $\pm$ 0,35	2,66 ^{**Δ} $\pm$ 0,34
NP(O)-1 (4)	4,57 ^{*Δ} $\pm$ 0,29	2,35 ^{*Δ} $\pm$ 0,23
NP(O)-2 (5)	4,59 ^{*Δ} $\pm$ 0,26	2,37 ^{*Δ} $\pm$ 0,25
NP(H)-1 (6)	4,88 ^{**Δ} $\pm$ 0,26	2,63 ^{**Δ} $\pm$ 0,34
NP(H)-2 (7)	4,92 ^{**Δ} $\pm$ 0,27	2,71 ^{**Δ} $\pm$ 0,37
P	$p_{6,7,3-4,5} < 0,05$; $p_{6,7-3} > 0,05$	$p_{6,7,3-4,5} < 0,05$; $p_{6,7-3} > 0,05$

▲: $p < 0,05$ so với lô SL; Δ: $p < 0,01$ so với lô SL; *: $p < 0,05$ so với lô UT; **: $p < 0,01$ so với lô UT

4. BÀN LUẬN

Nghiên cứu đánh giá các chỉ số huyết học bao gồm hồng cầu, huyết sắc tố, hematocrit (đánh giá mức độ thiếu máu); bạch cầu và công thức bạch cầu (đánh giá đáp ứng miễn dịch ở máu ngoại vi); và tiểu cầu (tế bào máu ngoại vi liên quan tới đông chảy máu). Kết quả nghiên cứu ở bảng 3 cho thấy ở chuột mang khối ung thư sarcoma 180 (lô UT), có hiện tượng thiếu máu biểu hiện bằng số lượng hồng cầu, hemoglobin và hematocrit giảm so với lô chứng sinh lý. Quá trình bệnh lý ung thư thường diễn ra với tình

trạng khối u phát triển lấy đi dinh dưỡng của cơ thể, quá trình chống đỡ bệnh lý cũng gây tiêu hao năng lượng và dinh dưỡng, trong khi cơ thể mệt mỏi làm ăn uống kém, giảm khả năng hấp thu...gây ra tình trạng thiếu máu. Lentinan mặc dù không phải thuốc bổ máu nhưng có tác dụng kháng u, tăng cường miễn dịch [6] giúp cải thiện tình trạng bệnh trên chuột, vì vậy làm giảm tình trạng thiếu máu trên chuột mang khối u ($p < 0,05$ so với lô UT). Cao chiết giàu saponin từ tam thất hấp và không hấp (ở cả hai mức

liều) đều thể hiện tác dụng làm tăng số lượng hồng cầu, hemoglobin và hematocrit trên chuột mang khối u, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô gây u không điều trị. Trong đó, cao chiết giàu saponin từ tam thất không hấp có tác dụng tương đương với Lentinan, còn cao chiết giàu saponin từ tam thất hấp thể hiện tác dụng tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với Lentinan cũng như so với cao chiết giàu saponin từ tam thất không hấp. Tam thất hấp hơi nóng làm thay đổi thành phần hoạt chất, từ đó làm thay đổi tác dụng của tam thất. Cụ thể tam thất hấp hơi nóng có tác dụng tốt làm bổ máu, tăng cường miễn dịch, chống oxy hóa, và kháng u [5, 10]. Đánh giá trên tác dụng kháng u trên nhóm chuột mang khối u cho thấy (số liệu trình bày ở báo cáo khác) cho thấy Letinan 240 mg/kg/ngày cũng như NP(O) và NP(H) liều 300 mg/kg/ngày và 900 mg/kg/ngày đều làm giảm thể tích trung bình khối u ($p < 0,001$ so với lô không dùng thuốc), trong đó NP(H) có tác dụng tốt hơn so với NP(O). Ngoài tác dụng bổ máu của các hoạt chất trong tam thất, tác dụng kháng u cũng góp phần trong cơ chế làm giảm tình trạng thiếu máu trên chuột mang khối u. Tác dụng vượt trội làm giảm tình trạng thiếu máu trên chuột mang khối u của tam thất hấp hơi nóng là một trong những cơ sở khoa học cần quan tâm trong hỗ trợ điều trị ung thư.

Kết quả đánh giá số lượng tiểu cầu cho thấy chuột ở lô UT có số lượng tiểu cầu tăng cao hơn so với

lô SL ($p < 0,05$, Bảng 3). Có thể giải thích đây là tình trạng tăng tiểu cầu phản ứng thường gặp khi chuột bị cấy truyền tế bào ung thư. Các lô gây ung thư có dùng thuốc (Lentinan, cao tam thất cả loại hấp và không hấp) số lượng tiểu cầu bình thường, tương đương với lô SL. Các thuốc dùng thể hiện tác dụng làm giảm, mất tình trạng tăng tiểu cầu phản ứng ở chuột cấy truyền tế bào ung thư. Tăng số lượng tiểu cầu có thể gây rối loạn về đông máu chảy máu, do đó việc bình thường hóa số lượng tiểu cầu trên chuột mang khối u có ý nghĩa tốt trong điều trị.

Số lượng bạch cầu trong máu ngoại vi phản ánh cả hai phương thức đáp ứng miễn dịch tự nhiên và đáp ứng miễn dịch đặc hiệu. Trên chuột bị cấy truyền tế bào ung thư (lô UT), số lượng bạch cầu máu ngoại vi tăng cao ($p < 0,05$ so với lô SL, Bảng 2). Chuột ở các lô gây ung thư có dùng thuốc (Lentinan, cao tam thất cả loại hấp và không hấp) có số lượng bạch cầu giảm so với ở lô UT ($p < 0,05$), trở về tương đương với lô SL. Cơ chế thay đổi của bạch cầu máu ngoại vi ở lô UT có thể do tình trạng phản ứng của cơ thể chuột khi bị tiêm truyền tế bào ung thư. Ở chuột sử dụng thuốc, có thể do tác động điều chỉnh của thuốc đối với quá trình bệnh nên số lượng bạch cầu được điều chỉnh về tương đương với lô SL. Kết quả đánh giá công thức bạch cầu không thấy có sự biến đổi tỷ lệ % các loại bạch cầu (Bảng 2).

Kết quả đánh giá về tác dụng lên số lượng bạch cầu chuột mang khối u sarcoma 180 của chúng tôi tương đồng với kết quả của tác giả Trần Thị Vân Anh và cộng sự (2013) khi đánh giá về tác dụng kháng u của cốm sỏi rừng [7].

Một số chỉ số miễn dịch được đánh giá trong nghiên cứu là nồng độ IL-2 và TNF- α trong máu chuột và cân nặng lách, tuyến ức của chuột. Hệ thống miễn dịch ngoài các cơ quan miễn dịch và các tế bào có thẩm quyền miễn dịch còn có sự tham gia của các cytokine. Đây là những chất tiết quan trọng của các tế bào miễn dịch đã được hoạt hóa bởi kháng nguyên. Trong số đó thì IL-2 và TNF- α là 2 cytokine có vai trò quan trọng trong đáp ứng miễn dịch với các tế bào ung thư [1, 3]. Interleukin-2 (IL-2) do tế bào lympho Th hoạt hóa tiết ra, có tác dụng kích thích tế bào lympho T cụ thể là các tế bào TCD4 và TCD8, đồng thời kích thích tế bào lympho B phát triển và biệt hóa, tăng cường tế bào NK (Natural killer cells) và tế bào LAK (Lymphokine – activated killer cells). Những kết quả nghiên cứu tiền lâm sàng và lâm sàng đều cho thấy, IL-2 có khả năng kích thích, phát triển các tế bào miễn dịch, tăng khả năng tiêu diệt các tế bào ung thư [1, 3]. TNF- α (yếu tố hoại tử khối u) là một cytokine đa chức năng tham gia vào quá trình apoptosis, quá trình viêm và đáp ứng miễn dịch của cơ thể, được tổng hợp chủ yếu ở đại thực bào.

Một số loại tế bào khác cũng tham gia vào tổng hợp TNF- α như các tế bào giết tự nhiên, bạch cầu hạt, lympho bào T, B, tế bào mô mỡ, tế bào sao và nội mạc mạch máu [1]. Sự tổng hợp và tiết TNF- α chủ yếu do sự kích thích khi tế bào tiếp xúc với kháng nguyên. TNF- α ảnh hưởng đến các tế bào đích thông qua các thụ thể đặc hiệu. Định lượng nồng độ IL-2 và TNF α trong huyết thanh chuột nhằm đánh giá tác dụng của thuốc thử lên khả năng chế tiết cytokine.

Kết quả nghiên cứu cho thấy ở lô gây u không điều trị, nồng độ IL-2 và TNF- α máu tăng so với lô chứng sinh lý ($p < 0,05$). Ở các lô dùng thuốc lentinan cũng như cao chiết giàu saponin từ tam thất (cả hấp và không hấp), nồng độ IL-2 và TNF- α máu tiếp tục tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô UT (Bảng 4). Thuốc tham chiếu Lentinan là một beta-1,3 beta-glucan với phân nhánh β -1,6, có tác dụng chính là tăng cường miễn dịch, chống khối u, đã được nhiều nghiên cứu chứng minh [8, 9]. Việc làm tăng nồng độ IL-2 và TNF- α máu trên chuột mang u của Lentinan và cao tam thất thể hiện tác dụng tăng cường miễn dịch theo định hướng chống khối u của thuốc thử. Ở các lô NP(O)-1 và NP(O)-2, nồng độ IL-2 và TNF- α máu chuột thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với ở các lô LTN, NP(H)-1 và NP(H)-2 ($p < 0,05$). Điều này là phù hợp do tam thất không hấp chủ yếu có tác dụng “tả”, làm tan máu đông, thúc đẩy lưu thông

máu, cầm máu và giảm viêm; còn tam thất hấp có tác dụng “bổ”, giúp bổ máu, tăng cường miễn dịch, chống lão hóa, chống oxy hóa.

Tuyến ức và lách là hai cơ quan quan trọng của hệ thống miễn dịch. Tuyến ức là cơ quan miễn dịch trung ương chính của sinh vật, có vai trò điều hòa quan trọng đối với các cơ quan miễn dịch ngoại vi và tế bào miễn dịch. Lá lách, với tư cách là cơ quan miễn dịch ngoại vi lớn nhất, điều hòa miễn dịch trên sinh vật bằng hoạt động thực bào của đại thực bào, miễn dịch tế bào qua trung gian tế bào T và miễn dịch dịch thể qua trung gian tế bào B. Tế bào lympho T chủ yếu được biệt hóa, phát triển và trưởng thành trong tuyến ức, nhưng tất cả các tế bào lympho T và B ở trên đều được hoàn thiện trong lá lách. Khi hai cơ quan này được kích thích tăng cường hoạt động trong đáp ứng tăng cường miễn dịch của cơ thể, khối lượng của hai cơ quan sẽ tăng lên. Vì vậy, đánh giá khối lượng tương đối của lách và tuyến ức được xem là một chỉ số để đánh giá tác dụng tăng cường miễn dịch [2]. Kết quả nghiên cứu cho thấy: ở lô gây u không điều trị (UT), khối lượng tương đối của lách và tuyến ức chuột tăng so với lô chứng sinh lý (SL) ($p < 0,05$); ở các lô dùng thuốc, khối lượng tương đối của lách và tuyến ức chuột tiếp tục tăng và khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô UT (Bảng 5). Thông qua khối lượng tương đối của lách và tuyến ức, ta thấy sự tăng cường hoạt động của

lách và tuyến ức trong đáp ứng miễn dịch ở lô dùng cao giàu saponin từ tam thất hấp là tương đương so với ở lô dùng Lentinan, và tốt hơn có ý nghĩa thống kê so với ở các lô dùng cao giàu saponin từ tam thất không hấp ($p < 0,05$). Kết quả này của i cũng tương đồng với kết quả của Trần Thị Vân Anh và cộng sự [7].

5. KẾT LUẬN

Cao chiết giàu saponin từ rễ tam thất ở cả hai mức liều 300 mg/kg/ngày và 900 mg/kg/ngày đều có tác dụng cải thiện chỉ số huyết học và tăng cường miễn dịch trên chuột nhắt trắng mang khối u rắn sarcoma 180, làm tăng số lượng hồng cầu, hemoglobin, hematocrit, điều chỉnh số lượng bạch cầu và tiểu cầu về mức sinh lý, tăng nồng độ IL-2 và TNF- α máu, tăng khối lượng tương đối của lách và tuyến ức. Tác dụng làm tăng số lượng hồng cầu và hemoglobin của cao chiết từ tam thất hấp hơi nóng tốt hơn so với cao chiết từ tam thất không hấp ở cùng mức liều cũng như so với Lentinan liều 240 mg/kg/ngày ($p < 0,05$). Tác dụng làm tăng nồng độ IL-2 và TNF- α máu, tăng khối lượng tương đối của lách và tuyến ức của cao chiết từ tam thất hấp hơi nóng tương đương so với Lentinan liều 240 mg/kg/ngày ($p > 0,05$) và tốt hơn so với cao chiết từ tam thất không hấp ở cùng mức liều ($p < 0,05$).

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi cảm ơn Bộ môn Dược lý, Học viện Quân y đã giúp đỡ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Berraondo P, Sanmamed MF, Ochoa MC et al (2019)**, Cytokines in clinical cancer immunotherapy, *Br J Cancer*, 120: 6–15.
2. **Dai J, Chen J, Qi J et al (2020)**, Konjac Glucomannan from *Amorphophallus konjac* enhances immunocompetence of the cyclophosphamide-induced immunosuppressed mice, *Food Sci Nutr*, 9(2):728-735.
3. **Jiang T, Zhou C, Ren S (2016)**, Role of IL-2 in cancer immunotherapy. *Oncoimmunology*, 5(6), e1163462.
4. **Sun S, Wang CZ, Tong R et al (2010)**, Effects of steaming the root of *Panax notoginseng* on chemical composition and anticancer activities, *Food Chemistry*, 118 (2): 307-314.
5. **Zhou S, Jiang N, Zhang M, Xiao X, Liu Z, Xu X, Gao Q, Lv W (2020)**. Analyzing Active Constituents and Optimal Steaming Conditions Related to the Hematopoietic Effect of Steamed *Panax notoginseng* by Network Pharmacology Coupled with Response Surface Methodology. *BioMed Research International*, 2020:9371426.
6. **Sun M, Bu R, Zhang B, Cao Y, Liu C, Zhao W (2020)**. Lentinan Inhibits Tumor Progression by Immunomodulation in a Mouse Model of Bladder Cancer. *Integrative cancer therapies*, 19:1534735420946823.
7. **Trần Thị Hải Vân, Nguyễn Quỳnh Anh, Đỗ Hòa Bình, Phan Anh Tuấn (2013)**. Tác dụng kháng ung thư của cốm sồi rừng trên chuột mang u sarcoma 180. *Tạp chí Y dược học cổ truyền Việt Nam*, 38: 9-15.
8. **Vannucci L, Krizan J, Sima P et al (2013)**. Immunostimulatory properties and antitumor activities of glucans (Review). *International Journal of Oncology*, 43: 357-364.
9. **Vetvicka V, Teplyakova TV, Shintyapina AB, Korolenko TA (2021)**. Effects of Medicinal Fungi-Derived β -Glucan on Tumor Progression. *J Fungi (Basel)*;7(4):250.
10. **Xiong Y, Chen L, Hu Y, Cui X (2017)**. Uncovering Active Constituents Responsible for Different Activities of Raw and Steamed *Panax notoginseng* Roots. *Front Pharmacol.*; 8:745.

SUMMARY**EFFECTS OF NP ON SOME HEMATOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL INDICES IN SARCOMA TG180-BEARING MICE**

**Ha Bui Thi Thu^{1,2}, Hung Vu Manh³, Hai Nguyen Thanh⁴,
Tuan Nguyen Thanh Ha³**

Traditional Medicine Ministry of Public Security,

² National Institute of Medicinal Materials

***³ Vietnam Military Medical University, ⁴ Vietnam National University,
Hanoi***

Objective: Evaluate the effects of saponin-rich extracts from *Panax notoginseng* roots with steaming - NP (H) and without steaming - NP (O) on some hematological and immunological indices in sarcoma TG180-bearing mice. **Methods:** The mice were injected with Sarcoma TG180 cells in the thigh to cause tumors, then were oral administrated NP(O), NP(H), Letinan or normal saline from the 6th day to 22nd day since developed tumors. On the 22nd day, blood was taken for IL-2, TNF- α and hematological indicators, revealing and determining the relative weight of spleen and thymus. **Results:** NP(H) and NP(O) at both level of the doses of 300 mg/kg/day and 900 mg/kg/day increased red blood cell count, hemoglobin, hematocrit, adjusted white blood cell and platelet counts return to physiological level, increased blood IL-2 and TNF- α , increased relative weight of spleen and thymus. **Conclusion:** The saponin-rich extracts from *Panax notoginseng* roots had the effects of improving hematological index and enhancing immunity on sarcoma 180-bearing mice, in which the extract from steaming *Panax notoginseng* roots has a better effect compared with no-steaming *Panax notoginseng* roots ones.

Keywords: *Panax notoginseng*, steaming, hematological index, enhancing immunity.

HIỆU QUẢ CẦM MÁU VÀ LÀM LÀNH VẾT THƯƠNG CỦA KEO FIBRIN TỰ THÂN TRÊN ĐỘNG VẬT THỰC NGHIỆM

Hoàng Thu Soan^{1*}, Vũ Tiến Thăng¹, Vũ Thị Kim Liên¹,
Bùi Thị Kiều Vân², Vũ Hoàng Phương Thúy², Nguyễn Mai Hương²,
Phạm Thị Thu Hương¹, Nguyễn Thị Thu Thái¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả cầm máu và làm lành vết thương ghép da của keo dán fibrin tự thân trên động vật thực nghiệm. **Phương pháp:** Phương pháp thực nghiệm, tiến hành trên 6 con thỏ để xác định vai trò của keo fibrin trong cầm máu, khả năng làm lành vết ghép da trên thỏ thực nghiệm thông qua đánh giá tình trạng mảnh ghép: kích thước, độ phồng, màu sắc, ranh giới giữa mảnh ghép với da xung quanh. **Kết quả:** Hiệu quả cầm máu ghép bằng keo fibrin: thời gian cầm máu là $129,33 \pm 42,01$ giây, thời gian ghép là $128,33 \pm 41,87$ giây; ghép bằng khâu chỉ: thời gian cầm máu là $475,17 \pm 59,97$ giây, thời gian khâu là $350,67 \pm 52,23$ giây. Hiệu quả làm lành vết thương: mảnh ghép được dán bằng keo fibrin tự thân ở các thời điểm sau 1 ngày, 3 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 14 ngày, 20 ngày và 30 ngày có hiện tượng lành vết thương sớm hơn, miếng ghép phẳng và sẹp đẹp hơn so với miếng da ghép bằng khâu chỉ. **Kết luận:** Sử dụng keo fibrin tự thân trong ghép da có khả năng cầm máu, làm lành vết thương và đạt độ thẩm mỹ khi tốt hơn so với ghép da bằng chỉ khâu.

Từ khóa: fibrinogen, keo fibrin.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, keo fibrin thương mại được sử dụng trong hầu hết mọi chuyên khoa phẫu thuật. Keo có vai trò hỗ trợ hoặc thay thế chỉ khâu. Nhiều báo cáo về những ứng dụng khác nhau của keo fibrin

trong phẫu thuật chỉnh hình, nhãn khoa, chấn thương, phụ khoa, tiết niệu, tiêu hóa, và phẫu thuật nha khoa [1, 2].... Keo fibrin đã được ghi nhận giúp đẩy nhanh quá trình tái tạo mạch và di chuyển các nguyên bào sợi, do đó kích thích tăng trưởng các tổ chức hạt, mạch máu để làm lành vết thương [3].

Gần đây, tác giả Vũ Thị Kim Liên và chúng tôi đã thành công trong việc sử dụng protamin để tách fibrinogen nhằm tạo keo fibrin tự thân [4]. Tuy nhiên, để giảm thiểu ít nhất việc sử dụng thuốc trong qui

¹Trường Đại học Y - Dược Thái Nguyên

²Trường THPT Lương Ngọc Quyến, TP Thái Nguyên

* Tác giả thực hiện và chịu trách nhiệm chính:

Hoàng Thu Soan

Email: soanyk@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 03/5/2021

Ngày phản biện: 10/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

trình tạo keo thì chúng tôi đã nghiên cứu và hoàn thành việc tách chiết các thành phần của keo fibrin tự thân bằng phương pháp đông lạnh, đây là phương pháp đơn giản, rẻ tiền. Với mong muốn kiểm chứng hiệu quả của keo fibrin đã thực hiện bằng phương pháp đông lạnh chúng tôi đã thực hiện nghiên cứu trên thỏ với mục tiêu: Đánh giá hiệu quả cầm máu và làm lành vết thương ghép da của keo fibrin tự thân trên động vật thực nghiệm.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại labo Bộ môn Sinh lý học trường đại học Y-Dược Thái Nguyên trên 06 con thỏ khỏe mạnh trọng lượng từ 2000-2500 gram, không mang thai, không rối loạn đông máu, tai thỏ không có tình trạng nhiễm trùng.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu*

Nghiên cứu thực nghiệm.

* *Chỉ số nghiên cứu*

- Thời gian cầm máu của keo fibrin trong vết thương ghép da, thời gian ghép da.

- Hiệu quả làm lành vết ghép da trên thỏ thực nghiệm được quan sát bằng mắt thường đánh giá tình trạng mảnh ghép: kích thước mảnh ghép, độ phồng, màu sắc, ranh giới giữa mảnh ghép với da xung quanh. Việc đánh giá được thực hiện bởi sự thống nhất của 2

nghiên cứu viên trong suốt thời gian theo dõi.

* *Các bước thực hiện:*

- Chuẩn bị nguyên liệu để tạo keo: lấy 5 mL máu thỏ ly tâm, tách huyết tương vào 2 ống mỗi ống 1 mL (ống 1 dùng để tách thrombin, ống 2 dùng để tách fibrinogen). Để 2 ống ở nhiệt độ -18°C trong 24 giờ).

- Thực hiện thực nghiệm:

❖ *Đánh giá hiệu quả cầm máu*

+ Chuẩn bị nguyên liệu để tạo keo fibrin: rửa đông 2 ống huyết tương đã gây đông ở trên. Ống 1 thu thập thrombin bằng cách cho thêm vào huyết tương 0,04 mL CaCl_2 10%, thu phần dịch nổi. Ống 2 tách fibrinogen bằng cách gạn bỏ 0,5 mL huyết tương tan trước lấy phần huyết tương còn lại (0,5 mL).

+ Tạo vết thương: tách lấy 2 miếng da (cắt rời) ở 2 tai thỏ ở vị trí tương xứng với độ dày khoảng 0,5 mm, diện tích $1 \times 1,5$ cm. Miếng da thứ nhất, sau khi tách da, nhỏ 0,2 mL thrombin lên nền ghép, ngay sau đó nhỏ 0,2 mL fibrinogen, tiếp tục lấy miếng da vừa cắt được đặt vào lại vị trí đã được trải keo. Miếng da thứ hai sau cắt được khâu lại trên chính vị trí vừa tách bằng chỉ khâu phẫu thuật. Lý do chọn thỏ làm thí nghiệm là vì nồng độ fibrinogen của thỏ và của người tương đương nhau (theo thăm dò của nhóm đã nghiên cứu). Thực hiện kỹ thuật ghép da bằng keo fibrin được chúng tôi tiến hành trước, ngay sau đó thực hiện ghép da bằng chỉ khâu ở bên tai đối diện.

Sở dĩ chúng tôi thực hiện thực nghiệm trên thỏ là vì chúng là động vật hiền lành, có tai lớn nên có thể thực hiện được phẫu thuật trên tai, dễ cố định, chăm sóc và theo dõi vết thương trong quá trình nghiên cứu.

Kết luận thời gian cầm máu, thời gian ghép da ở cả hai tai.

- Thời gian ghép da bằng keo: được tính từ lúc nhỏ keo, đến khi trải xong mảnh da lên vị trí ghép.

- Thời gian ghép da bằng chỉ khâu: được tính từ khi đặt miếng da ghép lên nền ghép đến khi khâu xong.

- Thời gian cầm máu được tính từ khi bắt đầu cắt rời miếng da, tiếp tục thực hiện các bước tiếp theo tùy theo mỗi kỹ thuật, quan sát tình trạng máu chảy, tính đến khi máu ngừng chảy.

❖ **Đánh giá hiệu quả làm lành vết thương của keo fibrin tự thân**

Theo dõi, đánh giá sự bám dính, thay đổi kích thước miếng da ghép, độ phồng, màu sắc, độ phẳng miếng ghép, ranh giới giữa mảnh ghép với da xung quanh, của cả hai miếng da ở các thời điểm: 1, 3, 7, 10, 20 và 30 ngày sau ghép da.

Thực nghiệm được tiến hành lặp lại trên 6 mẫu thỏ.

2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được biểu diễn dưới dạng giá trị tuyệt đối, trung bình và hình ảnh kết quả.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Hiệu quả cầm máu: ghép bằng keo fibrin và hiệu quả làm lành vết thương: mảnh ghép được dán bằng keo fibrin tự thân được thể hiện trong Bảng 1-2, Hình 1-7.

Bảng 1. Thời gian ghép da (giây)

Mẫu	Khâu chỉ (giây)	Keo fibrin (giây)
1	360	80
2	312	100
3	365	190
4	443	164
5	299	105
6	325	131
$\bar{X} \pm SD$	350.67 ± 52.23	128.33 ± 41.87
p	< 0,05	

Nhận xét: thời gian ghép da bằng cách khâu vết thương ($350,67 \pm 52,23$ giây) kéo dài hơn rõ rệt so với ghép da bằng keo fibrin tự thân ($128,33 \pm 41,87$ giây).

Bảng 2. Thời gian cầm máu trong ghép da (giây)

Mẫu	Khâu chỉ (giây)	Keo fibrin (giây)
1	497	85
2	431	100
3	515	180
4	543	180
5	379	100
6	486	131
$\bar{X} \pm SD$	475.17 ± 59.97	129.33 ± 42.01

Nhận xét: thời gian cầm máu nhanh hơn rõ rệt so với ghép da trong quá trình ghép da bằng keo fibrin tự thân ($129,33 \pm 42,01$ giây) bằng cách khâu chỉ ($475,17 \pm 59,97$ giây).

**Ghép bằng keo****Ghép bằng chỉ khâu****Hình 1.** Hình ảnh miếng ghép da trong quá trình phẫu thuật

Nhận xét: sử dụng keo fibrin để ghép da có tác dụng cầm máu và có thời gian ghép da nhanh hơn so với ghép da bằng chỉ khâu (Hình 1).

**Ghép bằng keo****Ghép bằng chỉ khâu****Hình 2.** Hình ảnh miếng ghép da sau 1 ngày

Nhận xét: sau ghép 1 ngày, cả hai miếng da dính chắc, phẳng cao, co ngán lại và không có hiện tượng chảy máu. Sự co ngán và phẳng cao đều ở miếng da được ghép bằng keo fibrin, không đều ở miếng da vá bằng chỉ khâu. Màu sắc miếng da được khâu bằng chỉ có những mảng tím (Hình 2).

**Ghép bằng keo****Ghép bằng chỉ khâu****Hình 3.** Hình ảnh miếng ghép da sau 3 ngày

Nhận xét: sau ghép 3 ngày, cả hai miếng da dính chắc, biểu hiện phồng cao và co ngấn lại của miếng da ghép bằng keo fibrin giảm. Màu

sắc miếng da ghép bằng chỉ khâu có những mảng tím sẫm nhiều hơn miếng da ghép bằng keo fibrin và còn biểu hiện phồng (Hình 3).

**Ghép bằng keo****Ghép bằng chỉ khâu****Hình 4.** Hình ảnh miếng ghép da sau 7 ngày

Nhận xét: sau ghép 7 ngày, cả hai miếng da có hiện tượng mảnh da với nền ghép liên tục dính chặt vào nhau, màu sắc miếng da hồng

hào hơn so với da ở xung quanh. Riêng ở mảnh ghép da bằng chỉ khâu có sẹo chân chỉ và có miếng ghép bị nhiễm trùng (Hình 4).

**Ghép bằng keo****Ghép bằng chỉ khâu****Hình 5.** Hình ảnh miếng ghép da sau 10 ngày

Nhận xét: sau ghép 10 ngày, ở cả hai miếng da ranh giới giữa miếng da và nền ghép thu hẹp, bề mặt phẳng. Riêng ở mảnh vá

da bằng khâu vẫn rõ sẹo chân chỉ. Màu sắc mảnh ghép da hồng hào hơn so với da xung quanh (Hình 5).



Ghép bằng keo



Ghép bằng chỉ khâu

Hình 6. Hình ảnh miếng ghép da sau 20 ngày

Nhận xét: sau ghép 20 ngày, ranh giới giữa miếng da và nền ghép càng thu hẹp và phẳng hơn. Ở mảnh vá da bằng khâu còn rõ sẹo chân chỉ. Miếng

vá da bằng keo fibrin có hiện tượng mọc lông. Màu sắc miếng da ghép ở cả 2 kĩ thuật tương tự da xung quanh (Hình 6).



Ghép bằng keo



Ghép bằng chỉ khâu

Hình 7. Hình ảnh miếng ghép da sau 30 ngày

Nhận xét: sau ghép 30 ngày, ranh giới giữa miếng da và nền ghép mờ, phẳng bằng mặt da. Ở mảnh ghép da bằng chỉ khâu sẹo chân chỉ chưa phẳng. Miếng ghép da bằng keo fibrin lông phát triển dài, miếng ghép phẳng. Màu sắc miếng da ghép ở cả 2 kĩ thuật tương tự da xung quanh (Hình 7).

4. BÀN LUẬN

Các nghiên cứu sử dụng keo fibrin trong phẫu thuật hiện nay đã khá nhiều. Tuy nhiên, đa số đó là những nghiên cứu sử dụng keo dán fibrin thương mại, sẵn có nhưng giá thành đắt và có thể để lại nhiều hậu quả. Tại nghiên cứu của này chúng

tôi đã thử hiệu quả của keo fibrin tự thân được tách chiết theo qui trình gây đông lạnh huyết tương mà chúng tôi đã nghiên cứu được.

** Đánh giá hiệu quả cầm máu trong quá trình phẫu thuật của keo fibrin tự thân*

Tai được ghép bằng keo dán có thời gian cầm máu rất nhanh ($129,33 \pm 42,01$ giây) và quá trình vá da chỉ mất $128,33 \pm 41,87$ giây, nghĩa là chỉ cần nhỏ dung dịch tạo keo và đặt miếng da lên là máu đã ngừng chảy và ngay sau đó miếng da dính vào nền ghép. Trong khi tai có miếng da được khâu bằng chỉ thì quá trình khâu kéo dài hơn ($350,67 \pm 52,23$ giây), hiện tượng chảy máu diễn ra trong suốt thời gian khâu, và sau khi khâu kết thúc một khoảng thời gian thì máu mới ngừng chảy (thời gian trung bình cầm máu trong khâu là $475,17 \pm 59,97$ giây). Vậy rõ ràng, keo fibrin tự thân ngoài tác dụng dính còn có tác dụng cầm máu rất nhanh và không gây tổn thương thêm mô như trong khâu bằng chỉ. Theo nghiên cứu của Anbari A. [5] cũng cho thấy, thời gian phẫu thuật ghép giác mạc mắt trung bình thấp hơn đáng kể (9-15 phút) ở nhóm được ghép bằng keo fibrin thương mại so với nhóm khâu giác mạc bằng chỉ (12-28 phút).

** Đánh giá hiệu quả làm lành vết thương của keo fibrin tự thân khi ghép da*

Theo dõi mảnh ghép qua các thời điểm 1 ngày, 3 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 20 ngày và 30 ngày cho

thấy hiệu quả làm lành vết thương của keo fibrin tốt hơn hẳn khâu bằng chỉ.

Ở ngày thứ 1, cả hai mảnh ghép da bằng keo fibrin tự thân và bằng chỉ khâu đều có biểu hiện dính chắc, phồng cao do hiện tượng thấm huyết tương từ nền ghép, và có sự co ngắn của các sợi đàn hồi trong miếng da ghép. Màu sắc của miếng da ghép bằng chỉ khâu có biểu hiện bị tổn thương mô và mạch máu nhiều nên xuất hiện các nốt tím trên bề mặt da.

Ở ngày thứ 3, biểu hiện phồng cao của miếng da ghép bằng keo fibrin đã giảm, miếng da tiếp xúc tốt với nền ghép. Trong khi, miếng da khâu bằng chỉ vẫn còn phồng nhiều, màu sắc da tím và không đều màu. Điều này cho thấy sự tổn thương mạch máu không chỉ có ở miếng da ghép mà còn tổn thương mô và mạch máu của nền nhận. Do đó, có thể đã ảnh hưởng đến việc lưu thông máu, bạch huyết của nền ghép, làm hạn chế cung cấp máu cho miếng da ghép và tình trạng miếng ghép thoát ngấm huyết tương xảy ra muộn hơn so với miếng ghép da bằng keo.

Ở ngày thứ 7, chúng tôi đã tiến hành cắt chỉ ở miếng ghép khâu chỉ. Cả hai miếng da ghép đều có hiện tượng mảnh da với nền ghép liên tục dính chặt vào nhau. Ranh giới giữa miếng da ghép và da xung quanh đã đầy lên, màu sắc miếng da hồng hào hơn so với da ở xung quanh. Miếng ghép da bằng chỉ khâu có sẹo chân chỉ và có

miếng ghép đã bị nhiễm trùng. Vậy đúng theo tiến triển của ghép mô, ở khoảng ngày thứ 7 tuần hoàn hai chiều xuất hiện tiếp nối giữa miếng da ghép và nền nhận, mảnh da ghép đã có mạch máu chi phối trở nên hồng hào. Một nghiên cứu đã cho biết, ngoài vai trò chính của keo fibrin trong việc cầm máu, thì cục máu đông fibrin còn đóng vai trò như là một giàn giáo cho sự hình thành mạch mới để nuôi dưỡng mảnh ghép [6].

Ở ngày thứ 10, biểu hiện của cả hai miếng da ghép thể hiện rõ sự tái lập tuần hoàn nuôi dưỡng, hồng hào, ranh giới giữa miếng da và nền ghép thu hẹp và phẳng. Tuy nhiên, ở miếng da được khâu bằng chỉ vẫn rõ sẹo chân chỉ.

Ở ngày thứ 20 tiến triển mảnh ghép ở cả hai kỹ thuật đã tốt hơn, nền ghép phẳng, ranh giới giữa miếng da và nền ghép tiếp tục thu hẹp lại. Màu sắc miếng da ghép gần tương tự màu sắc da xung quanh. Ở miếng da ghép bằng keo fibrin có hiện tượng tái tạo phục hồi hoạt động của nang lông thể hiện bằng dấu hiệu mọc lông trên miếng da ghép.

Đến ngày thứ 30, các tế bào liên kết đã phát triển đầy đủ khiến cho phần tiếp giáp với da xung quanh được lấp đầy. Bề mặt miếng ghép da bằng keo fibrin có độ thẩm mỹ tốt, liền sẹo đẹp, miếng ghép phẳng. Còn ở miếng da khâu rõ sẹo chân chỉ, bề mặt da không phẳng.

Tóm lại, ưu điểm của sử dụng keo fibrin tự thân thay cho chỉ khâu là giúp cầm máu, rút ngắn thời gian phẫu thuật, kết dính mảnh ghép tốt, tăng cường chữa lành vết thương, giảm thiểu sẹo làm cho miếng ghép có độ thẩm mỹ tốt hơn, tránh được sự lây bệnh qua đường máu, qui trình đơn giản, rẻ tiền. Với vết thương của thực nghiệm khoảng 1 x 1,5 cm thì việc sản xuất keo fibrin chỉ cần lấy khoảng 5 mL máu toàn phần là đủ, điều này gợi ý đối với mỗi phẫu thuật tùy thuộc vào nhu cầu sử dụng mà tính toán để lấy lượng máu của đối tượng vừa đủ đảm bảo tính tiết kiệm mà vẫn có hiệu quả.

Tuy nhiên, đề tài còn hạn chế là chưa đánh giá được tính vô trùng của sản phẩm keo fibrin, do đó định hướng nghiên cứu tiếp theo của chúng tôi là sẽ kết hợp thêm kháng sinh vào keo... Tìm sản phẩm kết hợp để giữ keo đắp lên các vết thương giúp làm lành vết loét....

5. KẾT LUẬN

- Hiệu quả cầm máu:

+ Ghép bằng keo fibrin: thời gian cầm máu là $129,33 \pm 42,01$ giây, thời gian ghép là $128,33 \pm 41,87$ giây.

+ Ghép bằng khâu chỉ: thời gian cầm máu là $475,17 \pm 59,97$ giây, thời gian khâu là $350,67 \pm 52,23$ giây.

- Hiệu quả làm lành vết thương: mảnh ghép được dán bằng keo fibrin tự thân ở các thời điểm sau 1 ngày, 3 ngày, 7 ngày, 10 ngày, 14 ngày, 20 ngày và 30 ngày có hiện tượng lành vết thương sớm hơn,

miếng ghép phẳng và sẹp đẹp hơn so với miếng da ghép bằng khâu chỉ.

LỜI CẢM ƠN

Để có thể hoàn thành được đề tài này chúng tôi xin được cảm ơn sự tham gia của nhóm nghiên cứu thuộc bộ môn Sinh lý học, bộ môn Mắt, bộ môn Vi sinh, trường Đại học Y-Dược Thái Nguyên và cô giáo Bùi Thị Kiều Vân cùng các em học sinh trường THPT Lương Ngọc Quyến, thành phố Thái Nguyên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Nguyễn Hoàng Thụy Khanh và cộng sự (2012)**, Đánh giá hiệu quả keo fibrin trong phẫu thuật điều trị mộng nguyên phát, Y Học TP. Hồ Chí Minh, 16(1), tr. 129- 135.
- 2. Tofuku K et al (2012)**, The use of antibiotic-impregnated fibrin sealant for the prevention of surgical site infection associated with spinal instrumentation. The European Spinal Deformity Society, 21(10), pp. 2027-2033.
- 3. Drew AF et al (2001)**, Wound-healing defects in mice lacking fibrinogen. Blood. 2001;97(12):3691-3698.
- 4. Vũ Thị Kim Liên và cộng sự (2018)**, Phương pháp tạo keo fibrin từ huyết tương người, Tạp chí Y học Việt Nam, tập 427, số đặc biệt, tr. 753-760.
- 5. Anbari AA (2013)**, Autologous cryoprecipitate for attaching conjunctival autografts after pterygium excision, Middle East African journal of ophthalmology, 20(3), pp.239-243.
- 6. Paul AJ et al (2007)**, Fibrin gels and their clinical and bioengineering applications, Journal of The Royal Society Interface, 6(30).

SUMMARY**THE HEMOSTATIC AND WOUND HEALING EFFECTS OF
AUTOLOGOUS FIBRIN ADHESIVE IN EXPERIMENTAL ANIMALS**

**Hoang Thu Soan¹, Vu Tien Thang¹, Vu Thi Kim Lien¹
Bui Thi Kieu Van², Vu Hoang Phuong Thuy², Nguyen Mai Huong²
Pham Thi Thu Huong¹, Nguyen Thi Thu Thai¹**

¹ *Thai Nguyen University of Medicine and Pharmacy*

² *Luong Ngoc Quyen High school, Thai Nguyen city*

Objectives: Evaluate the hemostasis and skin graft wound healing effect of autologous fibrin adhesive in experimental animals. **Methods:** experimental method, conducted on 6 rabbits to determine the role of fibrin glue in hemostasis, ability to heal skin graft in experimental rabbits through assessment of graft status: size, swelling, color, boundary between the puzzle piece and the surrounding skin. **Results:** 1/ Effective hemostasis: fibrin glue transplant: hemostasis time is 129.33 ± 42.01 seconds, transplant time is 128.33 ± 41.87 seconds; suture stitching: hemostasis time is 475.17 ± 59.97 seconds, stitching time is 350.67 ± 52.23 seconds. At times after 1 day, 3 days, 7 days, 10 days, 14 days, 20 days and 30 days there is an earlier phenomenon of wound healing, the flattened and scarred patch is more beautiful than the skin graft with sewing thread. **Conclusions:** Using autologous fibrin glue in skin grafting has the ability to stop bleeding, heal wounds and achieve better aesthetics than skin grafting with sutures.

Key words: fibrinogen, fibrin glue.

NGHIÊN CỨU ĐỘT BIẾN CỦA GEN G6PD Ở BỆNH NHÂN THIẾU HỤT ENZYME G6PD

Ngô Thị Thảo^{1,*}, Trần Văn Khánh^{2,**}

TÓM TẮT

Thiếu G6PD là bệnh lý về enzyme di truyền phổ biến nhất ở người. Bệnh gây nên bởi đột biến gen G6PD và đa số không có triệu chứng nếu không có tiếp xúc với các tác nhân oxy hóa (thuốc, hóa chất, thức ăn) biểu hiện bằng những cơn tan máu. Bệnh tạm thời dừng lại ở điều trị triệu chứng, nên phát hiện sớm nhằm tư vấn giúp nâng cao chất lượng sống, phòng tránh được các biến chứng. Nghiên cứu được tiến hành nhằm phát hiện các đột biến trên toàn bộ các vùng của gen G6PD. Kết quả 262 trẻ nam, 38 trẻ nữ ở 25 tỉnh thành khu vực miền Bắc Việt Nam của 5 dân tộc cho kết quả phát hiện 11 loại đột biến sai lệch ảnh hưởng đến vùng mã hóa của gen G6PD là Viangchan (c.871G>A) (24,33%), Kaipping (c.1388G>A) (22,67%), Canton (c.1376G>T) (18,67%), Union (c.1360C>T) (15,33%), Gaohe (c. c.95A>G) (6,67%), QuingYuang (c. 392G>T) (4,33%), Chiniese-5 (c.1024C>T) (4,33%), Orissa (c.131C>G) (1,33%) Chatham (c.1003G>A) (1%) và Taiwan2 (c.1330G>A) (0,33%); 78/297 trường hợp có dạng đột biến Silent (c.1311C>T) kết hợp với hầu hết các đột biến trên. Phát hiện 2 dạng đột biến Orisa và Taiwan 2 chưa từng xuất hiện tại Việt Nam. Các đột biến này phủ đều ở các dân tộc Kinh, Mường, Tày, Nùng và Thái, trong đó dân tộc Kinh chủ yếu mang dạng Viangchan, Mường là Union và người Tày, Nùng Thái đều là Kaiping nhiều nhất.

Từ khóa: gen G6PD, đột biến điểm, thiếu enzyme G6PD.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Glucose-6-phosphate ehydrogenase (G6PD) là một enzym điều tiết quan trọng trong đường pentose phosphate tạo nicotinamide adenine

dinucleotide phosphate (NADPH) để giúp chống lại các tác nhân oxy hóa, bảo vệ màng hồng cầu, cấu trúc hemoglobin, enzyme để duy trì sự sống cho hồng cầu. Vì vậy, thiếu G6PD hồng cầu dễ vỡ dưới tác dụng của các tác nhân oxy-hoá [1]. Thiếu G6PD được coi là bệnh enzyme di truyền phổ biến nhất ở người với khoảng gần 500 triệu người trên toàn thế giới, gặp nhiều ở Địa Trung Hải, Châu Phi và Châu Á [2].

¹Đại học kỹ thuật Y tế Hải Dương

²Đại học Y Hà Nội

*Tác giả thực hiện chính: **Ngô Thị Thảo**

**Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Trần Văn Khánh, Email:

tranvankhanh@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 12/5/2021

Ngày phản biện: 23/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

WHO phân loại sự thiếu hụt này thành 5 loại tùy thuộc vào nồng độ enzyme và biểu hiện lâm sàng bệnh thiếu máu tan máu [3]. Bệnh đa phần là chỉ có triệu chứng khi gặp các chất oxy hoá với biểu hiện là vàng da sơ sinh, thiếu máu tan máu cấp hoặc mạn tính và có thể gây các biến chứng nguy hiểm [2]. Những biến chứng thể được phòng bằng cách sàng lọc trẻ sơ sinh ở những khu vực có tần suất mắc bệnh cao giúp phát hiện sớm trẻ thiếu, kết hợp nâng cao hiểu biết của người dân trong chăm sóc, chế độ dinh dưỡng và sinh hoạt hợp lý, tránh các loại thực phẩm, thuốc, ... có tính oxy hóa cao dễ gây tan máu [1].

Cơ sở di truyền học của bệnh là do đột biến xảy ra trên gen mã hóa G6PD nằm trên nhánh dài, vùng 2, băng 8 của nhiễm sắc thể giới tính X (Xq28), gồm 13 exon và 12 intron. Không có alen tương ứng trên nhiễm sắc thể Y nên gặp nhiều ở nam, nữ thường là người mang gen bệnh và di truyền cho con trai. Đến nay có khoảng hơn 200 đột biến được báo cáo [3], hầu hết là đột biến thay thế một nucleotide [4]. Tỷ lệ và các dạng đột biến gen G6PD có sự khác nhau khá lớn giữa các chủng tộc và vùng lãnh thổ. Các nước châu Á chủ yếu xảy ra đột biến ở exon 9, 11, 12 [6]. Việc xác định chính xác dạng đột biến gen giúp chẩn đoán người lành mang bệnh, chẩn đoán trước sinh, tư vấn di truyền nhằm giảm tỷ lệ mắc bệnh, giảm hậu quả của bệnh gây ra, nâng cao chất lượng

chăm sóc sức khỏe trong cộng đồng. Cho đến nay có ít công trình nghiên cứu toàn diện về đột biến gen G6PD ở các nhóm người dân tộc khác nhau trên toàn bộ các vùng gen gây đột biến ở người Việt Nam. Do vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm xác định các dạng đột biến gen G6PD của gen G6PD ở bệnh nhân thiếu hụt enzyme G6PD bằng kỹ thuật giải trình.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: Chọn toàn bộ 300 trẻ em được chẩn đoán thiếu enzyme G6PD trong thời gian từ năm 1/2017-6/2020 theo tiêu chuẩn trẻ dưới 16 tuổi và thiếu G6PD bằng phương pháp định lượng hoạt độ enzyme theo quy trình kỹ thuật chẩn đoán thiếu G6PD của viện Nhi Trung Ương xây dựng dựa trên hướng dẫn của hoá chất hãng Beckman Coulter AU5800 khi G6PD <200 U/10¹²HC. Tiêu chuẩn loại trừ: Các đối tượng không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Địa điểm nghiên cứu

- Khoa khám bệnh và phòng xét nghiệm sinh hóa, huyết học - Bệnh viện Nhi Trung Ương.
- Trung tâm Nghiên cứu Gen và Protein, Trường Đại học Y Hà Nội.

2.3. Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang

2.4. Quy trình nghiên cứu và các kỹ thuật sử dụng

- 1) Thu thập mẫu máu được chống đông bằng EDTA được chẩn

đoán thiếu enzyme G6PD tại Bệnh viện Nhi Trung Ương. Sau đó máu được vận chuyển theo đúng quy định vận chuyển mẫu ngoại viện của khoa Sinh hoá về Trung tâm Nghiên cứu Gen và Protein, Trường Đại học Y Hà Nội để thực hiện các phản ứng sinh học phân tử.

- 2) Tách chiết DNA bằng kit The Wizard Genomic DNA purification của hãng Promega và kiểm tra độ tinh sạch bằng qua đo mật độ quang OD ở bước sóng 260/280 nm. Bảo quản ở nhiệt độ -20°C.
- 3) Thiết kế 7 cặp mồi và thực hiện phản ứng PCR khuếch đại các đoạn exon đích chuẩn bị cho giải trình tự gen.

Thành phần của phản ứng PCR (thể tích 10 µl) gồm: 1 µl DNA mẫu, 0.5 µl mồi xuôi 10 pM và 0.5 µl mồi ngược 10 pM/µl, GoTaq G2 Hot Start master mix (2X) 5 µl, H₂O 3 µl. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR: 94°C/2 phút, 35 chu kỳ nhiệt [94°C/30 giây, 60°C/25 giây, 72°C/40 giây], 72°C/ 5 phút. Bảo quản mẫu ở 4°C.

- 4) Kiểm tra sản phẩm PCR và tiến hành giải trình tự trên máy giải trình tự ABI Prism 3500 Genetic Analyzer (USA)
- 5) Phân tích kết quả trình tự thu được bằng phần mềm CLC Mainworkbench, so sánh trình tự gen của bệnh nhân với trình tự gen chuẩn của gen Bank (NCBI, NG_009015).

2.5. Một số các tiêu chí cho các chỉ tiêu nghiên cứu

Phân loại mức độ thiếu G6PD: Theo WHO (2019) chia thiếu nặng < 10% giá trị bình thường, thiếu trung bình 10-60%, thiếu nhẹ >60 - 100% giá trị bình thường.

2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu: Nghiên cứu tuân thủ chặt chẽ đạo đức nghiên cứu Y học. Các đối tượng tham gia hoàn toàn tự nguyện. Các thông tin về bệnh nhân, kết quả chẩn đoán được giữ bí mật. Nghiên cứu được tiến hành hoàn toàn vì mục đích khoa học.

2.4. Xử lý số liệu: Số liệu được thống kê và xử lý bằng phần mềm Excel.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Một số đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

* Đặc điểm tuổi và giới

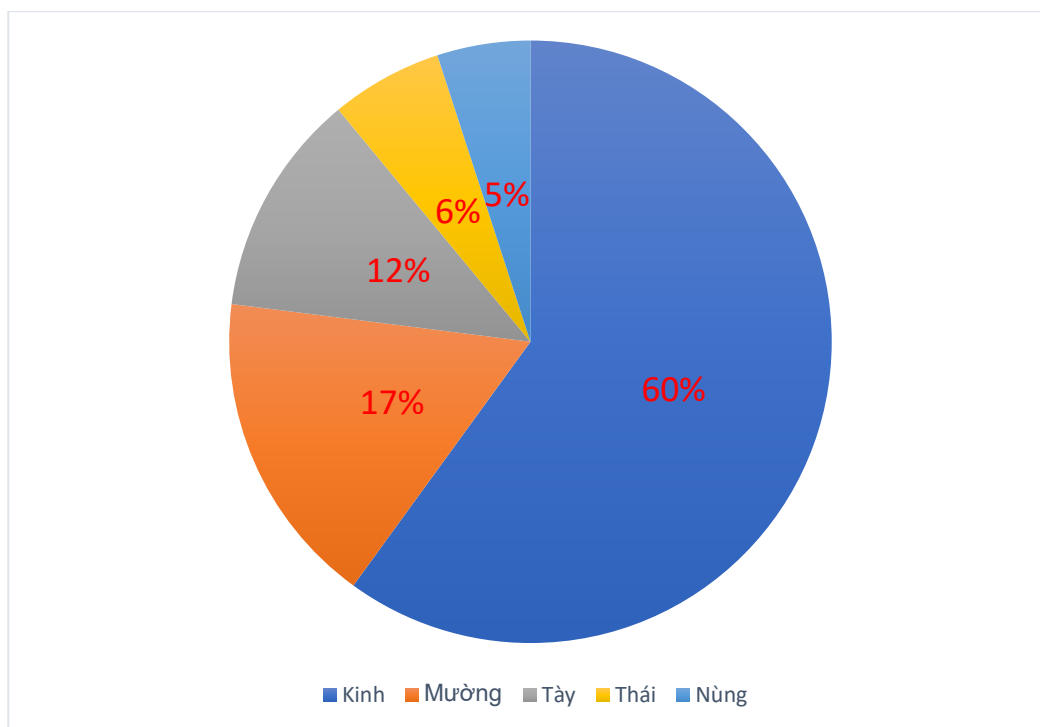
Trong tổng số 300 trẻ thiếu hụt G6PD tỷ lệ ở trẻ nam 262 (87,3%) nhiều ở trẻ nữ: 38 (12,7%) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Số lượng trẻ dưới 1 tháng tuổi: 234 (78%), 1-6 tháng: 58 (19,4%), 6 tháng - 1 tuổi : 5 (1,6%) và trên 1 tuổi: 1 trẻ (1%).

* Đặc điểm về địa dư và dân tộc

300 trẻ thiếu G6PD nằm trong toàn bộ 25 tỉnh, thành Miền Bắc Việt Nam. Cụ thể: Hà Nội (147) Hà Giang (16), Phú Thọ (15), Vĩnh Phúc (12) Thái Nguyên (12), Sơn La (11), Hải Dương (9), Hoà Bình (6), Bắc Giang (6),

Ninh Bình (6), Bắc Ninh (6), Nam Định (6), Yên Bái (6), Lào Cai (5), Quảng Ninh (5), Tuyên Quang (5), Hưng Yên (4), Cao Bằng (4), Hà Nam, Bắc Kạn,

Lạng Sơn, Thái Bình đều 3 trẻ; Điện Biên, Lai Châu, Hải Phòng đều 2 trẻ. Trẻ thiếu G6PD thuộc 5 dân tộc khác nhau ở khu vực miền Bắc Việt Nam (Biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Tỷ lệ thiếu G6PD theo các dân tộc

3.2. Đặc điểm về mức độ thiếu hụt G6PD và kết quả đột biến

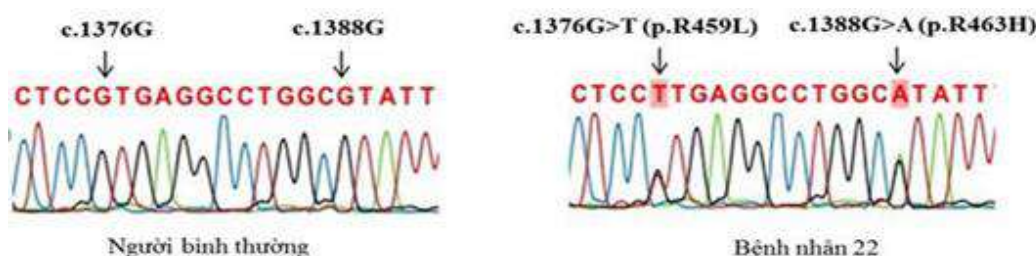
3.2.1. Mức độ thiếu hụt G6PD

Bảng 3.1. Mức độ thiếu hụt G6PD

Mức độ thiếu G6PD	Nặng (<20 U/10 ¹² HC)			Vừa (20-120 U/10 ¹² HC)			Nhẹ (120-200 U/10 ¹² HC)			$\bar{X} \pm SD$		
	Nam	Nữ	Tổng	Nam	Nữ	Tổng	Na m	N ữ	Tổn g	Nam (n=262)	Nữ (n=38)	Chung (n=300)
Số lượng	138	3	141	114	15	129	10	20	30	38,4 ±36,59	80,4 ±35,5	42,71 ±36,65
Tỉ lệ (%)	46	1	47	40	3	43	3,3	6,7	10			
p	<0,05											

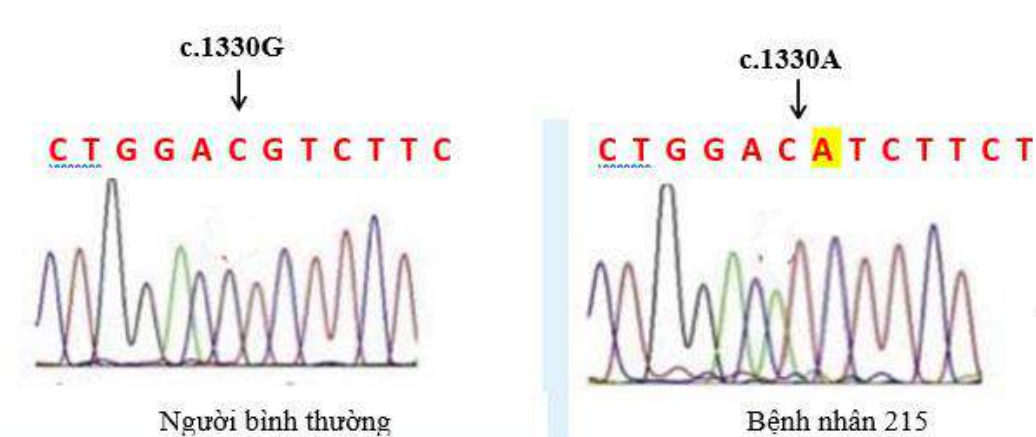
Bảng 3.1 thể hiện nồng độ trung bình là 38,4±36,59 IU/HC giảm nhiều hơn G6PD là 42,71±36,65 IU/HC, trẻ trai trẻ gái là 80,4±35,5 IU/HC.

3.2.2. Kết quả đột biến gen G6PD



Hình 1. Hình ảnh giải trình tự đột biến Canton và Kaiping (exon 12 của gen G6PD)

Kết quả Hình 1 cho thấy, tại vị trí c.1376 trình tự nucleotid của Genbank là G, trong khi đó vị trí này ở bệnh nhân số 22 có trình tự là T. Tại vị trí c.1388 trình tự nucleotid của Genbank là G, trong khi đó vị trí này ở bệnh nhân số 22 có trình tự là A. Sự thay đổi trên làm thay đổi bộ ba mã hóa acid amin Arginin tại codon 459 và codon 463 thành Leucin và Histidin.



Hình 2. Hình ảnh giải trình tự đột biến chưa có tên trên exon 9 của gen G6PD

Kết quả Hình 2 cho thấy, vị trí c.1330 trình tự nucleotid của Genbank là G, trong khi đó vị trí này ở bệnh nhân số 215 có trình tự là A. Sự thay đổi trên làm thay đổi bộ ba mã hóa acid amin tại codon 444 từ Valin thành Isoleucin.

Bảng 3.2. Kết quả xác định đột biến gen G6PD

TT	Tên đột biến	Vị trí đột biến	Biến đổi acid amin	Exon	Số lượng	Phần trăm	Hoạt độ enzym (U/10 ¹² HC)
1	Gaohe	c.95A>G	H32A	2	20	6,67	1-37,8
2	Orissa	c.131C>G	A44G	3	4	1,33	26.97-78.9
3	Quing Yan	c. 392G>T	G131V	5	13	4,33	28.3-167.55
4	Viangchan	c.871G>A	V291M	9	73	24,33	10,5-99,2
5	Chatham	c.1003G>A	S335T	9	3	1	21,4-72,8
6	Chinese-5	c.1024C>T	L342F	9	13	4,33	21,4-72,8
7	Taiwan 2	c.1330G>A	V444I	11	1	0,33	123,4
8	Union	c.1360C>T	R454C	11	46	15,33	0-115.6
9	Canton	c.1376G>T	R459L	12	56	18,67	2.5-173.3
10	Kaipping	c.1388G>A	R463H	12	68	22,67	21,4-72,8
11	Silent	c.1311C>T			79	26,3	
	Chưa xác định				3	1	
	Tổng số				300	100	

Kết quả cho thấy có 11 loại đột biến khác nhau là Viangchan (c.871G>A), Kaipping (c.1388G>A), Canton (c.1376G>T), Union (c.1360C>T), Gaohe (c.95A>G), QuingYuang (c. 392G>T), Chiniese-5 (c.1024C>T), Orissa (c.131C>G) và 1 đột biến lần đầu xuất hiện tại Việt Nam (Taiwan 2) với các tỷ lệ tương ứng từ cao xuống thấp (Bảng 3.2).

Ngoài ra còn có 79 (26,3%) dạng đột biến Silent (đột biến câm) thì chủ yếu dưới dạng kết hợp với các đột biến khác: 66 (84,62%) kết hợp Viangchan, 5 kết hợp Union (6,41%), kết hợp với Canton và Kaiping mỗi loại 2 trường hợp (2,56%) và kết hợp Orissa, QuingYan và Tawan2 là 1 trường hợp. Một bệnh nhân có cả đột biến Kaiping và Canton.

Bảng 3.3. Tỷ lệ đột biến phân bố theo các dân tộc

TT	Dạng đột biến	Exon	Kinh	Mường	Tày	Thái	Nùng	Tổng
1.	Gaoha	2	12	1	5	1	1	20
2	Orissa	3	3	0	0	0	1	4
3	Quing Yan	5	12	0	1	0	0	13
4	Viangchan	9	50	9	9	4	1	73
5.	Chatham	9	3	0	0	0	0	3
6.	Chinese-5	9	7	2	1	2	1	13
7.	Taiwan 2	11	1	0	0	0	0	1
8.	Union	11	20	20	1	4	1	46
9.	Canton	12	29	14	8	2	3	56
10.	Kaiping	12	40	4	12	5	7	68
Tổng			177 (59,6%)	50 (16,8%)	37 (12,5%)	18 (6,1%)	15 (5%)	297

Cả 5 dân tộc đều xuất hiện các đột biến, nhiều nhất là người Kinh với đa dạng hóa các đột biến (Bảng 3.3).

4. BÀN LUẬN

4.1. Một số đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

* Về giới và tuổi của trẻ thiếu G6PD

Về giới: Tỷ lệ thiếu hụt G6PD ở trẻ gặp nhiều ở trẻ trai chiếm 87,3%, trẻ gái chiếm 12,7%. Điều này phù hợp với đặc tính di truyền bệnh, NST giới tính X nên bệnh gặp nhiều ở nam, nữ giới thường biểu hiện trong trường hợp đồng hợp tử (hiếm gặp). Kết quả này cũng phù hợp với bản đồ phân bố bệnh thiếu G6PD của Lucio Luzzato và Atul Mehta (1995) [1] và tại Đông Nam Á [5].

Về độ tuổi, chủ yếu khi trẻ được < 1 tháng tuổi chiếm 78% bởi vì những năm gần đây, với chương trình sàng lọc trước sinh bệnh thiếu G6PD qua lấy máu gót chân tại địa phương. Cùng với sự phát triển của các kỹ thuật, hệ thống y tế về các mô hình bệnh tật, chăm sóc sức khỏe vì vậy mà trẻ được phát hiện sớm mặc dù không có biểu hiện lâm sàng.

* Về đặc điểm về địa dư, dân tộc

Miền Bắc Việt Nam hiện nay bao gồm 25 tỉnh thành và nghiên cứu tiến hành trên phần lớn các trẻ em ở tất cả các tỉnh. Trong đó 49% trẻ thuộc Hà Nội, còn lại trẻ đến từ các tỉnh khác nhau trong khu vực từ Tây Bắc Bộ, Đông Bắc Bộ đến Đồng Bằng Sông Hồng. Theo dân tộc, Kinh chiếm tỷ lệ nhiều nhất (59%), đến dân tộc Mường và Tày, Thái, Nùng. Điều này hoàn toàn phù hợp do bệnh

viện Nhi là tuyến cuối cùng nên phần lớn các tỉnh đều về khám trong đó đặc biệt khu vực Hà Nội và dân cư tại đây chủ yếu người Kinh (85,7% dân số Việt Nam). Kết quả trên phù hợp các nghiên cứu trước [7-10].

4.2. Đặc điểm về mức độ thiếu hụt G6PD và đột biến gen G6PD

4.2.1. Mức độ thiếu hụt enzyme G6PD

Theo Bảng 3.1, nồng độ trung bình G6PD là $42,71 \pm 36,62$ IU/HC, trong đó trẻ trai là $38,4 \pm 36,59$ IU/HC giảm nhiều hơn trẻ gái là $80,4 \pm 36,65$ IU/HC, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Đồng thời, trẻ nam với 96% thiếu mức độ vừa và nặng, chỉ có 3,3% mức độ nhẹ; trẻ gái chủ yếu thiếu mức độ nhẹ. Điều này là hoàn toàn phù hợp với đặc thù của bệnh G6PD diễn ra ở trẻ nam nhiều hơn trẻ nữ và nữ giới thường ở thể dị hợp tử, nồng độ G6PD có thể bình thường nhưng lại là yếu tố di truyền cho con trai của họ.

4.2.2. Kết quả đột biến gen G6PD

Sử dụng 8 cặp mồi đặc hiệu để khuếch đại toàn bộ 13 exon của gen G6PD. Kích thước của các sản phẩm PCR trong khoảng 241-882 bp. Sản phẩm PCR thu được đảm bảo cho phản ứng giải trình tự. Kết quả giải trình tự thu được hình ảnh có tín hiệu rõ ràng, không bị nhiễu, tín hiệu nền thấp, trình tự đoạn gen được khuếch đại trùng khớp với trình tự đoạn gen G6PD trên Gene Bank, đủ độ tin cậy để nhận định

kết quả. Cho đến nay, hơn 200 đột biến có liên quan đến sự thiếu hụt G6PD [4] và hầu hết các đột biến điểm, không có trường hợp nào mất một hoặc vài nucleotide, làm giảm hoạt động và ổn định của enzyme G6PD. Trong nghiên cứu của chúng tôi, 11 đột biến sai lệch ảnh hưởng đến vùng mã hóa của gen G6PD đã được xác định là Viangchan (c.871G>A, 24,33%), Kaiping (c.1388G>A, 22,67%), Canton (c.1376G>T, 18,67%), Union (c.1360C>T, 15,33%), Gaohe (c. c.95A>G, 6,67%), QuingYuang (c. 392G>T, 4,33%), Chinese-5 (c.1024C>T, 4,33%), Orissa (c.131C>G, 1,33%), Chatham (c.1003G>A, 1%) và Taiwan2 (c.1330G>A, 0,33%).

So sánh với các nghiên cứu trước đây đã phát hiện ở Việt Nam [7-12], các dạng đột biến Viangchan (c.871G>A), Kaiping (c.1388G>A), Canton (c.1376G>T), Union (c.1360C>T), Gaohe (c. c.95A>G), QuingYuang (c. 392G>T), Chinese-5 (c.1024C>T) là các đột biến hay gặp, đã được công bố và hay được tìm thấy ở các nước châu Á như Trung Quốc, Ấn Độ, Lào, Philipin, Thái Lan, Campuchia [4]. Đặc biệt Viangchan gặp tỷ lệ nhiều nhất trong các nghiên cứu đã được công bố về đột biến G6PD tại Việt Nam và nghiên cứu này cũng cho kết quả tương tự. Nhóm nghiên cứu ĐTLan Anh tại thành phố Hồ Chí Minh hay nghiên cứu của Matsuoka và cộng sự tại Lâm Đồng cũng cho thấy

Viangchan và Canton là hai đột biến phổ biến trong nhóm dân tộc Kinh tại Việt Nam [5, 7]. Nhưng trong nghiên cứu này, một số đột biến hay gặp trong khu vực Đông Nam Á như đột biến Mahidol (487G> A) - đột biến quan trọng nhất ở Thái Lan, bán đảo Đông Dương và Myanmar, không được tìm thấy, một số đột biến mới được phát hiện gần đây ở Việt Nam như Vietnam1 (3Glu> Lys); Việt Nam2 (66Phe> Cys); Vietnam3 (73Ser> Ser) [8] và Bao Loc (118 Tyr> His) [6], Hồ Chí Minh (58 Asp>Gly) [9] không được phát hiện ở nghiên cứu này. Điều này có thể là do các nghiên cứu được thực hiện ở các nhóm dân tộc khác nhau. Nghiên cứu này chỉ được thực hiện ở dân tộc miền Bắc trong khi nghiên cứu trước đó được thực hiện ở miền Nam. Những đột biến mới lạ này có thể xảy ra ở dân tộc thiểu số miền Nam trong khi ở Kinh chúng không tồn tại. Do đó, mặc dù các đột biến được phân bố theo địa lý nhưng các đột biến phổ biến nhất hoặc chính có thể đặc trưng cho từng dân số hoặc dân tộc. Các đột biến tập trung tại exon 2, 5, 9, 11, 12 và tỷ lệ nhiều nhất là trên exon 9, 11, 12. Không có đột biến nào được tìm thấy trên exon 4, 6, 10, 13. Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu trước đây, cho thấy exon 9, 11, 12 là những exon trọng điểm chứa nhiều dạng đột biến hay gặp ở khu vực Đông Nam Á cũng như ở Việt Nam [6-10].

Bên cạnh đó, nghiên cứu phát hiện 2 đột biến mới chưa từng được tìm thấy ở người Việt Nam đó là đột biến Taiwan2 (c.1330G>A) nằm trên exon 11, được mô tả lần đầu tiên vào năm 2019 ở 1 bệnh nhân Đài Loan khiến thay đổi bộ ba mã hóa acid amin tại c. 444 từ Valin thành Isoleucin và 4 trường hợp đột biến Orrisa ở exon 3 do vị trí c.131 C>G làm thay đổi bộ ba mã hóa acid amin tại codon 44 từ Alanine thành Glycine. Đột biến này lần đầu tiên phát hiện ở các bộ tộc da đỏ tại Ấn Độ năm 1995 và ít khi thấy xuất hiện ở khu vực Đông Nam Á [5]. Hai đột biến này xảy ra như thế nào ở trẻ em Việt Nam vẫn chưa rõ ràng bởi vì cũng chưa tìm thấy mối liên hệ lịch sử giữa Đài Loan, Ấn Độ và Việt Nam. Tuy nhiên điều này có thể giải thích có sự hôn nhân khác chủng tộc của người Việt Nam trong quá khứ.

Ngoài ra, 79 đối tượng ghi nhận có vị trí biến đổi nucleotide số c.1311C>T ở exon 11, do bộ ba TAC → TAT cùng mã hoá cho acid amin Tyrosine, biến đổi này được coi là không ảnh hưởng đến sự mã hóa acid amin trong cấu trúc G6PD, còn được gọi đột biến câm. Trong đó phần lớn các đột biến này đều có sự kết hợp với các đột biến khác, cao nhất là kết hợp Viangchan 84,62%, còn lại là ở các đột biến khác. Mối liên kết giữa Viangchan và c.1311C>T cũng đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước đó [7-10]. Ngoài ra có 1 đột biến Canton kết hợp Kaiping.

Về tỷ lệ đột biến theo các dân tộc cho thấy, cả 5 dân tộc đều xuất hiện các đột biến, nhiều nhất là người Kinh (59,6%) với đa dạng hóa ở cả 11 loại, nhiều nhất là Viangchan (50/177) rồi đến Kaiping (40/177), Canton (29/177), Union (20/177), Gaohe và Qing Yan (12/177), Chinese 5 (7/177), Chatham và Orissa (3/177) và Taiwan 2 có 1/177. Hai loại đột biến phát hiện lần đầu ở Việt Nam đều là người Kinh. Sau đến Mường có 50 (16,8%) gặp 6 loại đột biến, trong đó nhiều nhất là Union (20/50), đến Canton (14/50) Qing Yan (9/50), Kaiping có (4/50), còn lại 2/50 là Chinese 5 và 1 trường hợp là Gaohe. Dân tộc Tày có 37 (12,5%) loại đột biến, nhiều nhất là Kaiping (12/37), Viangchan (9/37) Canton (8/37), Gaohe (5/37) còn lại Chinese 5, Union và Qing Yan mỗi loại đều có 1. Dân tộc Thái có 18 (6,1%) loại đột biến với Kaiping 5/18, Viangchan và Union mỗi loại có 4/18, Chinese 5 và Canton đều có 2/18 và Gaohe có 1/18. Tỷ lệ đột biến chiếm ít nhất thuộc về dân tộc Mường 15 bệnh nhân (5%) với nhiều nhất là Kaiping (7/15), đến Canton (3/15) còn lại Gaohe, Orissa, Viangchan, Chinese 5, Union mỗi loại đều gặp 1 trường hợp. Như vậy trong nghiên cứu này, Viangchan được tìm thấy là đột biến phổ biến nhất ở người Kinh. Điều này hoàn toàn phù hợp vì đây là đột biến phổ biến ở Trung Quốc, Đông Nam Á [7-9] và đã có nghiên cứu cho rằng đột biến Viangchan

được sử dụng làm dấu hiệu chẩn đoán bệnh, ít nhất 35% bệnh nhân sẽ được phát hiện [9]. Người Mường phổ biến là đột biến Union, người Tày, Mường Thái phổ biến đều là Kaiping. Tỷ lệ đột biến của năm dân tộc khác nhau ở miền Bắc Việt Nam cho thấy tỷ lệ mắc và đặc điểm loại đột biến có sự khác nhau giữa hai miền Nam, Bắc và các dân tộc khác nhau vì đây là nghiên cứu đầu tiên với sự phân tích đầy đủ trên 13 exon của gen G6PD đã cho những đột biến rất đa dạng.

5. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 262 trẻ nam và 38 trẻ nữ thiếu G6PD thuộc 5 dân tộc của các tỉnh miền Bắc Việt Nam rút ra kết luận sau:

Mức độ thiếu hụt G6PD: 90% thiếu enzym mức độ vừa và nặng chủ yếu nam giới, nữ thường thiếu mức độ nhẹ.

Xác định các dạng đột biến: Phát hiện 11 loại đột biến gen G6PD là Viangchan (c.871G>A) (24,33%), Kaiping (c.1388G>A) (22,67%), Canton (c.1376G>T) (18,67%), Union (c.1360C>T) (15,33%), Gaohe (c.95A>G) (6,67%), QingYuang (c.392G>T) (4,33%), Chinese-5 (c.1024C>T) (4,33%), Orissa (c.131C>G) (1,33%) Chatham (c.1003G>A) (1%) và Taiwan2 (c.1330G>A) (0,33%), Silent, trong đó 2 dạng chưa từng xuất hiện tại Việt Nam. 78 trường hợp ghi nhận dạng đột biến Silent (c.1311C>T). Các đột biến này phổ biến ở các dân tộc

Kinh, Mường, Tày, Nùng và Thái, trong đó người Kinh chủ yếu mang đột biến Viangchan, còn lại Mường phổ biến là Union và người Tày, Nùng Thái đều là Kaiping.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn các gia đình bệnh nhân đã đồng ý tham gia nghiên cứu, viện Nhi trung ương, Trung tâm nghiên cứu - Protein trường Đại học Y Hà Nội đã hỗ trợ chúng tôi hoàn thành nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Luzzatto L (2008)**, Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: 18-24
2. **Beutler E (2008)**, Glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a historical perspective. *Blood*, 111(1):16-24.
3. **Gómez-Manzo S, Marcial QJ, Vanoye CA (2016) et al**, Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase: Update and Analysis of New Mutations around the World. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 2069.
4. **Howes RE, Dewi M, Piel FB, Monteiro WM, Battle KE, Messina JP et al (2013)**, Spatial distribution of G6PD deficiency variants across malaria-endemic regions. *Malar J*:12:418.
5. **Matsuoka H (2007)**, Seven different G6PD variants including a new variant distributed in Lam Dong Province in southern Vietnam. *Acta Med Okayama*, 61(4): p. 213-9.
6. **Trần Thị Chính, Nguyễn Thị Ngọc Dao (2003)**, Phát hiện thiếu hụt G6PD và phân tích các dạng đột biến của nó ở một số trường hợp thuộc các dân tộc Kinh, Mường, Raclei và Tày ở Hà Nội, Hòa Bình, Khánh Hòa. *Tạp chí nghiên cứu y học* 23(3): p. 99-104.
7. **Hue NT, Anh DTL, Trinh HLT et al (2013)**, Common mutations in G6PD of Vietnamese-Kinh deficiency patients. *American Journal of biotechnology*, 12(12): p. 1318-1325.
8. **Nguyen TH, Jean PC, Tran THC et al (2009)**, Glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) mutations and haemoglobinuria syndrome in the Vietnamese population, *Malaria Journal* 8:152
9. **Fumihiko K, Hiroyuki M, Nghiem MP, et al (2017)**, Further Molecular Analysis of G6PD Deficiency Variants in Southern Vietnam and a Novel Variant Designated as G6PD Ho Chi Minh (173 A > G; 58 Asp > Gly): Frequency Distributions of Variants Compared with Those in Other Southeast Asian Countries, *Acta Med. Okayama*, 2017 Vol. 71, No. 4, pp. 325-332.
10. **Nguyen HM, Matsuoka EH et al (2009)**, G6PD variants in three minority ethnic groups in Central

- and Northern Vietnam. *Trop Med Int Health*, 37(1): p.17-20.
11. Chiu YH, Liu YN, Chen, HJ, Chang, YC, Kao SM, Liu MY et al (2019), Prediction of functional consequences of the five newly discovered G6PD variations in Taiwan. *Data Brief* 25, 104129.
12. Kaeda JS, Chhotray GP, Ranjit MR, Bautista JM, Reddy PH, et al (1995), A new glucose-6-phosphate dehydrogenase variant, G6PD Orissa (44 Ala→Gly), is the major polymorphic variant in tribal populations in India. *Am J Hum Genet*. 57:1335–41.

SUMMARY

STUDY ON CHARACTERISTICS OF GENE MUTATION G6PD IN PATIENT OF ENZYME G6PD DEFICIENCY

Thao Ngo Thi¹, Khanh Tran Van²

¹*Hai Duong Medical Technical University,*

²*HaNoi Medical University*

G6PD deficiency is the most common genetic enzyme pathology in humans. The disease is caused by a gene mutation G6PD-the majority of cases are asymptomatic when exposed to oxidizing agents (drugs, chemicals, or foods). The disease is temporarily stopped at symptomatic treatment, so early detection is to help improve the quality of life for the patient, to prevent possible complications. The study was conducted to detect mutations in all regions of the gene G6PD. Through the study of 262 boys, 38 girls in 25 provinces in the northern region of Vietnam of 5 ethnic groups showed the results finding 11 deviated mutations that affect the coding region of the G6PD gene is Viangchan (c.871G> A) (24.33%), Kaipping (c.1388G> A) (22.67%), Canton (c.1376G> T) (18.67%), Union (c.1360C> T) (13.33%), Gaohe (cc95A > G) (6.67%), QuingYuang (c.392G> T) (4.33%), Chinese-5 (c.1024C> T) (4.33%), Orissa (c.131C> G) (1.33%) Chatham (c.1003G> A) (1%) and Taiwan2 (c.1330G> A) (0.33%); 78/297 cases of silent mutation (c.1311C> T) associated with most of the above mutations. Discovered 2 mutant forms Orisa and Taiwan 2 that have never appeared in Vietnam. These mutations are spread evenly among the Kinh, Muong, Tay, Nung and Thai ethnic groups, of which the Kinh mainly carry the Viangchan mutation, the remaining Muong are the Union and the Tay, Nung Thai are most of Kaiping mutation.

Keywords: G6PD gene, point mutation, G6PD deficiency.

ĐẶC ĐIỂM SARCOPENIA Ở NGƯỜI BỆNH CAO TUỔI CÓ BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH GIAI ĐOẠN ỔN ĐỊNH

Nguyễn Thị Thu Hương^{1,*}, Nguyễn Trung Anh^{1,2},
Vũ Thị Diệu³, Vũ Thị Thanh Huyền^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tỉ lệ và đặc điểm của sarcopenia ở người cao tuổi có bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính giai đoạn ổn định. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 363 người bệnh mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD) giai đoạn ổn định từ 60 tuổi trở lên khám và điều trị tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương và Bệnh viện 19-8 Bộ Công an. Đối tượng nghiên cứu được đo khối lượng cơ toàn thân bằng máy X quang hấp phụ năng lượng kép và được chẩn đoán sarcopenia dựa vào tiêu chuẩn của Hiệp hội Châu Á về sarcopenia. **Kết quả:** tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là $70,7 \pm 8,3$ (năm), tỉ lệ nam là 60,3%. Tỉ lệ sarcopenia trong nhóm nghiên cứu là 45,2%. Trong nhóm người bệnh nghiên cứu có 74,6% người bệnh giảm khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao (ASMI), 68,3% có giảm sức mạnh cơ tay (HGS) và 42,7% có giảm tốc độ đi bộ. Tuổi càng cao thì khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao, sức mạnh cơ tay và tốc độ đi bộ càng giảm. **Kết luận:** Nghiên cứu ghi nhận tỉ lệ sarcopenia khá cao (45,2%) ở người bệnh cao tuổi có COPD giai đoạn ổn định. Tuổi càng cao, khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao, sức mạnh cơ tay, tốc độ đi bộ càng giảm dần có ý nghĩa thống kê. Sàng lọc và chẩn đoán sớm sarcopenia ở người bệnh COPD cao tuổi là rất cần thiết.

Từ khóa: Sarcopenia, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, người cao tuổi.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Sarcopenia là tình trạng giảm khối cơ và chức năng của cơ liên quan đến tuổi (gồm giảm sức mạnh của cơ hoặc giảm vận động) từ đó

dẫn đến giảm khả năng hoạt động, giảm chất lượng cuộc sống, rối loạn chức năng hô hấp, tim mạch, ảnh hưởng xấu cho chuyển hóa, ngã, tàn tật và tử vong ở người cao tuổi, tăng chi phí y tế [1]. Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (Chronic Obstructive Pulmonary Disease - COPD) là một bệnh phổ biến, ảnh hưởng tới 10% người từ 40 tuổi trở lên, gây ra tỉ lệ tử vong cao [2].

¹Trường đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Lão khoa Trung ương

³Bệnh viện 19-8 Bộ Công An

*Tác giả thực hiện và chịu trách nhiệm chính:

Nguyễn Thị Thu Hương

Email: thuhuonglk@hmu.edu.vn

Ngày tiếp nhận: 15/4/2021

Ngày phản biện: 23/4/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

Sarcopenia đã được chứng minh xuất hiện ở khoảng 5-13% người trên 65 tuổi [3]. Tỷ lệ sarcopenia xuất hiện ở người bệnh COPD là khoảng 20-40%, trong đó có 10-15% người bệnh COPD có mức cân nặng bình thường [4]. Tình trạng viêm hệ thống với sự gia tăng các protein viêm và cytokine như TNF- α và IL-6; mất cân bằng giữa chế độ ăn và tiêu hao năng lượng, sự thay đổi thành phần cơ thể, rối loạn chức năng cơ xương và thay đổi chất có liên quan với sự xuất hiện sarcopenia ở người bệnh COPD. Nghiên cứu tại Hàn Quốc của Min Kwang Byun và cs (2017) trên 80 người bệnh, kết quả là 20 người bệnh mắc sarcopenia chiếm 25% [5]. Nghiên cứu tại Brazil của Tatiana Munhoz và cs (2015) trên 91 người bệnh, COPD, trong đó sarcopenia là 36 người bệnh chiếm 39,6% [6].

Đối với người bệnh COPD cao tuổi, việc giảm khối lượng cơ xương và sức mạnh của cơ là nguyên nhân chính dẫn tới giảm chức năng hoạt động hàng ngày và làm tăng nguy cơ đột cấp. Do đó, giảm chức năng vận động là một trong các dấu hiệu tiên lượng nguy cơ tử vong ở người bệnh COPD. Sarcopenia do nhiều yếu tố tạo nên như quá trình lão hóa, chế độ dinh dưỡng kém, lối sống ít vận động, các bệnh mạn tính và một số thuốc điều trị [7]. Sarcopenia làm giảm khả năng thực hiện động tác, tăng nguy cơ ngã, gãy xương, tăng tỷ lệ

tàn tật và tăng nguy cơ tử vong ở người bệnh COPD cao tuổi.

Như vậy việc nghiên cứu để hiểu rõ về tình trạng sarcopenia ở người bệnh COPD cao tuổi là hướng nghiên cứu cần thiết để góp phần đề xuất các biện pháp phòng, tránh, điều trị kịp thời nhằm giảm tỷ lệ tử vong, mức độ tàn phế và giảm chi phí điều trị do COPD gây nên. Ở Việt Nam, tuổi thọ ngày càng tăng cao, thói quen hút thuốc và ô nhiễm môi trường đang là vấn nạn đã làm tăng tỷ lệ COPD người cao tuổi. Xuất phát từ thực tiễn trên chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài với mục tiêu: xác định tỷ lệ và đặc điểm của sarcopenia ở người cao tuổi có bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính giai đoạn ổn định điều trị tại bệnh viện Lão khoa Trung ương và bệnh viện 198 Bộ Công An.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Người bệnh COPD ≥ 60 tuổi, khám và điều trị tại Phòng khám ngoại trú Bệnh viện 19-8 Bộ Công an và Bệnh viện Lão khoa Trung ương từ tháng 09 - 2017 đến tháng 07 năm 2018.

Tiêu chuẩn loại trừ: người bệnh mắc các bệnh cấp tính nặng như suy tim độ III-IV, viêm phổi, đợt cấp COPD trong 4 tuần qua.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang, phương pháp chọn mẫu toàn bộ. Tất cả các người bệnh phù hợp tiêu chuẩn lựa chọn trong thời

gian nghiên cứu được đưa vào nghiên cứu.

Cỡ mẫu được tính theo công thức:

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

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

$p = 0,145$. Theo nghiên cứu dịch tễ học của Sarah E Jones và cs (2015) về sarcopenia ở bệnh nhân COPD [8]

d = sai số mong đợi, chọn $d = 0,04$.

Theo công thức này chúng tôi tính được cỡ mẫu nhỏ nhất là 298 bệnh nhân. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 363 người bệnh.

Quá trình thăm khám được tiến hành theo mẫu bệnh án thống nhất cho cả hai cơ sở nghiên cứu. Người thu thập số liệu được tập huấn trước khi bắt đầu nghiên cứu.

- Các biến số nghiên cứu:
 - Đặc điểm chung: tuổi, giới.
 - Các chỉ số nhân trắc học: chiều cao, cân nặng, chỉ số khối cơ thể.
 - Chẩn đoán sarcopenia theo tiêu chuẩn của Hiệp hội Sarcopenia Châu Á (Asian Working Group for sarcopenia – AWGS) [9]:

+ Đánh giá khối lượng cơ: được xác định bằng đo mật độ xương, cơ, mỡ toàn thân bằng máy DXA Medic DR C12, Mauguiro, Pháp (2016). Để đảm bảo tính đồng nhất, tất cả người bệnh ở Bệnh viện 198 Bộ Công an được chuyển về đo mật độ cơ mỡ toàn thân tại bệnh viện Lão khoa Trung ương. Đánh giá kết quả dựa trên kết quả phân tích của máy DXA: ASMI

(Appendicular skeletal muscle index) đơn vị $\text{kg/m}^2 = \text{ASM}/(\text{chiều cao})^2$

+ Đánh giá sức mạnh cơ tay (Hand grip strength – HGS) bằng áp lực kế cầm tay Jamar 5030J1, đơn vị đo là kilogam (kg) [10].

+ Đánh giá tốc độ đi bộ bằng test đi bộ 6 phút: Tốc độ đi bộ = Quãng đường đi bộ trong 6 phút/360 (m/s) [10].

- Tiêu chuẩn chẩn đoán sarcopenia:

Tiêu chuẩn 1: Khối lượng cơ thấp: Nam $\text{ASMI} < 7,0 \text{ kg/m}^2$, Nữ $\text{ASMI} < 5,4 \text{ kg/m}^2$

Tiêu chuẩn 2: Sức mạnh cơ thấp: Nam $\text{HGS} < 26 \text{ kg}$, Nữ $\text{HGS} < 18 \text{ kg}$

Tiêu chuẩn 3: Khả năng thực hiện động tác: Xác định bằng tốc độ đi bộ $\leq 0,8 \text{ m/s}$

Chẩn đoán sarcopenia khi có tiêu chuẩn 1 và tiêu chuẩn 2 hoặc 3.

- Phân tích số liệu: Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm SPSS 16.0. Xác định các tỷ lệ %, trị số trung bình, độ lệch chuẩn. So sánh sự khác biệt của các tỷ lệ % theo test khi bình phương với $p < 0,05$ được xem là khác biệt có ý nghĩa thống kê.
- Đạo đức nghiên cứu: Nghiên cứu tuân thủ đầy đủ các quy định của nghiên cứu y sinh học và được thông qua Hội đồng đạo đức của Bệnh viện Lão khoa Trung ương.

3. KẾT QUẢ

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Nhận xét: Tuổi trung bình của đối tượng nghiên cứu là $70,7 \pm 8,3$ (năm), tỉ lệ nam là

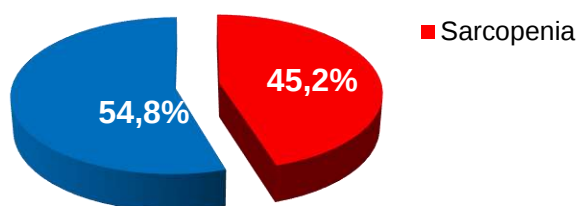
60,3% (Bảng 1). Nhóm tuổi 60-69 chiếm tỉ lệ cao nhất: 51,8%. BMI trung bình là $20,7 \pm 3,11$ (kg/m^2) trong đó BMI trong giới hạn bình thường chiếm tỉ lệ cao nhất là 54,5%.

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

	Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Tuổi (năm)	60-69	188	51,8
	70-79	104	28,7
	≥ 80	71	19,5
Giới	Nam	219	60,3
	Nữ	144	39,7
BMI (kg/m^2)	$< 18,5$	81	22,3
	18,5-22,9	198	54,5
	$\geq 23,0$	84	23,2
Tuổi trung bình ($\bar{X} \pm \text{SD}$)		$70,7 \pm 8,3$	
BMI trung bình ($\bar{X} \pm \text{SD}$)		$20,7 \pm 3,11$	

3.2. Tỉ lệ sarcopenia ở người bệnh cao tuổi có bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính giai đoạn ổn định

Tỉ lệ sarcopenia trong nhóm nghiên cứu là 45,2%, tỉ lệ không sarcopenia là 54,8% (Biểu đồ 1).



Biểu đồ 1. Tỉ lệ sarcopenia (n=363)

3.3. Các đặc điểm chẩn đoán sarcopenia theo tiêu chuẩn AWGS

Bảng 2. Đặc điểm khối cơ toàn thân theo chiều cao, sức mạnh cơ tay và tốc độ đi bộ

Đặc điểm	Giảm		Bình thường	
	n	%	n	%
ASMI	271	74,6	92	25,4
HGS	248	68,3	115	31,7
Tốc độ đi bộ	155	42,7	208	57,3

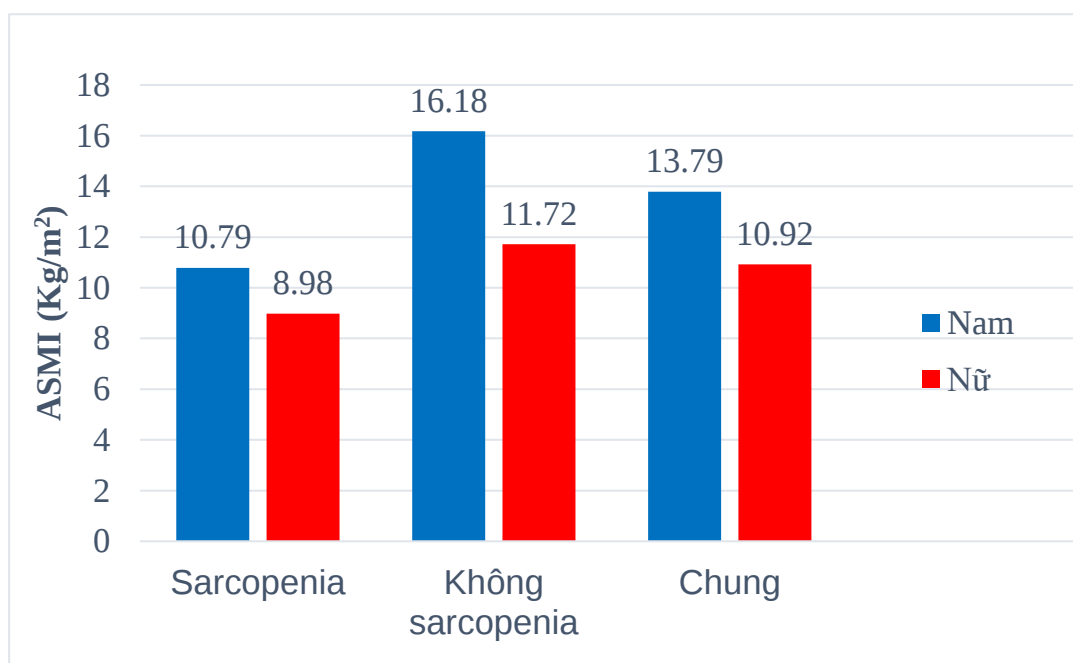
Trong nhóm người bệnh nghiên cứu (ASMI), 68,3% người bệnh giảm sức mạnh cơ tay (HGS) và 42,7% người bệnh giảm khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao (ASMI) (Bảng 2).

Bảng 3. Đặc điểm ASMI, HGS và tốc độ đi bộ theo tuổi

Đặc điểm	Nhóm tuổi	$(\bar{x} \pm SD)$		p
		Sarcopenia	Không sarcopenia	
ASMI	60-69	19,18±9,69	25,99±8,45	0,002
	70-79	15,22±7,65	20,98±6,46	
	≥ 80	11,44±5,61	16,94±6,95	
	Chung	16,08±8,85	22,04±8,33	
HGS	60-69	16,72±8,79	22,84±7,60	0,002
	70-79	12,80±7,31	17,98±5,81	
	≥ 80	9,83±5,09	15,07±6,83	
	Chung	13,87±8,09	20,26±7,55	
Tốc độ đi bộ	60-69	0,659±0,268	0,904±0,248	0,002
	70-79	0,623±0,296	0,898±0,264	
	≥ 80	0,727±0,330	0,893±0,244	
	Chung	0,669±0,294	0,901±0,251	

Khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao (ASMI), sức mạnh cơ tay (HGS) và tốc độ đi bộ giảm theo tuổi và thấp hơn ở nhóm sarcopenia ($p < 0,05$, Bảng 3).

Như vậy tuổi càng cao càng có nguy cơ giảm khối lượng cơ, sức mạnh cơ tay và tốc độ đi bộ làm tăng nguy cơ mắc tình trạng sarcopenia.



Biểu đồ 2. Đặc điểm khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao (ASMI) phân bố theo giới

ASMI ở cả 2 giới nam và nữ ở nhóm sarcopenia đều thấp hơn nhóm không sarcopenia, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ (Biểu đồ 2).

4. BÀN LUẬN

Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam xác định tỉ lệ sarcopenia ở người bệnh COPD cao tuổi giai đoạn ổn định dùng tiêu chuẩn chẩn đoán của AWGS và sử dụng DXA để xác định khối lượng cơ. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 363 người bệnh COPD cao tuổi giai đoạn ổn định điều trị tại bệnh viện Lão khoa trung ương và bệnh viện 19-8 Bộ công an. Kết quả đã ghi nhận tỉ lệ sarcopenia ở người bệnh COPD là 45,2%. Tỉ lệ này cao hơn ở các nghiên cứu khác trên thế

giới. Nghiên cứu của Tatiana Munhoz (2015) ở Brazil trên 91 người bệnh COPD cho thấy tỉ lệ sarcopenia là 39,6% [6], của Min Kwang Byun (2017) ở Hàn Quốc trên 80 người bệnh COPD trên 40 tuổi cho thấy tỉ lệ sarcopenia là 25% [5], của Carlos Andrés (2016) là 11,2% [12]. Panita Limpawattana (2017) nghiên cứu trên 121 người bệnh COPD cho thấy tỉ lệ sarcopenia là 24% [11]. Tỉ lệ này ở Anh là 14,5% [8]. Kết quả khác nhau này có thể là do sự khác biệt về thành phần cơ thể của các dân tộc khác nhau và châu Á mọi người dường như có tỉ lệ sarcopenia cao hơn so với các vùng khác.

Tuy nhiên, tỉ lệ sarcopenia trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn kết quả của nghiên cứu của Yukari

(2016). Nghiên cứu này xác định khối lượng cơ bằng phương pháp điện trở kháng sinh học (BIA) trên 36 người bệnh COPD cao tuổi giai đoạn ổn định thì có 24 người bệnh sarcopenia, chiếm 66,7% [13]. Một nghiên cứu khác ở Nhật Bản của Shintaro Suzuki (2015) đã xác định khối lượng cơ bằng X quang hấp phụ năng lượng kép (DXA) trên 39 người bệnh cho thấy tỉ lệ sarcopenia là 35,9% [14]. Cùng ở Nhật nhưng kết quả đã có sự khác biệt điều này cho thấy phương pháp xác định khối lượng cơ khác nhau có ảnh hưởng tương đối đến kết quả khối cơ thấp của nhóm người bệnh nghiên cứu.

Kết quả của chúng tôi cho thấy sự phân bố khối cơ toàn thân theo chiều cao giảm, sức mạnh cơ tay giảm và tốc độ đi bộ giảm của nhóm người bệnh nghiên cứu. ASMI giảm chiếm tỉ lệ cao nhất ($n = 271$; 74,6%), tiếp theo là HGS giảm ($n = 248$; 68,3%) và tốc độ đi bộ giảm chiếm tỉ lệ thấp nhất ($n = 155$; 42,7%). Khác với kết quả của Panita Limpawattana (2017), HGS giảm chiếm tỉ lệ cao nhất ($n = 56$; 46,3%), tiếp theo là ASMI giảm ($n = 48$; 39,6%) và tốc độ đi bộ giảm chiếm tỉ lệ thấp nhất ($n = 4$; 3,3%) [10]. Điều này có thể giải thích là do đối tượng nghiên cứu khác nhau về thói quen vận động, dinh dưỡng cũng như dân tộc thì sự thay đổi của các đặc điểm này có thể sẽ khác nhau.

Tổng cơ tứ chi, khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao, sức mạnh cơ tay, tốc độ đi bộ là những tiêu chí nằm trong tiêu chuẩn chẩn

đoán sarcopenia của Hiệp hội Sarcopenia Châu Á mà chúng tôi lấy làm tiêu chuẩn chẩn đoán sarcopenia trong nghiên cứu này. Nghiên cứu của chúng tôi còn cho thấy tuổi càng cao thì các chỉ số này càng giảm. Điều này có thể giải thích do tuổi cao, thay đổi thành phần cơ thể (mất khối lượng không béo - Fast Free mass) và rối loạn chức năng cơ xương và tăng đáp ứng viêm ở người bệnh COPD mạn tính. Kết quả này giống với nghiên cứu của Lee JY và cs (2016) [15]. Panita Limpawattana (2017) cũng chỉ ra rằng khối cơ tứ chi và khối cơ toàn thân theo chiều cao, tốc độ đi bộ, sức mạnh cơ tay trung bình của nhóm sarcopenia thấp hơn nhóm không sarcopenia và giảm dần theo tuổi [10]. Điều này có thể giải thích được lý do vì sao tỉ lệ sarcopenia tăng theo tuổi ở người bệnh COPD mà kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu ghi nhận tỉ lệ sarcopenia khá cao (45,2%) ở người bệnh cao tuổi có COPD giai đoạn ổn định. Tuổi càng cao, khối lượng cơ toàn thân theo chiều cao, sức mạnh cơ tay, tốc độ đi bộ càng giảm dần có ý nghĩa thống kê. Do vậy, sàng lọc và chẩn đoán sớm sarcopenia ở người bệnh COPD cao tuổi là rất cần thiết.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn các bệnh nhân tham gia nghiên

cứu, Ban giám đốc và các phòng ban Bệnh viện Lão khoa Trung ương và Bệnh viện 19-8 Bộ Công an, đã tạo điều kiện giúp đỡ trong quá trình thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Chen LK, Liu LK, Woo J et al (2014)**, Sarcopenia in Asia: consensus report of the asian working group for sarcopenia, *J Am Med Dir Assoc*, 15: 95–101.
2. **Aukrust P, Ueland T, Hardie JA et al (2010)**, Body composition and plasma levels of inflammatory biomarkers in COPD, *Eur Respir J*, 36(5):1027-1033.
3. **Santilli V, Bernetti A, Mangone M, Paoloni M (2014)**, Clinical definition of sarcopenia, *Clin Cases Miner Bone Metab*, 11(3):177-80.
4. **Maltais F (2014)**, Body composition in COPD: looking beyond BMI, *Int J Tuberc Lung Dis*, 18(1):3-4.
5. **Min KB (2017)**, Sarcopenia correlates with systemic inflammation in COPD, *International Journal of COPD*, 12: 669–675
6. **Tatiana M, Fabio MC, Carolina AM et al (2015)**, Sarcopenia in COPD: relationship with COPD severity and prognosis, *Pleunon*, 41(5)-415-421.
7. **Thompson DD (2007)**, Aging and sarcopenia, *J Musculoskeletal Neuronal Interact*, vol. 7(344-5)
8. **Sarah EJ, Matthew M, Samantha SCK et al (2015)**, Sarcopenia in COPD: prevalence, clinical correlates and response to pulmonary rehabilitation, *BMJ Journal*: Vol 70-3
9. **Solomon Y, Kandiah U, Renuka V (2014)**, Sarcopenia in older people, *International Journal of Evidence-Based Healthcare*, Vol 12(4): 227-43.
10. **American Thoracic Society (2002)**, ATS committee on proficiency standards for clinical pulmonary function laboratories. ATS statement: guidelines for the six-minute walk test, *Am J Respir Crit Care Med*, 166(1): 111–117
11. **Panita L, Pratchaya I, Siraphong P et al (2017)**, Sarcopenia in chronic obstructive pulmonary disease: A study of prevalence and associated factors in the Southeast Asian population, *Chronic Respiratory Disease journals* 1–8.
12. **Carlos ACP, Miguel B, Mario PC, Carlos C (2016)**, Sarcopenia and associated factors in older adults with COPD, *European Respiratory Journal* 48: OA271.
13. **Yukari S, Kazuhisa A, Shinya Y et al (2016)**, Relationships between sarcopenia and pulmonary function, exercise capacity, and prognosis in patients with COPD, *European Respiratory Journal*, 48: PA5028.

14. Shintaro S, Hironori S (2015), Investigation of sarcopenia in Japanese COPD patients, European Respiratory Journal, 46: PA3707.
15. Lee JY, Chon GR, Rhee CK, et al (2016), Characteristics of patients with chronic obstructive pulmonary disease at the first visit to a pulmonary medical center in Korea: the Korea COPD Subgroup Study team cohort, J Korean Med Sci; 31(4):553–560.

SUMMARY

PREVALANCE AND CHARACTERISTICS OF SARCOPENIA IN OLDER PATIENTS WITH STABLE CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE

Huong Thi Thu Nguyen^{1,2}, Anh Trung Nguyen^{1,2},
Diu Thi Vu³, Huyen Thi Thanh Vu^{1,2}

¹National Geriatric Hospital, ²Hanoi Medical University,
³19-8 Hospital

Objectives: To determine the rate and characteristics of sarcopenia in older patients with stable chronic obstructive pulmonary disease. **Subjects and methods:** a cross-sectional descriptive study on 363 stable chronic obstructive pulmonary disease (COPD) patients aged ≥ 60 years old examined and treated at the National Geriatrics Hospital and 19-8 Hospital. Study subjects were measured appendicular skeletal muscle with dual energy adsorption radiographs and diagnosed with sarcopenia based on the criteria of Asian Working Group for sarcopenia – AWGS. **Results:** Average age of study subjects was 70.7 ± 8.3 (years), male rate was 60.3%. The prevalence of sarcopenia in the study group was 45.2%. 74.6% of patients had a decrease in total appendicular skeletal muscle according to height (ASMI), 68.3% had a decrease in handgrip strength (HGS) and 42.7% had a decrease in walking speed. The ASMI, handgrip strength and walking speed decreased with age. **Conclusion:** The study highlighted a high rate of sarcopenia (45.2%) in elderly patients with stable stage COPD. The ASMI, handgrip strength and walking speed decreased with age. Therefore, it is necessary to screening and early diagnosis of sarcopenia in elderly COPD patients.

Key words: Sarcopenia, chronic obstructive pulmonary disease, elderly.

NGUYÊN NHÂN VÀ CÁCH XỬ TRÍ CƠN HẠ ĐƯỜNG HUYẾT Ở BỆNH NHÂN CAO TUỔI CÓ ĐÁI THÁO ĐƯỜNG TẠI BỆNH VIỆN THANH NHÀN

Nguyễn Trung Anh^{1,2,*}, Nguyễn Thị Thu Hương^{1,2},
Vũ Thị Thanh Huyền^{1,2}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định các nguyên nhân gây hạ đường huyết thường gặp và cách xử trí cơn hạ đường huyết ở bệnh nhân cao tuổi có đái tháo đường điều trị tại bệnh viện Thanh Nhàn. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 1215 bệnh nhân đái tháo đường tuýp 2 điều trị tại bệnh viện Thanh Nhàn từ tháng 11/2018 đến tháng 05/2019. Đối tượng nghiên cứu được phỏng vấn theo mẫu bệnh án thống nhất. Hạ đường huyết (HĐH) được chẩn đoán theo tiêu chuẩn của ADA 2018 khi đường máu $\leq 3,9$ mmol/l. **Kết quả:** Nguyên nhân gây hạ đường huyết thường gặp là ăn giảm khẩu phần (49,6%); ăn muộn (24,1%); bỏ bữa ăn (9,3%); quá liều, sai phác đồ insulin do bệnh nhân (7,4%); quá liều và sai phác đồ insulin do bác sĩ (4,2%). Tỷ lệ bệnh nhân được tiêm/truyền glucose ưu trương đường tĩnh mạch là 7,7%; ăn thực phẩm chứa glucose là 63,1%; ăn thực phẩm chứa tinh bột là 29,2%. Đa số bệnh nhân hết triệu chứng hạ đường huyết trong vòng 15 phút chiếm tỷ lệ 56,3%, số bệnh nhân có cơn hạ đường huyết kéo dài trên 60 phút chiếm tỷ lệ 0,9%. **Kết luận:** Nguyên nhân gây hạ đường huyết ở đối tượng nghiên cứu chủ yếu liên quan tới chế độ ăn của bệnh nhân. Thái độ xử trí cơn HĐH của bệnh nhân chưa hoàn toàn đúng. Do đó, nhân viên y tế cần có các biện pháp tư vấn, giáo dục về nguyên nhân cũng như cách xử trí hạ đường huyết thường xuyên cho đối tượng này.

Từ khóa: Hạ đường huyết, nguyên nhân, đái tháo đường, người cao tuổi.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hạ đường huyết (HĐH) là một cấp cứu nội khoa thường gặp đặc

biệt ở bệnh nhân đái tháo đường (ĐTĐ) cao tuổi, có thể nguy hiểm đến tính mạng của người bệnh. Theo Hiệp hội ĐTĐ Hoa Kỳ năm 2018: HĐH là tình trạng đường huyết hạ thấp $\leq 3,9$ mmol/l (≤ 70 mg/dl) nhưng HĐH có triệu chứng lâm sàng kèm theo thường xảy ra khi đường huyết < 54 mg/dl (3,0 mmol/l) [3].

¹Bệnh viện Lão khoa Trung ương

²Trường đại học Y Hà Nội

*Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Nguyễn Trung Anh

Email: trunganhvkl@gmail.com

Ngày nhận bài: 17/5/2021

Ngày phản biện: 27/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

Tất cả người cao tuổi, bất kể họ có mắc bệnh ĐTĐ hay không, cũng có những thay đổi liên quan đến tuổi tác có khả năng làm giảm khả năng dự trữ sinh lý. Cơ chế đối kháng có thể bị chậm trễ hoặc vắng mặt, dẫn đến tác dụng phụ kéo dài. Bệnh ĐTĐ ảnh hưởng đến hầu hết các hệ thống và tế bào cơ quan trong cơ thể, và không thể đánh giá thấp khả năng kết hợp chức năng sinh lý của nó. Các biến chứng đặc hiệu của bệnh có thể làm giảm chức năng và khi kết hợp với những thay đổi liên quan đến tuổi khác, ảnh hưởng rất lớn đến khả năng tiến hành các hoạt động quản lý bệnh tật [4].

HĐH ở người ĐTĐ cao tuổi có thể bị trầm trọng hơn do người cao tuổi ĐTĐ có các biến chứng và các bệnh đi kèm và có nguy cơ mắc hội chứng lão khoa cao hơn [5, 6]. Các triệu chứng thần kinh ở người cao tuổi ĐTĐ có thể bị nhầm lẫn với sự suy giảm nhận thức. Tất cả những vấn đề này làm tổn hại đến tính độc lập, khả năng chức năng và an toàn. HĐH nhẹ và nặng có liên quan đến tăng nguy cơ biến cố tim mạch, tất cả đều góp phần tăng tỷ lệ nhập viện và tử vong do mọi nguyên nhân [7, 8].

Nhiều tác giả đều công nhận chế độ ăn không hợp lý là nguyên nhân phổ biến nhất gây ra hạ HĐH nghiêm trọng [9]. Nghiên cứu của Vũ Thị Thanh Huyền (2003) cho thấy nguyên nhân HĐH thường gặp là sử dụng thuốc hạ đường huyết không thích hợp, đặc biệt là insulin

(84,1%); chế độ ăn của bệnh nhân không đảm bảo, bệnh nhân bỏ bữa (60%) [1]. Nghiên cứu của Shorr và cộng sự trên 19932 bệnh nhân ĐTĐ cho thấy 586 bệnh nhân bị HĐH nghiêm trọng liên quan sử dụng insulin hoặc sulfonylurea, tỷ lệ HĐH nghiêm trọng là khoảng 2 trên 100 người, tỷ lệ thô (trên 100 người) của hạ đường huyết nghiêm trọng là 1,23 (khoảng tin cậy 95% CI; 1,08-1,38) ở người dùng sulfonylureas và 2,76 (95% CI, 2,47-3,06) ở những người sử dụng insulin [10]. Phòng ngừa xuất hiện và xử trí đúng cơn HĐH giúp hạn chế những hậu quả nặng nề ở người cao tuổi. Do đó chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục đích xác định các nguyên nhân gây HĐH thường gặp và cách xử trí cơn HĐH ở bệnh nhân cao tuổi có ĐTĐ điều trị tại bệnh viện Thanh Nhàn.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhân ĐTĐ tuýp 2 điều trị tại bệnh viện Thanh Nhàn (khoa khám bệnh, khoa cấp cứu, khoa nội tiết) từ tháng 11/2018 đến tháng 05/2019.

Tiêu chuẩn lựa chọn: bệnh nhân ≥ 60 tuổi đã được chẩn đoán ĐTĐ tuýp 2 theo tiêu chuẩn của ADA năm 2018 [3].

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân có suy giảm nhận thức hoặc sa sút trí tuệ hoặc mắc các bệnh lý tâm thần, bệnh nhân mắc bệnh cấp tính

nặng không thể tham gia hoặc không thể hoàn thành bộ câu hỏi phỏng vấn.

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên 1215 bệnh nhân.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Thiết kế nghiên cứu: mô tả cắt ngang, phương pháp chọn mẫu toàn bộ, tất cả các bệnh nhân ĐTĐ cao tuổi thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ đều được đưa vào nghiên cứu. Quá trình thu thập thông tin được tiến hành theo mẫu bệnh án thống nhất dựa trên phỏng vấn bệnh nhân, người chăm sóc và tham khảo thông tin trong hồ sơ bệnh án quản lý bệnh nhân ngoại trú hoặc bệnh án nội trú nếu bệnh nhân nhập viện.

- Các biến số nghiên cứu

- + Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu: tuổi, giới, thời gian mắc ĐTĐ (năm).
- + HĐH trong vòng 6 tháng gần đây: Tiêu chuẩn chẩn đoán hạ đường huyết: dựa theo tam chứng Whipple [11] khi có đủ ba tiêu chuẩn sau:
 - Đường máu thấp $\leq 3,9$ mmol/l
 - Có triệu chứng lâm sàng của HĐH: biểu hiện thần kinh tự động (cảm giác đói, run tay

chân, hồi hộp đánh trống ngực, vã mồ hôi...) hoặc thần kinh trung ương (giảm tập trung, lẫn lộn, yếu tay chân, nhìn mờ...);

- Các triệu chứng này đáp ứng tốt với điều trị hạ đường huyết (ăn/uống thực phẩm có đường hoặc tiêm/truyền glucose đường tĩnh mạch).
- ✓ Bệnh nhân đến khám tại phòng khám được hỏi bệnh và xét nghiệm glucose máu để chẩn đoán HĐH.
- ✓ Chẩn đoán HĐH xảy ra tại nhà: phỏng vấn bệnh nhân và người nhà bệnh nhân để đánh giá bệnh nhân có ít nhất một cơn HĐH trong 6 tháng gần đây nhất khi có đủ 3 tiêu chuẩn của tam chứng Whipple (bệnh nhân ngoại trú phải có kết quả thử đường máu tại nhà do bệnh nhân hoặc người chăm sóc hoặc nhân viên y tế khác thử đường máu mao mạch).
- ✓ Chẩn đoán HĐH nặng: khi trong tiền sử trong vòng 6 tháng gần đây nhất có nhập viện vì hạ đường huyết nặng và có kết quả thử đường máu tại bệnh viện.
- ✓ Phân loại mức độ HĐH [11]:

Mức độ HĐH	Nồng độ đường máu	Mô tả
HĐH nhẹ	$\leq 3,9$ mmol/l	Có thể điều trị bằng carbonhydrat tác dụng nhanh và chỉnh liều thuốc hạ đường máu
HĐH trung bình	$\leq 3,0$ mmol/l	Có triệu chứng HĐH trên lâm sàng tuy nhiên bệnh nhân có thể tự xử trí được
HĐH nặng	Không có tiêu chuẩn cụ thể	HĐH liên quan đến suy giảm nhận thức nghiêm trọng cần hỗ trợ bên ngoài

- Nguyên nhân HĐH

+ Do chế độ ăn (ăn giảm khẩu phần, ăn muộn, bỏ bữa) và do hoạt động thể lực quá mức (phỏng vấn bệnh nhân và người chăm sóc).

+ Do phác đồ điều trị insulin/sulfonylure liên quan đến bác sĩ điều trị: thu thập thông tin từ bệnh án ngoại trú/nội trú kết hợp phỏng vấn bệnh nhân và người chăm sóc; do thay đổi phác đồ tiêm insulin chuyển liều không phù hợp, kết hợp insulin và nhóm sulfonylurea mà không hướng dẫn bệnh nhân thử đường máu để chỉnh liều, tăng liều insulin quá nhanh, không chỉnh liều insulin khi chế độ ăn của bệnh nhân giảm, chuyển đổi liều từ nhóm gliclazide và glibenclamide không phù hợp.

+ Do phác đồ điều trị insulin/sulfonylure liên quan đến bệnh nhân: thu thập thông tin từ đơn thuốc/bệnh án kết hợp phỏng vấn bệnh nhân và người chăm sóc. Nguyên nhân do bệnh nhân tự ý thay đổi phác đồ tiêm insulin (tiêm 3 mũi insulin hỗn hợp/ngày; tiêm 4 mũi insulin nhanh/ngày, tự ý kết hợp thêm thuốc uống như sulfonylurea, sử dụng kim tiêm insulin không phù hợp...

- Thời gian xuất hiện cơn HĐH: sáng (6h-12h); chiều-tối (13h-21h); đêm - sáng sớm (22h- 5h).

- Xử trí HĐH: (tiêm/truyền glucose ưu trương tĩnh mạch, ăn thực phẩm chứa glucose, cách ăn thực phẩm chứa tinh bột); thu thập thông tin dựa trên bệnh án ngoại trú/nội

trú kết hợp phỏng vấn bệnh nhân và người chăm sóc.

- Thời gian hết triệu chứng HĐH

(phút): tính từ lúc khởi phát triệu chứng đến khi hết triệu chứng.

- Xử lí số liệu: Số liệu được xử lý và phân tích bằng phần mềm thống kê y học SPSS 16.0. Sử dụng các thuật toán: tính tỷ lệ phần trăm, tính giá trị trung bình. Sai số do nhớ lại của bệnh nhân được hạn chế bằng cách phỏng vấn người chăm sóc để bổ sung và khẳng định các thông tin do bệnh nhân cung cấp. Thêm vào đó, các thông tin cũng được thu thập từ bệnh án ngoại trú/nội trú của bệnh nhân tại bệnh viện.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các nguyên tắc của nghiên cứu y sinh học. Nghiên cứu là mô tả lâm sàng, được thực hiện nhằm góp phần nâng cao hiệu quả điều trị và chất lượng cuộc sống cho bệnh nhân, không vì mục đích nào khác.

3. KẾT QUẢ**3.1. Đặc điểm chung và tỉ lệ hạ đường huyết của đối tượng nghiên cứu**

Qua nghiên cứu trên 1215 bệnh nhân, tuổi trung bình là $70,1 \pm 6,5$ (năm), nhóm tuổi từ 60-69 chiếm tỷ lệ 50%, nhóm ≥ 80 tuổi chiếm tỷ lệ 10%. Tỷ lệ bệnh nhân nữ chiếm 65,4%; nam giới chiếm 34,6%. Thời gian mắc bệnh ĐTĐ trung bình của nhóm nghiên cứu là $9,6 \pm 7,2$ (năm).

Tỷ lệ bệnh nhân có ít nhất 1 cơn HĐH trong vòng 6 tháng gần đây là 47,1% (572 bệnh nhân). HĐH nhẹ và trung bình chiếm tỷ lệ 44,2% (537 bệnh nhân). HĐH nặng chiếm 2,9% (35 bệnh nhân), các bệnh nhân HĐH nặng đều là những bệnh nhân đã từng phải nhập viện điều

trị nội trú. Số cơn HĐH trên 1 bệnh nhân trong vòng 6 tháng trung bình là $1,29 \pm 2,12$ (cơn HĐH). Trong vòng 6 tháng gần nhất, bệnh nhân có HĐH nặng chỉ có 1 cơn HĐH nặng duy nhất.

3.2. Nguyên nhân và xử trí cơn HĐH thường gặp

Bảng 3.1. Các nguyên nhân HĐH thường gặp ở đối tượng nghiên cứu (n=572)

Nguyên nhân hạ đường huyết	Số lượng (n)	Tỷ lệ %
Ăn giảm khẩu phần	284	49,6
Ăn muộn	138	24,1
Bỏ bữa	53	9,3
Hoạt động thể lực quá mức	9	1,6
Quá liều, sai phác đồ insulin do bác sĩ	24	4,2
Quá liều, sai phác đồ insulin do bệnh nhân	42	7,4
Quá liều, sai phác đồ sulfonylurea do bác sĩ	10	1,7
Quá liều, sai phác đồ sulfonylurea do bệnh nhân	12	2,1

Nhận xét: Nguyên nhân thường gặp gây hạ đường huyết là do ăn giảm khẩu phần (49,6%), ăn muộn (24,1%), bỏ bữa (9,3%). Do quá liều insulin, sai

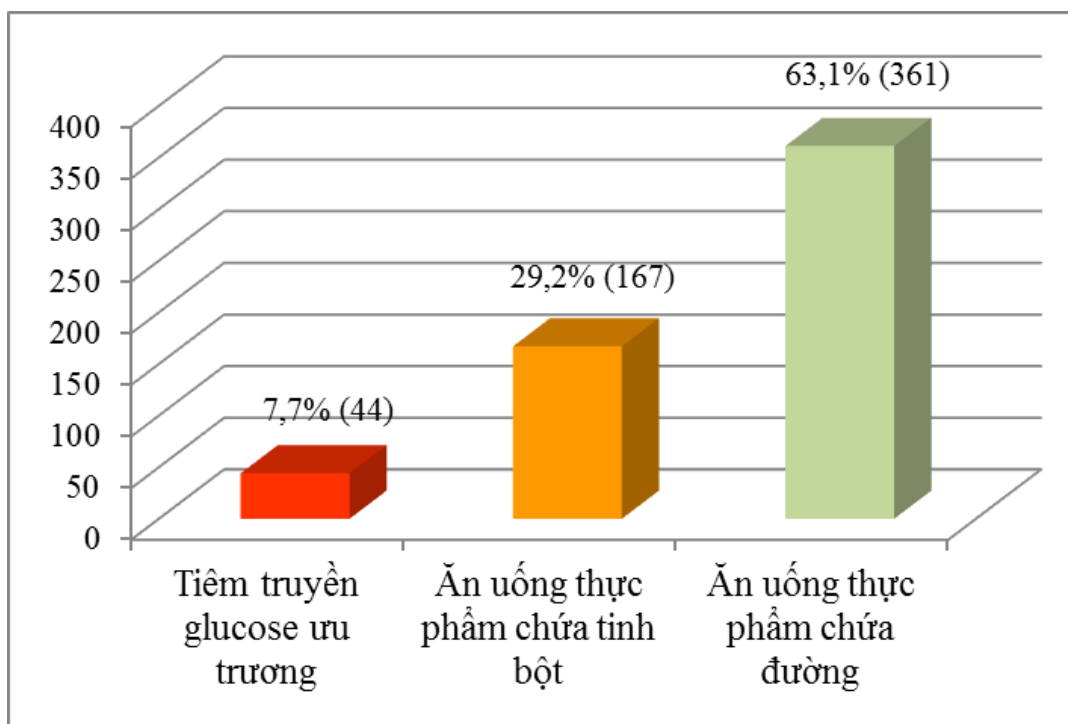
phác đồ insulin do bệnh nhân chiếm 7,4%; nguyên nhân quá liều insulin, sai phác đồ insulin do bác sĩ là 4,2% (Bảng 3.1).

Bảng 3.2. Thời gian xuất hiện cơn hạ đường huyết (n=572)

Thời gian xuất hiện cơn hạ đường huyết	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Hạ đường huyết chung (n=572)	Sáng (6h-12h)	232
	Chiều-tối (13h-21h)	194
	Đêm- sáng sớm (22h-5h)	146
	Tổng	572
Hạ đường huyết nặng (n=35)	Sáng (6h-12h)	11
	Chiều-tối (13h-22h)	10
	Đêm - sáng sớm (22h-5h)	14
	Tổng	35

Trong nhóm HĐH chung thời gian xuất hiện cơn HĐH vào buổi sáng chiếm tỷ lệ cao nhất 40,6% (232 bệnh nhân). Trong

nhóm HĐH nặng thời gian xuất hiện HĐH vào đêm - sáng sớm chiếm tỷ lệ cao nhất 40 % (14 bệnh nhân).



Biểu đồ 3.1. Phân loại cách xử trí hạ đường huyết (n=572)

Biểu đồ 3.1. thể hiện phân loại xử trí bệnh nhân HĐH bằng cách tiêm/truyền glucose ưu trương tĩnh mạch chiếm 7,7% (bao gồm 35 trường hợp HĐH nặng và 9 trường hợp HĐH trung bình truyền tại bệnh

viện do bệnh nhân không ăn uống được); bằng cách ăn thực phẩm chứa glucose chiếm 63,1% (361 bệnh nhân) và bằng cách ăn thực phẩm chứa tinh bột chiếm 29,2% (167 bệnh nhân).

Bảng 3.3. Thời gian hết các triệu chứng hạ đường huyết (n=572)

Thời gian (phút)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
< 15 phút	322	56,3
15 - 30 phút	215	37,6
30 - 60 phút	30	5,2
> 60 phút	5	0,9

Đa số bệnh nhân hết triệu chứng HĐH trong vòng 15 phút chiếm tỷ lệ 56,3%, số bệnh nhân có cơn HĐH

kéo dài trên 60 phút chiếm tỷ lệ 0,9% (Bảng 3.3).

4. BÀN LUẬN

Nghiên cứu nhằm đánh giá các nguyên nhân và xử trí cơn hạ đường huyết ở người cao tuổi có ĐTĐ điều trị tại bệnh viện Thanh Nhân. Kết quả nghiên cứu ghi nhận nguyên nhân thường gặp gây HĐH trong nghiên cứu của chúng tôi là do bệnh nhân ăn giảm khẩu phần (49,6%), ăn muộn (24,1%), bỏ bữa (9,3%), quá liều insulin, sai phác đồ insulin do bệnh nhân (7,3%), do bác sĩ 4,2%. Kết quả này tương tự nghiên cứu của Nguyễn Thị Hạnh cho thấy bệnh nhân ăn kém, bỏ ăn trong khi vẫn dùng thuốc điều trị ĐTĐ không được điều chỉnh liều phù hợp là một yếu tố thuận lợi của HĐH chiếm tỷ lệ cao (69,4%) [2]. Nguyên nhân quá liều, sai phác đồ insulin do bác sĩ trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm 4,2%. Nguyên nhân thường là thay đổi phác đồ tiêm từ 2 mũi hỗn hợp sang 2 mũi bán chậm, kê kết hợp 2 mũi insulin hỗn hợp kết hợp với nhóm sunfonylurea, tăng liều insulin cho bệnh nhân nhưng không hướng dẫn test lại đường máu, bệnh nhân đang nằm viện đang trong quá trình chỉnh liều insulin bị quá liều, bệnh nhân đang nằm viện ăn uống kém bác sĩ vẫn cho tiêm liều như cũ.

Nguyên nhân quá liều, sai phác đồ insulin do bệnh nhân chiếm 7,3% thường gặp là do bệnh nhân tự ý thay đổi phác đồ như tiêm 3 mũi hỗn hợp, hoặc tiêm 4 mũi

insulin nhanh, tự ý kết hợp thêm nhóm sulfonylurea, tiêm bị cong kim thì tiêm lại mũi khác, dùng kim không phù hợp với loại insulin, bệnh nhân tiêm xong đi ngủ người nhà thấy đến giờ tiêm lại tiêm cho bệnh nhân lúc đang ngủ, không giảm liều khi thay đổi chế độ ăn... Nguyên nhân quá liều sulfonylurea do bác sĩ chiếm 2,1% thường gặp là do bệnh nhân mới phát hiện ĐTĐ kê đơn chưa phù hợp, khi thay đổi thuốc từ nhóm gliclazide sang nhóm glibenclamide với liều không phù hợp gây tăng tiết quá nhiều insulin nội sinh dẫn đến bệnh nhân có triệu chứng HĐH, bệnh nhân đang tiêm phác đồ 2 mũi insulin hỗn hợp thì kê kết hợp thêm loại thuốc sunfonylurea ...

Nguyên nhân quá liều sunfonylurea do bệnh nhân chiếm 1,8% thường gặp là do bệnh nhân tự ý mua thêm thuốc uống do bác sĩ thay thuốc bệnh nhân sợ thiếu liều, uống ngày 2 lần trong khi bác sĩ kê 1 lần, tự mua uống thêm kết hợp với thuốc tiêm vì đường máu vẫn cao.v.v.

Hoạt động thể lực là một trong ba biện pháp điều trị cơ bản đối với quá trình chuyển hóa ở bệnh nhân ĐTĐ. Vai trò của luyện tập ảnh hưởng lên chuyển hóa phụ thuộc vào mức độ thời gian luyện tập, loại hình luyện tập, khả năng đáp ứng của cơ, yếu tố môi trường, dinh

đường. Việc lựa chọn loại hình luyện tập quá nặng nề, thời gian quá dài và nhất là kèm theo cung cấp năng lượng không đủ là yếu tố gây ra tình trạng hạ glucose máu. Theo khuyến cáo IDF 2013 [12], các bệnh nhân trên 65 tuổi, nên tập các bài tập nhẹ nhàng phù hợp với thể chất và nên bổ sung carbohydrate nếu lượng đường máu trước tập thể dục < 100 mg/dl (5,6 mmol/l). Trong nghiên cứu của chúng tôi có 9 BN (1,6%) bị HĐH do hoạt động thể lực quá mức sau khi tập thể dục buổi sáng sớm hoặc đột xuất hoạt động thể lực nhiều như lau dọn nhà, đi bộ từ bệnh viện về nhà 3 km... Như vậy để đề phòng HĐH do hoạt động thể lực quá mức người bệnh nên thử đường máu trước khi tập thể dục đặc biệt buổi sáng sớm, luôn mang sẵn bánh kẹo ngọt, đeo thẻ bệnh nhân ĐTĐ.

Về cách xử trí HĐH, trong nghiên cứu của chúng tôi có 7,7% (44 bệnh nhân) được xử trí tiêm/truyền glucose ưu trương tĩnh mạch, 63,1% bệnh nhân xử trí bằng cách ăn thực phẩm chứa đường và 29,2% bệnh nhân xử trí bằng cách ăn thực phẩm chứa tinh bột. Trong 44 bệnh nhân được xử trí truyền glucose có 35 bệnh nhân HĐH nặng. Như vậy vẫn có 29,2% bệnh nhân xử trí cơn HĐH bằng cách ăn thực phẩm chứa tinh bột chứ không phải ăn thực phẩm chứa đường, cách xử trí này làm kéo dài thời gian của cơn HĐH. Lý do là vì một số bệnh nhân vẫn còn nhận

thức bệnh ĐTĐ thì không được ăn bánh kẹo ngọt và chưa được bác sĩ tư vấn xử trí HĐH. Thời gian kéo dài của cơn HĐH của chúng tôi được tính từ lúc xuất hiện các triệu chứng HĐH đến lúc hết triệu chứng của cơn HĐH sau khi bệnh nhân đã được xử trí HĐH. Đa số bệnh nhân hết triệu chứng HĐH trong vòng 15 phút chiếm tỷ lệ 56,3%, số bệnh nhân có cơn HĐH kéo dài trên 60 phút chiếm tỷ lệ 0,9% (05 bệnh nhân) gặp ở những bệnh nhân HĐH nặng bệnh nhân hôn mê gia đình đưa vào viện cấp cứu nên mất thời gian di chuyển. Do đó, vấn đề nâng cao kiến thức và thực hành xử trí HĐH ở bệnh nhân cao tuổi cần được đặc biệt quan tâm.

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, hồi cứu có hạn chế về việc nhớ lại của bệnh nhân về HĐH trong 6 tháng gần đây cũng như chưa đánh giá được triệu chứng, nguyên nhân và xử trí của từng cơn HĐH mà chỉ ghi nhận được các thông tin này ở mỗi bệnh nhân. Tuy nhiên, các thông tin của bệnh nhân cung cấp được khẳng định lại bằng phỏng vấn người chăm sóc và thông tin tờ sơ bệnh án ngoại trú/nội trú tại bệnh viện.

5. KẾT LUẬN

Nguyên nhân gây HĐH ở đối tượng nghiên cứu chủ yếu liên quan tới chế độ ăn của bệnh nhân (ăn giảm khẩu phần, ăn muộn, bỏ bữa) và phác đồ điều trị thuốc. Thái độ xử trí cơn HĐH của bệnh nhân chưa hoàn toàn đúng. Do đó, nhân

viên y tế cần có các biện pháp tư vấn, giáo dục về nguyên nhân cũng như cách xử trí HĐH thường xuyên cho bệnh nhân ĐTĐ, đặc biệt là người cao tuổi.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu trân trọng cảm ơn các bệnh nhân tham gia nghiên cứu, Ban giám đốc và các phòng ban Bệnh viện Thanh Nhàn, đã tạo điều kiện giúp đỡ trong quá trình thực hiện đề tài.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Vũ Thị Thanh Huyền (2003)**, Tìm hiểu các đặc điểm lâm sàng và nguyên nhân hạ đường máu ở bệnh nhân đái tháo đường. Luận văn tốt nghiệp bác sỹ nội trú. Đại học Y Hà Nội.
2. **Nguyễn Thị Hạnh (2014)**, Tìm hiểu nguyên nhân và kết quả xử trí bước đầu hạ đường huyết ở bệnh nhân đái tháo đường- Khóa luận tốt nghiệp bác sỹ đa khoa. Đại học Y Hà Nội.
3. **American Diabetes Association (2018)**, Standards of Medical Care in Diabetes 2018. Diabetes Care, 41(1):S1-S2.
4. **Frier BM (2014)**, Hypoglycaemia in diabetes mellitus: epidemiology and clinical implications. Nat Rev Endocrinol, 10(12):711-22.
5. **Ebadi SA, Darvish P, Fard AJ, et al (2018)**, Hypoglycemia and cognitive function in diabetic patients. Diabetes Metab Syndr, 12(6):893-896.
6. **Abdelhafiz AH, Sinclair AJ (2019)**, Cognitive Frailty in Older People with Type 2 Diabetes Mellitus: the Central Role of Hypoglycaemia and the Need for Prevention. Curr Diab Rep, 19(4):15.
7. **Nicolucci A, Pirtaudi B, Rossi MC (2015)**, The social burden of hypoglycemia in the elderly. Acta Diabetol, 52(4):677-85.
8. **Lundkvist J, Berne C, Bolinder B, Jönsson L (2005)**, The economic and quality of life impact of hypoglycemia. Eur J Health Econ, (3):197-202.
9. **Drucker DJ, Sherman SI, Gorelick FS, et al (2010)**, Incretin-based therapies for the treatment of type 2 diabetes: evaluation of the risks and benefits. Diabetes Care 33(2):428-33.
10. **Shorr RI, Ray WA, Daugherty JR, et al (1997)**, Incidence and risk factors for serious hypoglycemia in older persons using insulin or sulfonylureas. Arch Intern Med, 157(15):1681-6.
11. **UK Hypoglycaemia Study Group (2007)**, Risk of hypoglycaemia in types 1 and 2 diabetes: effects of treatment modalities and their duration. Diabetologia, 50(6):1140-7.
12. **International Diabetes Federation (2013)**, Global Guideline for Managing Older People with Type 2 Diabetes.

SUMMARY**COMMON CAUSES AND TREATMENT OF HYPOGLYCEMIA IN OLDER PATIENTS WITH DIABETES AT THANH NHAN HOSPITAL**

**Anh Trung Nguyen^{1,2}, Huong Thi Thu Nguyen^{1,2},
Huyen Thi Thanh Vu^{1,2}**

¹National Geriatric Hospital, ² Hanoi Medical University

Objectives: To determine common causes and treatment of hypoglycemia in older patients with diabetes at Thanh Nhan hospital. **Methods:** A cross-sectional study on 1215 diabetic patients treated at Thanh Nhan Hospital from November 2018 to May 2019. Subjects were interviewed according to a uniform medical record. Hypoglycemia was diagnosed according to the ADA 2018 criteria: blood glucose ≤ 3.9 mmol/l. **Results:** the most common cause of hypoglycemia was a reduced diet (49.6%); eating late (24.1%); skipping meals (9.3%); overdose, wrong insulin regimen due to patients (7.4%); overdose and wrong insulin regimen by doctor (4.2%). The proportion of patients receiving intravenous hypertonic glucose injection/infusion was 7.7%; eating foods containing glucose was 63.1%; eating foods containing carbohydrate was 29.2%. The majority of patients with symptoms of hypoglycemia lasting within 15 minutes accounted for 56.3%, the number of patients with hypoglycemia lasting more than 60 minutes accounted for 0.9%. **Conclusions:** The common cause of hypoglycemia in the study subjects was mainly related to the patient's diet. The treatment of the patient's hypoglycemia was not completely correct. Therefore, medical staff should have measures to advise and educate about the causes as well as how to manage hypoglycemia for this subject regularly.

Keywords: Hypoglycemia, causes, diabetes, elderly.

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ ĐIỀU TRỊ CO THẮT NỬA MẶT NGUYÊN PHÁT BẰNG BOTULINUM TOXIN A

Trương Huệ Linh^{1,2,*}, Nguyễn Văn Liệu^{1,2**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả điều trị bằng Botulinum toxin A ở bệnh nhân co thắt nửa mặt nguyên phát. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 48 bệnh nhân co thắt nửa mặt nguyên phát được điều trị bằng tiêm Dysport tại bệnh viện đa khoa Tâm Anh trong khoảng thời gian từ tháng 6/2020 đến tháng 5/2021. **Kết quả:** 48 bệnh nhân, gồm 40 nữ (83,3%) và 8 nam (16,7%), tuổi từ 36 đến 79, tuổi trung bình là $57 \pm 10,43$, được đánh giá mức độ nặng theo thang điểm Jankovic là $2,75 \pm 0,70$. Tất cả bệnh nhân đều phát hiện thấy có xung đột thần kinh VII với mạch máu trên chuỗi xung T2-CISS. Liều lượng thuốc được tiêm vào các cơ vùng mặt là 80-145UI Dysport, trung bình $114,69 \pm 19,74$ UI, tỉ lệ điều trị hiệu quả là 91,7 %, hiệu quả bắt đầu đạt được sau tiêm 2-7 ngày và duy trì trong $5,50 \pm 0,97$ tháng (ngắn nhất là 3 tháng và dài nhất là 8 tháng). Hở khe mi (45,83%), sụp mi (4,2%) và bầm tụ máu chỗ tiêm (12,5%) là biến chứng hay gặp và hết sau 1-3 tuần. Không có biến chứng nặng được ghi nhận. **Kết luận:** Tiêm Botulinum toxin là phương pháp an toàn, hiệu quả điều trị triệu chứng co thắt nửa mặt nguyên phát.

Từ khóa: Botulinum toxin A, co thắt nửa mặt, xung đột thần kinh – mạch máu.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Co thắt nửa mặt có đặc điểm là các cử động co giật hoặc co cứng không chủ ý và không đều của các huyệt đến công việc, sinh hoạt và đi lại của bệnh nhân do tình trạng nhắm mi mất quá mức, từ đó ảnh

cơ ở một bên mặt vốn do thần kinh VII cùng bên chi phối. Co thắt nửa mặt nguyên phát chiếm phần lớn các trường hợp, nguyên nhân chính được cho là do sự chèn ép của mạch máu vào dây thần kinh mặt tại lối ra của dây này; khác với co thắt nửa mặt thứ phát do khối u, dị dạng mạch [1, 2]. Dù lành tính nhưng co thắt nửa mặt nguyên phát có thể gây ảnh hưởng đến thẩm mỹ, giao tiếp xã hội,... thậm chí ảnh hưởng tùy mức

¹Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh

*Tác giả thực hiện chính: **Trương Huệ Linh**

**Tác giả chịu trách nhiệm chính:

Nguyễn Văn Liệu

Email: lieutk@gmail.com

Ngày nhận bài: 04/6/2021

Ngày phản biện: 06/6/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

độ đến chất lượng cuộc sống của người bệnh.

Chẩn đoán cơ thắt nửa mặt chủ yếu dựa vào lâm sàng. Hình ảnh học trên cộng hưởng từ và chẩn đoán điện sinh lí góp phần loại trừ các nguyên nhân thứ phát và giúp cho chẩn đoán phân biệt [2]. Ngày nay, nhờ tiến bộ của chẩn đoán hình ảnh, đặc biệt là kĩ thuật chụp cộng hưởng từ dựng xung T2-CISS, tỉ lệ phát hiện xung đột mạch máu - thần kinh VII gia tăng [2-4].

Hiện nay, có nhiều phương pháp điều trị cơ thắt nửa mặt, bao gồm điều trị nội khoa, tiêm Botulinum toxin vào các cơ vùng mặt và các biện pháp điều trị can thiệp. Trong đó, điều trị nội có hiệu quả điều trị kém, can thiệp phẫu thuật là điều trị nguyên nhân song cũng gặp nhiều hạn chế, còn tiêm Botulinum toxin là lựa chọn hàng đầu hiện nay trong điều trị cải thiện triệu chứng, đem lại hiệu quả rõ rệt ở đa số bệnh nhân [1, 4, 5].

Đã có nhiều nghiên cứu ngoài nước bàn luận về các vấn đề này, tuy nhiên tại Việt Nam, đặc biệt khu vực phía Bắc lại chưa có nhiều nghiên cứu về phát hiện xung đột thần kinh mạch máu trên cộng hưởng từ, chưa nhiều các nghiên cứu về hiệu quả tiêm Botulinum toxin, cũng như mối tương quan giữa chúng và một số yếu tố khác. Vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu đánh giá hiệu quả điều trị bằng thuốc Botulinum toxin A ở bệnh nhân cơ thắt nửa mặt nguyên phát.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

Bệnh nhân cơ thắt nửa mặt nguyên phát và đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân cơ thắt nửa mặt thứ phát: do khối u góc cầu tiểu não, u tế bào hình sao não thất tư, phình mạch, dị dạng mạch, thoái hóa myelin khác...
- Bệnh nhân có chống chỉ định với tiêm BTX-A (đang có nhiễm trùng vùng cần tiêm, bệnh synap thần kinh - cơ, bệnh thần kinh ngoại biên, ...).
- Bệnh nhân không đủ thông tin hồ sơ nghiên cứu, từ chối tham gia.
- Bệnh nhân có tiền sử dị ứng với các thành phần của thuốc.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang

2.2.2. Phương tiện nghiên cứu

Dysport 300UI của hãng Ipsen, dung dịch natri chloride 0,9%, bơm tiêm 1ml, găng tay vô khuẩn, bông gạc vô khuẩn, cồn 70 độ; máy chụp cộng hưởng từ 1,5T; hồ sơ bệnh án ngoại trú, phiếu theo dõi bệnh nhân.

2.2.3. Các bước tiến hành

- **Bước 1:** Các bệnh nhân đến khám tại Bệnh viện đa khoa Tâm Anh, được chẩn đoán cơ thắt nửa mặt dựa trên lâm sàng, được thu thập các dữ liệu liên quan đến tuổi, giới, thời gian bị

- bệnh, các yếu tố làm tăng, giảm triệu chứng...
- **Bước 2:** Đánh giá mức độ co thắt trên lâm sàng bằng thang điểm Jankovic:
 - + Độ 0: Không co giật cơ
 - + Độ 1: Co giật cơ mức độ nhẹ, gây khó chịu nhẹ, chưa ảnh hưởng đến thẩm mỹ, chưa ảnh hưởng chức năng
 - + Độ 2: Co giật cơ mức độ trung bình, gây khó chịu nhiều, ảnh hưởng thẩm mỹ, chưa ảnh hưởng chức năng
 - + Độ 3: Co giật cơ nhiều, gây khó chịu, ảnh hưởng thẩm mỹ và chức năng
 - + Độ 4: Co giật cơ rất nhiều, ảnh hưởng nghiêm trọng chức năng
 - **Bước 3:** Các bệnh nhân được chụp cộng hưởng từ sọ não với các xung thường quy để loại trừ các nguyên nhân thứ phát và tìm xung đột thần kinh VII với mạch máu trên chuỗi xung T2-CISS. Xung đột (nếu có) được phân thành ba mức độ:
 - + Mức độ 1: Chạm nhẹ (tiếp xúc nhẹ)
 - + Mức độ 2: Chèn ép gây biến dạng hoặc làm lệch đường đi của dây VII.
 - + Mức độ 3: Vòng qua nhiều lần hoặc có nhiều mạch máu cùng chèn ép.
 - **Bước 4:** Tiến hành tiêm Botulinum toxin A (chế phẩm Dysport của hãng Ipsen).
 - **Bước 5:** Đánh giá mức độ co thắt dựa trên thang điểm Jankovic tại các thời điểm: sau tiêm 2 tuần, 1 tháng, 2 tháng, 3 tháng, 4 tháng, 5 tháng ... (hàng tháng cho đến đợt điều trị tiếp theo).
- Ghi nhận các thời gian thuốc bắt đầu có tác dụng, thời gian đạt tác dụng tối đa, tổng thời gian duy trì hiệu quả, các tác dụng phụ trong suốt quá trình điều trị (phỏng vấn qua điện thoại có thể kèm video call, tái khám tại viện)
- **Bước 6:** Đánh giá hiệu quả điều trị theo thang điểm Soulayrol (Bảng 1): Hiệu quả tốt nếu đạt 6-7 điểm, hiệu quả trung bình nếu đạt 4-5 điểm và không hiệu quả nếu đạt 0-3 điểm.

Bảng 1: Thang điểm Soulayrol

Hiệu quả trên co thắt	Tốt	2
	Trung bình	1
	Không	0
Thời gian duy trì hiệu quả	Trên 3 tháng	2
	1-3 tháng	1
	Dưới 1 tháng	0
Tác dụng phụ	Không	1
	Có	0
Cải thiện chức năng và chất lượng sống	Cải thiện rõ	2
	Cải thiện dao động	1
	Không cải thiện	0

3. KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

3.1. Đặc điểm lâm sàng và hình ảnh cộng hưởng từ

Về tuổi, giới: Trong 48 bệnh nhân được tiêm Dysport, chúng tôi ghi nhận có 40 nữ (chiếm 83,3%), 8 nam (chiếm 16,7%). Tỷ lệ nữ: nam là 5:1. Tỷ lệ bệnh nhân nữ cao hơn, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân là $57 \pm 10,43$. Tuổi thấp nhất là 36, tuổi lớn nhất là 79. Về tuổi khởi phát bệnh, sớm nhất là 32 tuổi, muộn nhất là 70 tuổi, trung bình là $51,60 \pm 9,69$. Nhóm tuổi từ 46-65 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (60,4%). Trong nghiên cứu của Girard B [6], gồm 198 bệnh nhân thì nữ chiếm 62,6%, tuổi trung bình là $55,7 \pm 14$. Do vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu của tác giả trong và ngoài nước, phù hợp y văn thế giới.

Về tỷ lệ bên mặt bị co thắt: Phần lớn bệnh nhân co thắt nửa mặt một bên (chiếm 97,9%); trong đó bên phải chiếm 64,6%, bên trái chiếm 33,3%. Có một bệnh nhân co thắt cả hai bên (chiếm 2,1%). Theo Jankovic [1], co thắt nửa mặt trái chiếm 56%. Theo Thussu A, Barman CR [7]: 48,15% co thắt nửa mặt phải, 51,85% co thắt nửa mặt trái. Khác với các nghiên cứu trên thế giới, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ co thắt nửa mặt phải nhiều hơn, điều này có thể giải thích do cỡ mẫu của chúng tôi còn nhỏ.

Về thời gian mắc bệnh: trung bình là $5,41 \pm 5,18$, trong đó dài nhất là 30 năm, ngắn nhất là 4 tháng.

Về thời điểm xuất hiện triệu chứng trong ngày: 58,3% bệnh nhân chỉ có triệu chứng vào ban ngày, 41,7 % xuất hiện triệu chứng bất kể thời điểm nào, không có bệnh nhân nào chỉ xuất hiện triệu chứng vào đêm. Co thắt nửa mặt khởi phát, nặng lên khi có các tác nhân kích thích, trong đó yếu tố tiếp xúc với ánh sáng mạnh hay gió chiếm tỷ lệ cao (45,83%), tiếp đến là nhai, nói (31,25%), khi xem tivi (27,08%), khi đọc (20,08%). So với nghiên cứu của Thussu A, Barman CR [7], yếu tố ánh sáng mặt trời chiếm 48,84%, kể đến khi nói (34,88%), xem tivi (30,23%), khi đọc (20,93%). Yếu tố tiếp xúc ánh sáng chói, gió làm ảnh hưởng đến sinh hoạt, đặc biệt các hoạt động ngoài trời như tham gia giao thông. Các yếu tố nhai, nói, giao tiếp, xem tivi, đọc gây ảnh hưởng nhiều đến sinh hoạt, lao động, làm giảm chất lượng cuộc sống của người bệnh.

Về mức độ co thắt: Thang điểm Jankovic trước tiêm trung bình là $2,75 \pm 0,70SD$. Trong đó độ 3 và độ 4 chiếm phần lớn hơn (60,4%), chứng tỏ đa số bệnh nhân đến khám và điều trị khi mà mức độ co thắt nửa mặt đã nặng và ảnh hưởng nhiều tới chức năng.

Các cơ bị ảnh hưởng: 100% bệnh nhân có triệu chứng khởi phát tại cơ vòng mi; tỷ lệ bệnh nhân co thắt cơ vòng mi, cơ má và cơ vòng môi chiếm tỷ lệ cao nhất (81,3%).

Có 6/48 bệnh nhân (12,5%) có vùng cơ bị co thắt rộng, lan ra cả cơ bám da cổ. Có sự liên quan giữa mức độ co thắt và thời gian bị bệnh ($p = 0,006 < 0,05$): Thời gian bị bệnh càng dài thì tỉ lệ co thắt độ 3 và độ 4 càng tăng.

Về phát hiện xung đột thần kinh mạch máu trên MRI: Xung đột thần kinh VII - mạch máu thấy ở tất cả các bệnh nhân.

3.2. Hiệu quả điều trị Botulinum toxin A

3.2.1. Liều thuốc, thời gian đáp ứng

Liều thuốc Dysport trung bình là $114,69 \pm 19,74$, cao nhất là 145 UI, thấp nhất là 80UI. Theo nghiên cứu

của Thussu A, Barman CR [7], liều thuốc $74,37 \pm 19,38$ (từ 60-160UI). Thời gian bắt đầu đáp ứng là $3,79 \pm 1,32$ ngày (2-7 ngày). Thời gian bắt đầu đạt hiệu quả tốt nhất là $2,21 \pm 0,74$ tuần (sớm nhất là 1 tuần, chậm nhất là 5 tuần). Thời gian duy trì hiệu quả là $5,50 \pm 0,97$ tháng (ít nhất là 3 tháng, dài nhất là 8 tháng). Trong nghiên cứu của Thussu A, Barman CR [7], thời gian bắt đầu có tác dụng là $3,67 \pm 1,66$ ngày. Như vậy, các kết quả của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu trong nước và thế giới.

3.2.2. Đánh giá hiệu quả điều trị qua thang điểm Jankovic theo thời gian

Bảng 4: Thang điểm Jankovic theo thời gian

Thời gian đánh giá	Số đối tượng nghiên cứu	Thang điểm Jankovic
Trước tiêm	48	$2,75 \pm 0,70$
Sau tiêm 2 tuần	48	$1,21 \pm 0,87$
Sau tiêm 1 tháng	48	$1,10 \pm 0,87$
Sau tiêm 3 tháng	48	$1,15 \pm 0,79$
Sau tiêm 5 tháng	48	$2,42 \pm 0,77$

So sánh mức độ co thắt bằng thang điểm Jankovic theo thời gian bằng kiểm định Paired Sample T-Test (Bảng 4).

Ở thời điểm trước tiêm và sau tiêm 2 tuần: Sự chênh lệch thang điểm Jankovic trung bình là -1,54. $p < 0,001$. Sau tiêm 2 tuần thì thang điểm Jankovic giảm có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Thuốc có hiệu quả sau thời gian 2 tuần.

Ở thời điểm sau tiêm 2 tuần và sau tiêm 1 tháng: Sự chênh lệch thang điểm Jankovic trung bình là 0,06 không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,083$). Sự cải thiện lâm sàng ở thời điểm 2 tuần và 1 tháng là giống nhau.

Ở thời điểm sau tiêm 1 tháng và sau tiêm 3 tháng: Sự chênh lệch thang điểm Jankovic trung bình là 0,04 ($p = 0,48$). Sự cải thiện lâm sàng ở thời điểm 1 tháng và 3

tháng là giống nhau. Như vậy hiệu quả lâm sàng sau tiêm đạt cao nhất vào thời điểm 2 tuần và hiệu quả này được duy trì đến tháng thứ 3 sau tiêm.

Ở thời điểm sau tiêm 3 tháng và sau tiêm 5 tháng: Sự chênh lệch thang điểm Jankovic trung bình là -1,33 ($p < 0,001$). Mức độ co thắt ở

tháng thứ 5 tăng so tháng thứ 3 có ý nghĩa thống kê. Do đó hiệu quả lâm sàng của thuốc giảm ở tháng thứ 5. Các kết quả này của chúng tôi phù hợp với các nghiên cứu trong và ngoài nước, phù hợp y văn [1, 6, 8]. Đánh giá hiệu quả điều trị qua thang điểm Soulayrol được trình bày trong Bảng 5.

Bảng 5. Hiệu quả điều trị tiêm theo thang điểm Soulayrol

Hiệu quả điều trị	N	%
Không hiệu quả (0-3)	4	8,3
Hiệu quả trung bình (4-5)	7	14,6
Hiệu quả tốt (6-7)	37	77,1
Tổng	48	100

Nhận xét: Tỷ lệ điều trị hiệu quả là 91,7%, hiệu quả tốt chiếm tỷ lệ cao nhất (77,1%).

3.2.3. Liên quan giữa hiệu quả điều trị bằng Botulinum toxin với một số yếu tố

Không có sự liên quan giữa thời gian bị bệnh, tuổi với hiệu quả điều trị tiêm. Có sự liên quan giữa mức độ xung đột trên MRI với hiệu quả điều trị tiêm: trong nhóm bệnh nhân điều trị hiệu quả tốt (Soulayrol 6-7 điểm), tỷ lệ xung đột kép thấp hơn có ý nghĩa thống kê với $p = 0,018$.

Có sự liên quan giữa mức độ co thắt với hiệu quả điều trị tiêm: trong nhóm bệnh nhân có thang điểm Jankovic ≥ 3 , tỷ lệ điều trị hiệu quả tốt thấp hơn có ý nghĩa thống kê với $p = 0,02$.

3.2.5. Tác dụng phụ khi điều trị tiêm Botulinum toxin

Các tác dụng phụ thường gặp: Hở khe mi (45,83%), sụp mi (4,2%) và bầm tụ máu chỗ tiêm (12,24%) là các biến chứng hay gặp nhưng chỉ thoáng qua và hết sau 1-3 tuần. Không có biến chứng nặng được ghi nhận. Các tác dụng phụ này cũng được quan sát thấy trong các nghiên cứu trong và ngoài nước [1, 7]. Có 18 bệnh nhân không gặp tác dụng phụ, các bệnh nhân này có thể được tiêm vào đúng vị trí, liều lượng phù hợp, mô liên kết dưới da tốt nên thuốc không lan quá xa khỏi vùng tiêm, hạn chế được các tác dụng phụ.

4. KẾT LUẬN

Botulinum toxin A (Dysport) có hiệu quả trong điều trị triệu chứng

co thắt nửa mặt nguyên phát, tỉ lệ đạt hiệu quả là 91,7%, trong đó đạt hiệu quả tốt chiếm 77,1%. Thuốc bắt đầu có tác dụng sau khoảng 2-7 ngày, tác dụng tối đa đạt được vào khoảng tuần thứ 2 và duy trì đến tháng thứ 3. Tổng thời gian duy trì đáp ứng là khoảng 5 tháng (ít nhất là 3 tháng, dài nhất là 8 tháng). Tác dụng phụ chiếm 66,67%, nhưng thường nhẹ và thoáng qua, tự hồi phục.

Các yếu tố có thể ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị là thời gian bị bệnh, mức độ co thắt trên lâm sàng và mức độ xung đột thần kinh - mạch máu.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn ban giám đốc bệnh viện đa khoa Tâm Anh đã hỗ trợ trong quá trình thu thập số liệu nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Wang A, Jankovic J (1998)**, Hemifacial spasm: clinical findings and treatment, *Muscle & Nerve*, 21(12), 1740-1747.
2. **Lefaucheur JP, Ben Daamer N, Sangla S et al (2018)**, Diagnosis of primary hemifacial spasm, *Neurochirurgie*, 64(2), 82-86.
3. **Haller S, Etienne L, Kövari E et al (2016)**, Imaging of Neurovascular Compression Syndromes: Trigeminal Neuralgia, Hemifacial Spasm, Vestibular Paroxysmia, and Glossopharyngeal Neuralgia, *AJNR. American journal of neuroradiology*, 37(8), 1384-1392.
4. **Iijima K, Horiguchi K, Yoshimoto Y (2013)**, Microvascular decompression of the root emerging zone for hemifacial spasm: evaluation by fusion magnetic resonance imaging and technical considerations, *Acta Neurochirurgica*, 155(5), 855-862.
5. **Kenney C, Jankovic J (2008)**, Botulinum toxin in the treatment of blepharospasm and hemifacial spasm, *Journal of Neural Transmission (Vienna, Austria: 1996)*, 115(4), 585-591.
6. **Herrero-Infante Y, Rodriguez SA, Manez MJ et al (2021)**, Hemifacial spasm through the last three decades: From etiology to efficacy and safety of long-term botulinum toxin treatment, *Clin Neurol Neurosurg*, 203, 106555.
7. **Thussu A, Barman CR, Prabhakar S (1999)**, Botulinum toxin treatment of hemifacial spasm and blepharospasm: objective response evaluation, *Neurol India*, 47(3), 206-9.
8. **Nguyễn Thị Hùng (2011)**, Đánh giá hiệu quả điều trị của toxin botulinum trong co thắt nửa mặt, *Nghiên cứu Y học, Y Học TP. Hồ Chí Minh*, 15(1), 649-651.

SUMMARY**EFFICACY OF BOTULINUM TOXIN IN TREATMENT OF PRIMARY
HEMIFACIAL SPASM****Linh Truong Hue^{1,2}, Lieu Nguyen Van^{1,2}****¹Hanoi Medical university, ²Tam Anh Hospital**

Objective: Evaluating the effects of toxin botulinum A in treatment of primary hemifacial spasm. **Methods:** A total of 48 patients with primary hemifacial spasm were treated by injections of botulinum toxin A (Dysport) in Tam Anh Hospital from 6/2020 to 5/ 2021. Methods: Prospective, descriptive study. **Results:** Forty-eight patients (8 male, 40 female) were included in the study, the ages were from 36 to 79 years with an average age of $57 \pm 10,43$ years, having mean Jankovic disability rating scale score of $3.25 \pm 0.55SD$. MRI revealed vascular compression in all patients. The dose Dysport was 80-145UI; 91,7% reported improvement after 2 weeks - 1 month from the injected. Benefits begin in 2-7 days after the treatment and last for an average of $5,50 \pm 0,97$ months (3-8 months). Side effects such as ectropion (45,83%), ptosis (4,2%), and hematoma (12,5%) are transient and reversible after 1-3 weeks. No severe complication was noted. **Conclusions:** This finding show that local botulinum toxin treatment provides effective and safe relief of hemifacial spasm.

Keywords: Botulinum toxin A, hemifacial spasm, neurovascular compression.

**TÌNH TRẠNG CHẢY MÁU SAU PHẪU THUẬT VÀ ỨNG DỤNG BỘ
CÔNG CỤ
KHẢO SÁT TÌNH TRẠNG CHẢY MÁU Ở BỆNH NHÂN PHẪU THUẬT
TẠI BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI**

Nguyễn Thị Minh Khuê^{1,*}, Nguyễn Quang Tùng¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả đặc điểm chảy máu và đánh giá mối tương quan giữa tình trạng chảy máu liên quan đến phẫu thuật với nguy cơ chảy máu theo bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ISTH – BATs. **Phương pháp:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 340 bệnh nhân phẫu thuật tại BV Đại học Y Hà Nội. **Kết quả:** Tỷ lệ bệnh nhân có chảy máu trong và sau phẫu thuật là 13,5%. Tỷ lệ bệnh nhân có nguy cơ chảy máu theo bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu BATs là 1,8%. Có mối tương quan giữa nguy cơ chảy máu theo bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ISTH - BATs với tình trạng có chảy máu trong và sau phẫu thuật với $p = 0,004$. Giá trị chẩn đoán dương tính của ISTH - BATs là 66,7%, giá trị chẩn đoán âm tính là 87,4%, độ nhạy là 8,7%, độ đặc hiệu là 99,3%. **Kết luận:** Các phẫu thuật luôn có nguy cơ cao xảy ra chảy máu bất thường. Tiền sử chảy máu có ý nghĩa quan trọng trong đánh giá nguy cơ chảy máu trong và sau phẫu thuật. Bộ công cụ đánh giá tình trạng chảy máu ISTH – BATs là công cụ đánh giá tiền sử chảy máu có thể sử dụng trong đánh giá nguy cơ chảy máu trước phẫu thuật.

Từ khóa: Nguy cơ chảy máu trước phẫu thuật, xét nghiệm tiền phẫu, tiền sử chảy máu, ISTH - BATs.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Đánh giá nguy cơ chảy máu trước các phẫu thuật hoặc thủ thuật xâm lấn là rất quan trọng. Hiện nay ở Việt Nam đã có khuyến cáo sử

dụng bộ xét nghiệm tiền phẫu bao gồm số lượng tiểu cầu, fibrinogen, PT, APTT để đánh giá nguy cơ chảy máu trước các phẫu thuật [1]. Nhiều khuyến cáo đề xuất và nêu cao tầm quan trọng của việc khai thác tiền sử chảy máu của bệnh nhân trong đánh giá nguy cơ chảy máu trước phẫu thuật [3, 4].

Tuy nhiên việc khác thác tiền sử chảy máu đối với các bệnh nhân

¹Đại Học Y Hà Nội

*Tác giả thực hiện và chịu trách nhiệm chính:

Nguyễn Thị Minh Khuê

Email: minhkhue1803@gmail.com

Ngày tiếp nhận: 27/4/2021

Ngày phản biện: 04/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

phẫu thuật phụ thuộc rất nhiều vào giá trị của bộ câu hỏi sàng lọc. Bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ISTH - BATs được xây dựng dựa trên những thách thức trong đánh giá tiền sử chảy máu và đã được khuyến cáo sử dụng trong đánh giá nguy cơ chảy máu ở nhiều nước trên thế giới. Do đó chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu về tình trạng chảy sau phẫu thuật và ứng dụng bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ở bệnh nhân phẫu thuật tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội, với mục tiêu là mô tả đặc điểm chảy máu và đánh giá mối tương quan giữa tình trạng chảy máu liên quan đến phẫu thuật với nguy cơ chảy máu theo bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ISTH – BATs.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

340 bệnh nhân được phẫu thuật tại bệnh viện Đại học Y Hà Nội từ tháng 2/2020 đến tháng 5/2020.

Tiêu chuẩn loại trừ: bệnh nhân đang sử dụng các thuốc chống đông và/hoặc sử dụng aspirin.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả.

2.2.2. Cách chọn mẫu

Chọn mẫu thuận tiện.

2.2.3. Nội dung nghiên cứu

- Tất cả các bệnh nhân trước phẫu thuật được khai thác tiền sử chảy máu theo bộ công cụ đánh giá chảy máu BATs của ISTH năm 2010 (gồm 14 câu hỏi về các triệu chứng chảy máu và 1 thang điểm đánh giá điểm cho từng triệu chứng). Bệnh nhân có nguy cơ chảy máu theo BATs khi có tổng điểm ≥ 4 ở nam giới và ≥ 6 điểm ở nữ giới trưởng thành, ≥ 3 ở trẻ em.

- Các bệnh nhân được đánh giá tình trạng sức khỏe theo phân loại tình trạng sức khỏe của Hiệp hội gây mê hồi sức Mỹ (ASA) với:

- ASA 1: Bệnh nhân khỏe mạnh, không hút thuốc hay nghiện rượu
- ASA 2: Bệnh nhân mắc một bệnh lý toàn thân nhẹ, không giới hạn chức năng sống.
- ASA 3: Bệnh nhân mắc bệnh toàn thân nặng, hạn chế chức năng sống.
- ASA 4: Bệnh nhân mắc bệnh toàn thân nặng, thường xuyên đe dọa tính mạng.
- ASA 5: Bệnh nhân suy kiệt, tỷ lệ sống thấp nếu không phẫu thuật.
- ASA 6: Bệnh nhân chết não, chuẩn bị hiến tạng.

- Các bệnh nhân được làm các xét nghiệm đông cầm máu tiền phẫu (gồm đếm số lượng tiểu cầu,

định lượng Fibrinogen, PT, APTT, TT) đánh giá trước phẫu thuật.

- Các bệnh nhân được theo dõi chảy máu trong và sau phẫu thuật, đánh giá tình trạng chảy máu trên lâm sàng.

2.3. Xử lý số liệu

Nhập và xử lý số liệu trên phần mềm SPSS 20. Kết quả nghiên cứu được thể hiện: phần trăm (%) với các biến định tính

- Với các biến định tính, sử dụng test χ^2 hoặc Fisher's Exact test để so sánh các tỷ lệ; tính tỷ suất chênh OR.

- Tính giá trị tiên lượng với độ nhạy (Se), độ đặc hiệu (Sp), giá trị

chẩn đoán dương tính (PPV), giá trị chẩn đoán âm tính (NPV).

3. KẾT QUẢ

3.1 Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện trên các bệnh nhân có độ tuổi trung bình là $46,4 \pm 19,6$, nhóm tuổi gặp chủ yếu từ 16-60 tuổi chiếm tỷ lệ 69,4%. Đa phần các bệnh nhân có tình trạng sức khỏe bình thường hoặc có bệnh lý phối hợp mức độ nhẹ (ASA 1, ASA 2) chiếm tỷ lệ lần lượt là 71,8% và 22,6% (Bảng 1).

Bảng 1. Một số đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm		N	Tỷ lệ %
Giới tính	Nam	177	52%
	Nữ	163	48%
Tuổi	< 16 tuổi	18	5,3%
	16-60 tuổi	236	69,4%
	> 60 tuổi	86	25,3%
Tình trạng sức khỏe theo ASA	ASA 1	244	71,8%
	ASA 2	77	22,6%
	ASA 3	13	3,8%
	ASA 4	3	0,9%
	ASA 5	3	0,9%
Loại phẫu thuật	Tai mũi họng	57	17%
	Thần kinh sọ não	92	27%
	Chấn thương	92	27%
	Tiêu hóa - tiết niệu	99	29%

3.2 Đặc điểm chảy máu và một số yếu tố liên quan đến chảy máu ở nhóm nghiên cứu

Bảng 2. Đặc điểm chảy máu và một số yếu tố liên quan đến chảy máu

Đặc điểm		N	Tỷ lệ (%)
Tình trạng chảy máu	Chảy máu trong và/hoặc sau phẫu thuật	46	13,5%
	Chảy máu trong phẫu thuật	41	12,1%%
	Chảy máu sau phẫu thuật	17	5%
Có tiền sử chảy máu		109	32,1%
Có nguy cơ theo ISTH - BATs		6	1,8%
số lượng tiểu cầu < 150G/L		8	2,4%
Fibrinogen < 2 g/L		8	2,4%
PT% < 70%		5	1,5%
rAPTT > 1,25		10	2,9%

Kết quả ở Bảng 2 cho thấy nhóm nghiên cứu có 46 bệnh nhân có tình trạng chảy máu trong và sau mổ, chiếm tỷ lệ 13,5%. Số bệnh nhân có tiền sử chảy máu là 59 người (chiếm 32,1%), trong đó chỉ có 6 bệnh nhân thuộc nhóm nguy cơ theo ISTH - BATs (1,8%). Tỷ lệ bệnh nhân có bất thường xét

nghiệm đông cầm máu tiền phẫu thuật trong nghiên cứu của chúng tôi thấp, với bất thường số lượng tiểu cầu là 2,4%, fibrinogen là 2,4%, PT là 1,5% và APTT là 2,9%.

3.3. Giá trị ứng dụng của bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ISTH - BATs trong đánh giá nguy cơ chảy máu trước phẫu thuật

Bảng 3. Mối tương quan giữa tiền sử chảy máu, nguy cơ theo BATs và tình trạng chảy máu

Đặc điểm		Có chảy máu	Không có chảy máu	N	p	OR	95% CI
Tiền sử chảy máu	Có tiền sử	21	88	340	0,034	1,966	1,046 – 3,698
	Không có tiền sử	25	206				
Thang điểm BATs	Có nguy cơ	4	2	340	0,004	13,905	2,47 - 78,269
	Không có nguy cơ	42	292				

Kết quả thể hiện ở Bảng 3 cho thấy bệnh nhân có tiền sử chảy máu có tỷ lệ chảy máu cao hơn nhóm không có tiền sử chảy máu, khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p = 0,034$). Nguy cơ có chảy máu tăng lên 1,966 là ở nhóm có tiền sử chảy máu với 95% CI

trong khoảng từ 1,046 đến 3,698. Tỷ lệ bệnh nhân có chảy máu trong nhóm có nguy cơ theo BATs tăng lên có ý nghĩa thống kê. Nguy cơ chảy máu tăng lên 13,905 lần ở nhóm có nguy cơ theo BATs với 95% CI trong khoảng 2,47 - 78,269.

Bảng 4. Giá trị tiên lượng nguy cơ chảy máu của bộ công cụ đánh giá tình trạng chảy máu BATs

	Tỷ lệ có bất thường n (%)	Se(%)	Sp(%)	PPV(%)	NPV(%)
Tiền sử chảy máu	109 (32,1%)	45,7	70,1	19,3	89,2
ISTH – BATs	6 (1,8%)	8,7	99,3	66,7	87,4

Bảng 4 thể hiện giá trị chẩn đoán dương tính của ISTH - BATs là 66,7%, giá trị chẩn đoán âm tính là 87,4%, độ nhạy là 8,7% với độ đặc hiệu là 99,3%.

4. BÀN LUẬN

Đánh giá nguy cơ chảy máu trước các phẫu thuật và thủ thuật đã có nhiều nghiên cứu tuy nhiên chưa có sự thống nhất về nhiều vấn đề, đặc biệt là việc sử dụng rộng rãi và thường quy các xét nghiệm đông máu tiền phẫu và giá trị của tiền sử chảy máu trong tiên lượng nguy cơ chảy máu. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có chảy máu trong phẫu thuật khá cao là 13,5% trong đó tình trạng chảy máu xảy ra ngay trong quá trình phẫu thuật được thấy ở 41 bệnh nhân (12,1%), tình trạng có chảy máu sau các phẫu

thuật ở 17 bệnh nhân (5%), biểu hiện chảy máu cả trong và sau phẫu thuật ở 12 bệnh nhân. Nhóm nghiên cứu có tỷ lệ bất thường xét nghiệm đông máu thấp, với bất thường số lượng tiểu cầu là 2,4%, fibrinogen là 2,4 %, PT là 1,5 %, APTT là 2,9%. Tỷ lệ bệnh nhân có tiền sử chảy máu chiếm tỷ lệ 32,1%, nhưng tỷ lệ bệnh nhân có nguy cơ theo ISTH - BATs thấp, tương đương tỷ lệ có bất thường một số xét nghiệm đông cầm máu (1,8%). Tiền sử chảy máu và triệu chứng lâm sàng đóng vai trò quan trọng trong tiên lượng nguy cơ chảy máu trong phẫu thuật. Tuy nhiên giá trị của tiền sử chảy máu phụ thuộc rất lớn vào bộ câu hỏi đánh giá. Chúng tôi xác định bệnh nhân có tiền sử chảy máu là bệnh nhân có ít nhất một triệu chứng liên quan đến chảy máu bất thường trong

quá khứ. Bệnh nhân có tiền sử chảy máu trước phẫu thuật có tỷ lệ chảy máu trong và sau phẫu thuật cao hơn, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,034$. Nguy cơ chảy máu trong và sau phẫu thuật ở nhóm có tiền sử chảy máu tăng lên 1,966 lần so với nhóm không có tiền sử chảy máu với 95% CI trong khoảng 1,046 - 3,698. Qua đó ta thấy rằng, tiền sử chảy máu có mối tương quan rõ ràng tới nguy cơ chảy máu liên quan đến phẫu thuật. Kết quả cũng cho thấy có mối tương quan giữa tình trạng chảy máu trong phẫu thuật và nguy cơ chảy máu đánh giá theo bộ công cụ khảo sát tình trạng chảy máu ISTH - BATs với $p = 0,004$. Nguy cơ chảy máu trong nhóm có nguy cơ theo BATs tăng 13,905 lần so với nhóm không có nguy cơ với giá trị 95% CI trong khoảng 2,47 - 78,269. Xem xét về giá trị tiên lượng nguy cơ chảy máu, độ nhạy của BATs là 8,7%, độ đặc hiệu là 99,3%, giá trị chẩn đoán dương tính là 66,7%, giá trị chẩn đoán âm tính là 87,4%. Kết quả cho thấy BATs có độ nhạy và giá trị chẩn đoán dương tính còn thấp, tuy nhiên độ đặc hiệu và giá trị chẩn đoán âm tính khá cao. Các tỷ lệ này có khác biệt nhỏ so với nghiên cứu của Minka năm 2018 với độ nhạy của BATs là 27% ở nam và 31% ở nữ, độ đặc hiệu ở nam là 84% và ở nữ là 72%, giá trị chẩn đoán dương tính là 19% ở nam và 8,1% ở nữ, giá trị chẩn đoán âm tính ở nam là 89% và ở nữ là 93% [5]. Kết quả này có thể là

do tỷ lệ bệnh nhân có nguy cơ theo BATs thấp hơn nhiều so với tỷ lệ bệnh nhân có tiền sử chảy máu. Tuy nhiên bộ công cụ đánh giá tình trạng chảy máu BATs đánh giá toàn diện hơn và có thang điểm cụ thể để xác định ý nghĩa của từng triệu chứng chảy máu trong tiền sử chảy máu. Trừ độ nhạy thấp hơn, các giá trị độ đặc hiệu, giá trị chẩn đoán dương tính và âm tính của BATs đều cao hơn hoặc tương tự đánh giá đơn thuần tiền sử chảy máu.

5. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy tỷ lệ bệnh nhân có chảy máu liên quan đến phẫu thuật ở các bệnh nhân phẫu thuật tại Bệnh viện Đại học Y Hà Nội là 13,5%. Có mối tương quan giữa tình trạng chảy máu với nguy cơ chảy máu theo bộ công cụ đánh giá tình trạng chảy máu BATs. Giá trị của BATs trong tiên lượng nguy cơ chảy máu có độ nhạy là 8,7%, độ đặc hiệu là 99,3%, giá trị chẩn đoán dương tính là 66,7%, giá trị chẩn đoán âm tính là 87,4%. Bộ công cụ đánh giá tình trạng chảy máu ISTH - BATs có giá trị trong đánh giá nguy cơ chảy máu trước phẫu thuật, tuy nhiên còn nhiều hạn chế, cần có thêm các nghiên cứu khác để cải thiện giá trị chẩn đoán của BATs.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin cảm ơn Bệnh viện Đại học Y Hà Nội đã cho phép chúng tôi thực hiện nghiên cứu

này. Đặc biệt cảm ơn tập thể các bác sĩ, điều dưỡng tại Khoa Tai Mũi Họng, Khoa Ngoại Thần Kinh, Khoa Ngoại Tổng hợp, Khoa Ngoại Chấn thương và Y học thể thao, Khoa Gây mê hồi sức đã giúp đỡ chúng tôi trong quá trình chọn bệnh nhân, theo dõi bệnh nhân và đánh giá bệnh nhân trên lâm sàng và xét nghiệm.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Nguyễn Anh Trí, Nguyễn Thị Nữ (2011)**, Vai trò của xét nghiệm đông cầm máu trong tiên lượng nguy cơ chảy máu phẫu thuật, Y học Việt Nam, Tập 381, Số đặc biệt tháng 5:158-167.
- 2. Asaf T, Reuveni H, Yermiahu T, et al (2001)**, The need for routine pre-operative coagulation screening tests (prothrombin time PT/partial thromboplastin time PTT) for healthy children undergoing elective tonsillectomy and/or adenoidectomy, International Journal of Pediatric Otorhinolaryngology, 61(3):217-222.
- 3. Borzotta AP, Keeling MM (1984)**, Value of the preoperative history as an indicator of hemostatic disorders, Ann Surg, 200(5):648-652.
- 4. Chee YL, Crawford JC, Watson HG, Greaves M (2008)**, Guidelines on the assessment of bleeding risk prior to surgery or invasive procedures: British Committee for Standards in Haematology, Br J Haematol, 140(5):496-504.
- 5. Vries MJ, van der Meijden PE, Kuiper GJ, et al (2018)**, Preoperative screening for bleeding disorders: A comprehensive laboratory assessment of clinical practice, Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis, 2(4):767-777.

SUMMARY**BLEEDING AFTER SURGERY AND APPLICATION BLEEDING ASSESSMENT TOOL TO SURGICAL PATIENTS IN HANOI MEDICINE UNIVERSITY HOSPITAL****Nguyen Thi Minh Khue¹, Nguyen Quang Tung¹****¹Ha Noi Medical University**

Objectives: Describe bleeding characteristics and evaluate the correlation between surgical-related bleeding and bleeding risk according by ISTH – BATs. **Methods:** Research was conducted on 340 surgical patients at Hanoi Medical University Hospital. **Results:** The percentage of patients with bleeding during and after surgery is 13.5%. The proportion of patients at risk of bleeding according to BATs is 1.8%. There was a correlation between bleeding risk according to ISTH - BAT with bleeding status during and after surgery with $p = 0.004$. The positive predictive value of ISTH - BATs is 66.7%, negative predictive value is 87.4%, the sensitivity is 8.7%, the specificity is 99.3%. **Conclusions:** Surgery has a high risk of abnormal bleeding. Bleeding history has important implications in assessing bleeding risk during and after surgery. The ISTH - BATs is a bleeding history assessment tool that can be used to assess the risk of bleeding before surgery.

Keywords: Bleeding risk before surgery, preoperative tests, history bleeding, ISTH - BATs.

TIÊU HAO NĂNG LƯỢNG Ở NGƯỜI KHỎE MẠNH KHI THỰC HIỆN NGHIỆM PHÁP GẮNG SỨC TIM MẠCH HÔ HẤP

Đỗ Thanh Tuấn^{1,*}, Nguyễn Đức Sơn³, Lê Đình Tùng^{1,2,**}

TÓM TẮT

Mục tiêu: Xác định tiêu hao năng lượng (THNL) khi thực hiện nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp (CPET) trên người khỏe mạnh 20-60 tuổi và xác định mối liên quan giữa thời gian vận động và công suất vận động với THNL khi thực hiện CPET ở nhóm đối tượng trên. **Phương pháp:** Nghiên cứu tiến hành trên 32 đối tượng khỏe mạnh. Các đối tượng thực hiện CPET và phân tích các chỉ số THNL, thời gian vận động và công suất vận động trong giai đoạn nghỉ ngơi, giai đoạn khởi động, giai đoạn gắng sức và giai đoạn hồi phục trên hệ thống máy đo tim mạch hô hấp gắng sức CPEX-1 (Inter Reha, Nhật Bản). **Kết quả và kết luận:** THNL chung cho hai giới khi thực hiện CPET trong giai đoạn nghỉ ngơi là $1,03 \pm 0,30$ MET, giai đoạn khởi động là $1,97 \pm 0,74$ MET, giai đoạn gắng sức là $3,48 \pm 1,78$ MET, giai đoạn hồi phục là $4,57 \pm 2,26$ MET và THNL tối đa là $4,75 \pm 2,17$ MET. Thời gian vận động và THNL trong giai đoạn khởi động tương quan tuyến tính nghịch biến; công suất vận động và THNL trong giai đoạn nghỉ ngơi, gắng sức và hồi phục tương quan tuyến tính đồng biến có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%.

Từ khóa: Tiêu hao năng lượng, nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp (Cardiopulmonary Exercise Test -CPET) là một kỹ thuật đánh giá đồng thời chức năng của hệ tim mạch và hô hấp trong khi hoạt động thể lực gắng sức [1]. Hiện nay, CPET được ứng dụng đánh

giá chức năng hệ tim mạch và hô hấp khi hoạt động thể lực, phục vụ công tác chẩn đoán, điều trị và phục hồi chức năng cho bệnh nhân mắc các bệnh lý tim mạch, hô hấp. Dựa vào kết quả đo THNL khi thực hiện CPET, bác sĩ lâm sàng kê đơn hoạt động thể lực, hướng dẫn tập luyện và đưa ra lời khuyên về chế độ dinh dưỡng phù hợp cho từng người bệnh, hỗ trợ công tác điều trị, phục hồi chức năng và phòng bệnh [1, 2].

Trên thế giới, CPET được Karlman Wasserman và cộng sự phát triển dựa trên cơ sở nghiệm

¹Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Đại học Y Hà Nội

³Viện sức khỏe nghề nghiệp và môi trường

*Tác giả thực hiện chính: **Đỗ Thanh Tuấn**

**Tác giả chịu trách nhiệm khoa học:

Lê Đình Tùng

Email: tung@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 23/5/2021

Ngày phản biện: 27/5/2021

Ngày chấp nhận đăng: 15/6/2021

pháp điện tâm đồ gắng sức từ những năm 1960 và đến nay, nghiệm pháp này được sử dụng rộng rãi trong các lĩnh vực chẩn đoán, điều trị, phục hồi chức năng và kê đơn hoạt động thể lực [2]. Tại Việt Nam, trong lĩnh vực y học thể dục thể thao, CPET đã được sử dụng để đánh giá thể tích tiêu thụ oxy tối đa của nữ tuyển thủ điền kinh Quốc gia năm 2014 khi gắng sức tối đa [2, 3]. Trong lĩnh vực khám, chữa bệnh, Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, CPET được ứng dụng trong đánh giá chức năng và phục vụ chẩn đoán bệnh lý tim mạch (suy tim, sau phẫu thuật tim mạch và hô hấp (bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh phổi mô kẽ, bệnh mạch máu phổi, xơ phổi, hay trước khi thực hiện các phẫu thuật lớn ở vùng bụng hay lồng ngực) trên người bệnh từ tháng 6 năm 2019 [4]. Hơn nữa, tiến hành kê đơn hoạt động thể lực (hoạt động thể lực là bất kể các hoạt động nào của cơ thể gây THNL như đi bộ, chạy bộ, bơi lội, làm việc nhà, làm vườn, ...) được căn cứ vào giá trị THNL; đặc điểm sinh lý tim mạch thần kinh khi hoạt động thể lực và bệnh lý gây hạn chế hoặc ảnh hưởng tiêu cực tới sức khỏe khi hoạt động thể lực của từng đối tượng khi thực hiện CPET. Qua đó, người bệnh/người khỏe mạnh được kê đơn các bài tập phù hợp với cường độ vận động, thời gian vận động và tần suất vận động.

Đồng thời, mỗi đối tượng sẽ nhận được lời khuyên và hướng dẫn sử dụng chế độ dinh dưỡng để nạp đủ năng lượng, về mặt dinh dưỡng lâm sàng, gồm năng lượng cung cấp cho chuyển hóa cơ sở và hoạt động thể lực. Năng lượng cho chuyển hóa cơ sở được tính toán dựa trên công thức Harris – Benedict và CPET là công cụ để tính toán THNL khi hoạt động thể lực [1]. Vì vậy, để xác định THNL và ảnh hưởng của một số yếu tố đến THNL khi thực hiện CPET trong đó cường độ (thời gian và công suất) hoạt động thể lực và mức độ thành thạo động tác vận động có liên quan tới THNL [5], chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài với mục tiêu: (1) Xác định tiêu hao năng lượng khi thực hiện nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp ở người khỏe mạnh 20 đến 60 tuổi (2) Xác định mối liên quan giữa thời gian vận động và công suất vận động với tiêu hao năng lượng khi thực hiện nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp ở nhóm đối tượng trên.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn

Nghiên cứu lựa chọn các đối tượng thỏa mãn một trong 2 tiêu chuẩn:

- Các sinh viên, học viên Trường Đại học Y Hà Nội tình nguyện tham gia nghiên cứu.

- Người tình nguyện tham gia nghiên cứu và đạt phân loại sức khỏe loại II theo quy định 1613/BYT-QĐ khi đến khám sức khỏe định kỳ hằng năm tại Trung tâm Đào tạo & Chăm sóc sức khỏe cộng đồng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Loại trừ các đối tượng mắc các bệnh lý cấp tính và mạn tính thuộc hệ tim mạch, hô hấp, thần kinh - cơ như các bệnh lý tăng huyết áp, suy tim, đái tháo đường, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, hen phế quản, ...

2.1.3. Cỡ mẫu

Cỡ mẫu nghiên cứu được tính theo công thức:

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{s^2}{(\bar{x}, \varepsilon)^2}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu nghiên cứu, $Z_{1-\alpha/2}$ là hệ số tin cậy ở mức xác suất 95% ($Z_{1-\alpha/2} = 1,96$); s là độ lệch chuẩn ước tính từ nghiên cứu trước; $\bar{x}$ là giá trị trung bình từ nghiên cứu trước, ε là sai lệch tương đối giữa tham số mẫu và quần thể.

Với $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$; chọn mức sai lệch tương đối giữa tham số mẫu và quần thể là $\varepsilon = 0,04$; từ nghiên cứu trước đây công bố, THNL khi hoạt động thể lực ở người khỏe mạnh (tuổi trung bình $27,6 \pm 4,59$ tuổi, chiều cao trung bình $1,78 \pm 0,07$ m và cân nặng $80,1 \pm 7,85$ kg) là $\bar{x} \pm s = 5,5 \pm 0,49$ (MET) [6]. Từ đó, cỡ mẫu ước tính ít nhất bằng $n = 20$ đối tượng. Thực tế chúng tôi

tiến hành nghiên cứu trên 32 đối tượng.

2.1.4. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

- Thời gian nghiên cứu: 31/10/2020 – 30/4/2021
- Địa điểm: Bộ môn Sinh lý học, Trường Đại học Y Hà Nội và Trung tâm Đào tạo & Chăm sóc sức khỏe cộng đồng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang

2.2.2. Phương pháp chọn mẫu

Phương pháp chọn mẫu thuận tiện. Lựa chọn nhóm đối tượng gồm sinh viên, học viên Trường Đại học Y Hà Nội và đối tượng khám sức khỏe định kỳ gặp tại Trung tâm Đào tạo và Chăm sóc sức khỏe cộng đồng, Bệnh viện Đại học Y Hà Nội thỏa mãn tiêu chuẩn lựa chọn và không vi phạm tiêu chuẩn loại trừ.

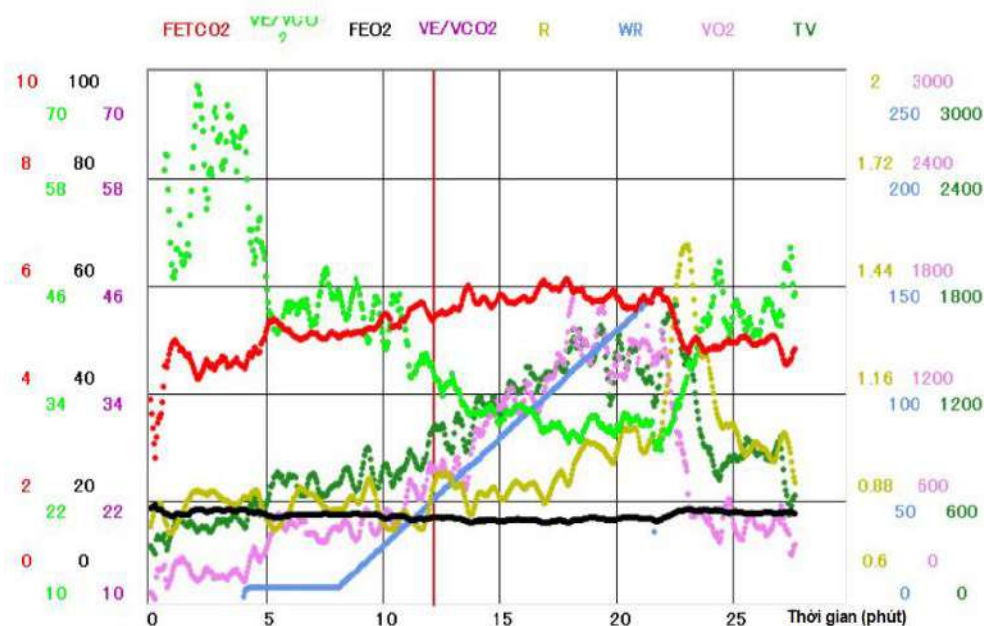
2.2.3. Công cụ nghiên cứu

2.2.3.1. Hệ thống máy thực hiện CPET

Nghiên cứu sử dụng hệ thống máy đo tim mạch hô hấp gắng sức CPEX-1 (Inter Reha, Nhật Bản) như mô tả trong Hình 1. Hệ thống gồm một xe đạp lực kế và một màn hình hiển thị kết quả kết nối máy chính. Máy chính gồm một cảm biến để đo nồng độ và áp suất trong khí thở ra nhằm chuẩn hoá lượng khí bao gồm thể tích khí lưu thông và tiêu thụ khí oxy (VO_2) và đào thải khí CO_2 (VCO_2) để thực

hiện một phép đo lường tự động. Nồng độ khí oxy được đo bằng cảm biến O_2 zirconium, trong khi đó nồng độ khí CO_2 được đo bằng cảm biến siêu âm. Xe đạp lực kế có nhiệm vụ tạo tải

gắng sức cho đối tượng khi thực hiện nghiệm pháp CPET. Màn hình hiển thị kết quả sẽ hiển thị các thông số phân tích và đo lường từ máy chính và xe đạp lực kế [7].



Hình 1. Hệ thống CPET và kết quả thực hiện CPET

2.2.4. Phương pháp thu thập và xử lý số liệu

2.2.4.1. Chuẩn bị đối tượng và trang thiết bị nghiên cứu

Kiểm tra lại thông tin cá nhân của đối tượng nghiên cứu, giải thích để đối tượng hợp tác trong quá trình thực hiện nghiệm pháp. Phòng thực hiện kĩ thuật thoáng mát, sạch sẽ có diện tích 20 m², nhiệt độ phòng 25°C, độ ẩm 50%.

2.2.4.2. Thực hiện CPET bằng hệ thống máy CPEX1

Các đối tượng thực hiện CPET trong các giai đoạn nghỉ ngơi, khởi động, gắng sức và hồi phục. Hệ thống sẽ ghi lại các chỉ số tim mạch (tần số tim, huyết áp), hô hấp (tần số hô hấp, thể tích khí lưu thông, thể tích khí O₂, CO₂ cuối kì thở ra), THNL của đối tượng trong từng giai đoạn và các yếu tố liên quan đến vận động (thời gian vận động, công suất vận động). Trong đó, THNL bằng thương số giữa thể tích CO₂ thải ra chia cho thể tích oxy tiêu thụ trong một khoảng thời gian nhân với giá trị nhiệt của oxy trong điều kiện cơ sở là 4,825 kcal/lít oxy, tính bằng MET, (1 MET tương đương 1kcal/kg/giờ hoặc 4,184 kJ/kg/giờ); thời gian vận động là thời gian đối tượng thực hiện giai đoạn gắng sức, tính bằng giây; công suất vận động là mức tải tối đa của xe đạp lực kế mà đối tượng thực hiện được hoạt động đạp xe, đơn vị w (watts).

– **Giai đoạn 1 (giai đoạn nghỉ ngơi):** đối tượng ngồi trên xe

đạp lực kế trong tư thế tĩnh, không vận cơ. Thời gian kéo dài 4 phút.

– **Giai đoạn 2 (giai đoạn khởi động):** đối tượng ngồi trên xe đạp lực kế và thực hiện đạp xe với tốc độ duy trì từ 50-60 vòng/phút, mức tải của xe đạp bằng 0 w, thực hiện trong thời gian 4 phút.

– **Giai đoạn 3 (giai đoạn gắng sức):** đối tượng ngồi trên xe đạp lực kế và đạp xe với tốc độ duy trì từ 50-60 vòng/phút, mức tải xe đạp tăng dần theo cấp số cộng theo từng phút với liều 10 w/phút, đạp xe đến khi đạt tiêu chuẩn kết thúc nghiệm pháp gồm ít nhất một trong các tiêu chuẩn sau:

- + Các tiêu chuẩn tương đối: Đạt 85% tần số tim lý thuyết tối đa theo công thức Astrand (tần số tim lý thuyết tối đa (chu kì/phút) = 220 – tuổi); đối tượng mệt, không hợp tác thực hiện nghiệm pháp
- + Các tiêu chuẩn tuyệt đối: Có cơn đau ngực nghi ngờ nhồi máu cơ tim; giảm đột ngột huyết áp tối đa ≥ 20 mmHg từ giá trị HA cao nhất trong lúc thực hiện CPET hoặc huyết áp $> 250/120$ mmHg; SpO₂ $\leq 80\%$ kèm triệu chứng và dấu hiệu giảm tưới máu gồm tím tái, nhợt hoặc da lạnh, ẩm; khó thở nặng hoặc khó thở bất thường; các dấu hiệu của hệ thần kinh trung ương: hoa mắt, chóng mặt, choáng váng;

lỗi kĩ thuật của hệ thống thiết bị đo; đối tượng yêu cầu kết thúc thực hiện nghiệm pháp.

- **Giai đoạn 4 (giai đoạn hồi phục):** đối tượng ngồi trên xe đạp lực kế và thực hiện đạp xe với tốc độ từ 50 - 60 vòng/phút trong giai đoạn 3 giảm dần và duy trì 10 - 20 vòng/phút, mức tải 0 w, thực hiện trong thời gian 3 phút.
- Tổng thời gian thu thập số liệu 45-60 phút/đối tượng nghiên cứu.

2.2.4.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được xử lý trên máy tính bằng phần mềm thống kê IBM SPSS 22.0. Biến định lượng được coi là phân phối chuẩn khi mức ý nghĩa (Sig.) lớn hơn 0,05 khi dùng kiểm định Kolmogorov-Smirnov. Sử dụng

Student T test khi so sánh hai giá trị trung bình đối với biến phân bố chuẩn. Với $p < 0,05$ thể hiện sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%. Sử dụng hệ số tương quan Pearson, Spearman khi xét mối tương quan giữa hai biến phân bố chuẩn và không chuẩn.

2.3. Đạo đức nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu tự nguyện đồng ý tham gia, được giải thích mục đích, điều kiện đảm bảo an toàn sức khỏe trong quá trình thực hiện CPET. Thông tin về đối tượng được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm tuổi và giới của đối tượng nghiên cứu

Đặc điểm	Giới		p	Chung (n = 32)
	Nam (n = 17)	Nữ (n = 15)		
Tuổi	30,35 ± 2,25	31,47 ± 2,10	0,722	30,88 ± 8,63
Cân nặng (kg)	67,71 ± 2,28	56,33 ± 1,50	0,000	62,38 ± 9,70
Chiều cao (cm)	170,47 ± 1,74	158,50 ± 1,41	0,000	164,86 ± 8,77
BMI (kg/m²)	23,29 ± 0,67	22,43 ± 0,54	0,328	22,89 ± 2,46

Kết quả thể hiện ở Bảng 3.1 cho thấy tuổi trung bình và BMI của hai giới nam và nữ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy

95% ($p > 0,05$). Chiều cao trung bình và cân nặng trung bình của nam lớn hơn nữ có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% ($p < 0,05$).

3.2. Tiêu hao năng lượng khi thực hiện CPET

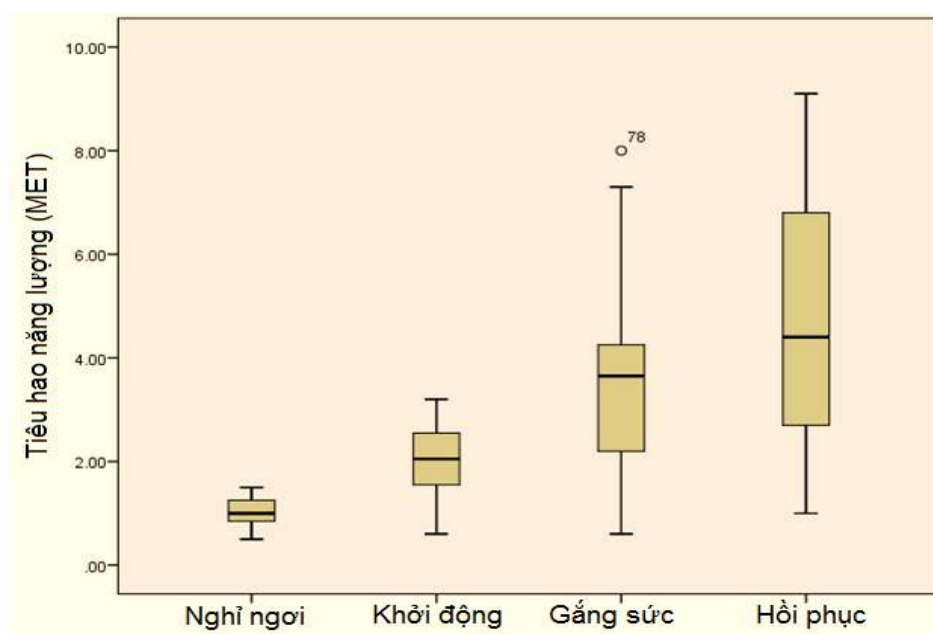
3.2.1. Tiêu hao năng lượng trong các giai đoạn khi thực hiện CPET

Bảng 3.2. Tiêu hao năng lượng trong các giai đoạn khi thực hiện CPET

Giai đoạn	Tiêu hao năng lượng (MET)			
	Nam (n = 17)	Nữ (n = 15)	p	Chung (n = 32)
Nghỉ ngơi	1,04 ± 0,34	1,03 ± 0,24	0,936	1,03 ± 0,30
Khởi động	1,82 ± 0,78	2,13 ± 0,69	0,257	1,97 ± 0,74
Gắng sức	3,71 ± 2,05	3,21 ± 1,44	0,432	3,48 ± 1,78
Hồi phục	4,70 ± 2,21	4,43 ± 2,39	0,745	4,57 ± 2,26
Tối đa	4,67 ± 2,24	4,83 ± 2,17	0,836	4,75 ± 2,17

Kết quả thể hiện ở Bảng 2 và Hình 3.1 cho thấy khi thực hiện nghiệp pháp gắng sức tim mạch hô hấp, tiêu hao năng lượng trung bình trong giai đoạn nghỉ

ngơi, khởi động, gắng sức, hồi phục và tiêu hao năng lượng tối đa ở hai giới nam và nữ khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%.



Hình 3.1. THNL khi thực hiện CPET

3.2.2. Liên quan thời gian vận động và công suất vận động với tiêu hao năng lượng khi thực hiện nghiệm pháp gắng sức tim mạch hô hấp

Thời gian vận động trong giai đoạn gắng sức khi thực hiện CPET của nam lớn hơn nữ có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% (Bảng 3.3).

Bảng 3.3. Thời gian vận động khi thực hiện CPET

Đặc điểm	Giới			Chung (n = 32)
	Nam (n = 17)	Nữ (n = 15)	p	
Thời gian vận động (giây)	566,41 ± 30,10	383,87 ± 26,39	0,000	480,84 ± 145,72

Bảng 3.4. Liên quan giữa thời gian vận động với THNL khi thực hiện CPET

Tiêu hao năng lượng	Thời gian vận động	
	Hệ số tương quan	p
Giai đoạn nghỉ ngơi	- 0,126	0,494
Giai đoạn khởi động	- 0,417	0,018
Giai đoạn gắng sức	- 0,028	0,878
Giai đoạn hồi phục	- 0,143	0,435

Bảng 3.4 cho thấy thời gian vận động và THNL trong giai đoạn khởi động tương quan tuyến tính nghịch biến có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% với hệ số tương quan Pearson $r = - 0,417$.

Bảng 3.5. Công suất vận động trong giai đoạn gắng sức khi thực hiện CPET

Đặc điểm	Giới			Chung (n = 32)
	Nam (n = 17)	Nữ (n = 15)	p	
Công suất vận động (W)	72,18 ± 39,30	55,47 ± 23,52	0,162	64,34 ± 33,45

Bảng 3.5 cho thấy công suất vận động trong giai đoạn gắng sức ở hai giới nam và nữ có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% ($p > 0,05$).

Bảng 3.6. Liên quan giữa công suất vận động với THNL khi thực hiện CPET

Tiêu hao năng lượng	Công suất vận động	
	Hệ số tương quan	p
Giai đoạn nghỉ ngơi	0,372	0,036
Giai đoạn khởi động	0,325	0,070
Giai đoạn gắng sức	0,781	0,000
Giai đoạn hồi phục	0,542	0,001

Công suất vận động và THNL trong giai đoạn nghỉ ngơi, gắng sức và hồi phục tương quan tuyến tính đồng biến có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% (Bảng 3.6). Công suất vận động và tiêu hao năng lượng trong giai đoạn khởi động tương quan tuyến tính đồng biến không có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%.

4. BÀN LUẬN

4.1. Tiêu hao năng lượng khi thực hiện CPET

Trong giai đoạn nghỉ ngơi, THNL trung bình của nhóm đối tượng trong nghiên cứu của chúng tôi là $1,03 \pm 0,30$ MET. Ở hai giới nam và nữ, THNL trung bình khác biệt không có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95% ($p > 0,05$). Kết quả này tương đồng với kết quả nghiên cứu của McMurray R.G. và cộng sự [8] khi tiến hành phân tích tổng quan hệ thống đánh giá về THNL lúc nghỉ ở người trưởng thành trên 397 công trình nghiên cứu từ năm 1980 đến năm 2011. Giá trị THNL lúc nghỉ trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng so với giá trị trung bình trong nghiên cứu của McMurray R.G. và

cộng sự là 1,007 kcal/kg/giờ (với khoảng tin cậy 95% = 0,952 – 1,062) [8] có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%. Do vậy, THNL lúc nghỉ tính trên 1 kg thể trọng trong 1 giờ là tương đồng giữa các thể, không có sự khác biệt giữa các chủng tộc. Yếu tố quyết định THNL chính là thể tích oxy tiêu thụ. Thể tích oxy tiêu thụ, từ 0,25 lít/phút tại thời điểm nghỉ ngơi tăng đến 1 lít/phút khi đi bộ thông thả. Khi gắng sức mạnh, mức tiêu thụ oxy tăng đến 2–7 lít/phút, cao gấp 10–25 lần so với lúc nghỉ ngơi. Gắng sức làm tăng nhịp tim và cung lượng tim, tăng trao đổi chất, tăng huyết áp, tăng thân nhiệt, tăng tưới máu cơ tim và các cơ khác, tạo ra nhiều acid lactic và tăng tiết các hormon như adrenalin, hormon tăng trưởng và cortisol. Do đó, tiêu hao năng lượng tăng.

4.2. Liên quan thời gian vận động và công suất vận động với THNL khi thực hiện CPET

Thời gian vận động trong giai đoạn gắng sức khi thực hiện CPET của nam ($566,41 \pm 30,10$ giây) lớn hơn nữ ($383,87 \pm 26,39$ giây) có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy

95% ($p < 0,05$). Thời gian vận động trong giai đoạn gắng sức ở cả nam và nữ trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn trong nghiên cứu của Itoh và cộng sự (2012) [9]. Ngoài ra, các tác giả này cũng chỉ ra rằng thời gian vận động gắng sức có mối tương quan tuyến tính với độ tuổi ở cả hai giới nam và nữ. Giá trị thời gian vận động gắng sức đạt lớn nhất ở nhóm đối tượng từ 20 đến 29 tuổi [9].

Công suất vận động trong giai đoạn gắng sức của chúng tôi ở hai giới nam ($72,18 \pm 39,30$ w) và nữ ($55,47 \pm 23,52$ w) và chung cho hai giới là $64,34 \pm 33,45$ w. Công suất vận động trong giai đoạn gắng sức ở hai giới nam và nữ trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của Hansen và cộng sự (1988). Sự khác biệt này có thể do trong nghiên cứu này, chúng tôi tăng tải với liều 10 w/phút khuyến cáo sử dụng rộng rãi cho người châu Á và không phải là vận động viên thể dục thể thao chuyên nghiệp. Trong khi Hansen và cộng sự nghiên cứu trên quần thể người châu Âu có chiều cao, cân nặng lớn hơn và rèn luyện hoạt động thể lực thường xuyên hơn. Cũng theo Hansen và cộng sự (1988), khi sử dụng bài tập tăng tải 15 w/phút trong giai đoạn gắng sức thì công suất vận động tối đa đạt được là 245 ± 11 (w) lớn hơn có ý nghĩa thống kê với kết quả trong nghiên cứu này và càng tăng mức tải lên cao đến 30 w/phút, 60 w/phút thì công suất vận động càng tăng và

thời gian vận động trong giai đoạn gắng sức càng giảm [10]. Do vậy, để đối tượng đạt thời gian vận động tối đa thì cần lựa chọn mức tăng tải phù hợp khoảng 10-15 w/phút. Như trong nghiên cứu này chúng tôi tăng mức tải với liều 10 w/phút. Tuy nhiên cũng cần quan tâm tới thể trạng của đối tượng để lựa chọn mức tăng tải tối ưu nhất.

Công suất vận động và THNL trong giai đoạn nghỉ ngơi, gắng sức và hồi phục tương quan tuyến tính đồng biến có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%, kết quả này tương đồng với Hansen và cộng sự (1988). Ở bất kì mức tăng tải nào (15 w/phút, 30 w/phút và 60 w/phút), lượng oxy cần cung cấp cho giải phóng năng lượng từ sự oxyhoá các chất tăng tuyến tính với công suất vận động. Lượng oxy tiêu thụ càng cao thì năng lượng tiêu hao càng lớn [10]. Năng lượng tiêu thụ có mối tương quan tuyến tính với cường độ vận động.

5. KẾT LUẬN

Từ các kết quả của nghiên cứu, chúng tôi rút ra các kết luận sau:

- THNL chung cho hai giới khi thực hiện CPET trong giai đoạn nghỉ ngơi là $1,03 \pm 0,30$ MET, giai đoạn khởi động là $1,97 \pm 0,74$ MET, giai đoạn gắng sức là $3,48 \pm 1,78$ MET và giai đoạn hồi phục là $4,57 \pm 2,26$ MET.
- THNL tối đa chung cho hai giới khi thực hiện CPET là $4,75 \pm 2,17$ MET.

- Thời gian vận động và THNL trong giai đoạn khởi động tương quan tuyến tính nghịch biến có ý nghĩa thống kê ở khoảng tin cậy 95%.
- Công suất vận động và THNL tương quan tuyến tính đồng biến không có ý nghĩa thống kê trong giai đoạn khởi động và có ý nghĩa thống kê trong giai đoạn nghỉ ngơi, gắng sức và hồi phục ở khoảng tin cậy 95%.

6. KHUYẾN NGHỊ

- Dựa vào giá trị THNL tối đa và THNL ở các giai đoạn thực hiện CPET, bác sĩ sẽ kê đơn hoạt động thể lực (cường độ, công suất, thời gian tập luyện).
- Giá trị THNL tối đa và THNL ở các giai đoạn khi thực hiện CPET có thể làm cơ sở để tính toán nhu cầu năng lượng cho hoạt động thể lực.
- Cần tiến hành nghiên cứu trên quy mô và đối tượng rộng hơn để kết quả mang tính đại diện hơn.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin gửi lời cảm ơn tới các đối tượng đã tham gia nghiên cứu này. Chúng tôi cũng gửi lời cảm ơn tới Bộ môn Sinh lý học – Trường Đại học Y Hà Nội, các đồng nghiệp tại Trung tâm Đào tạo và Chăm sóc sức khỏe cộng đồng, Đơn vị Thăm dò Chức năng – Bệnh viện Đại học Y Hà Nội đã giúp đỡ về mặt kỹ thuật để nghiên cứu được hoàn thành.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Swedish National Institute of Public Health (2008)**, Physical activity in the prevention and treatment of disease, Swedish National Institute of Public Health, Sweden.
2. **Karlman W, James EH, Darryl YS et al (2012)**, Principles of Exercise Testing and Interpretation: Including Pathophysiology and Clinical Applications, Lippincott Williams and Wilkins, United States of America.
3. **Nguyễn Đức Dũng (2014)**, Đánh giá năng lực ưa khí của nữ tuyển thủ quốc gia điền kinh bằng nghiệm pháp gắng sức tối đa, Tạp chí Thể thao, Tổng cục Thể dục Thể thao, Bộ Văn hóa, Thể thao & Du lịch, Hà Nội.
4. **Bệnh viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh (2019)**, Đo gắng sức tim mạch hô hấp (CPET) là gì?, Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh, TPHCM.
5. **Phạm Thị Minh Đức (2011)**, Sinh lý học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
6. **Fattorini L, Rodio A (2019)**, Acoustic and visual pacesetter influence on the energy expenditure in a cycling exercise, J Sports Med Phys Fitness, 59(7), 1126-1132.
7. **Inter Reha Co. Ltd (2017)**, Hướng dẫn sử dụng hệ thống

- thăm dò hô hấp gắng sức CPEX-1, Inter Reha Co. Ltd, Japan.
8. **McMurray RG, Soares J, Caspersen CJ et al (2014)**, Examining variations of resting metabolic rate of adults: a public health perspective, *Med Sci Sports Exerc*, 46(7), 1352-1358.
 9. **Itoh H, Ajisaka R, Koike A et al (2013)**, Heart rate and blood pressure response to ramp exercise and exercise capacity in relation to age, gender, and mode of exercise in a healthy population, *Journal of Cardiology*, 61(1), 71-78.
 10. **Hansen JE, Casaburi R, Cooper DM et al (1988)**, Oxygen uptake as related to work rate increment during cycle ergometer exercise, *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 57(2), 140-145.

SUMMARY**ENERGY EXPENDITURE DURING CARDIOPULMONARY EXERCISE TESTING****Tuan Do Thanh¹, Son Nguyen Duc³, Tung Le Dinh^{1,2}****¹Hanoi Medical University****²Hanoi Medical University Hospital****³National Institute of Occupational and Environmental Health**

Objectives: To determine energy expenditure during cardiopulmonary exercise testing in healthy adults aged 20-60 years old and to determine the correlation between energy expenditure with the duration and the capacity of physical activity. **Methods:** Thirty-two healthy volunteers aged 20-60 years old (17 males and 15 females) agreed to participate in our study and performed cardiopulmonary exercise testing: resting phase (4 minutes, work rate 0 w), warming-up phase (4 minutes, work rate 0 w, 50-60 rounds per minute), exercise phase (work rate increment 10 watts per minutes, 50-60 rounds per minute) and recovery phase (3 minutes, work rate 0 w, 10-20 rounds per minute). **Results and conclusions:** Energy expenditure during CPET was $1,03 \pm 0,30$ MET, $1,97 \pm 0,74$ MET, $3,48 \pm 1,78$ MET, $4,57 \pm 2,26$ in resting, warming-up, exercise, recovery phase, respectively. Maximum energy expenditure during CPET was $4,75 \pm 2,17$ MET. Energy expenditure is negatively correlated with the duration of physical activity and positively correlated with the capacity of physical activity at 95% confidence interval.

Keywords: Energy expenditure, cardiopulmonary exercise testing.

CONTENTS

Articles	Page
Influence of media and cellular origin on growth factors secreted by mesenchymal stem cells	1
<i>Do Thi Xuan Phuong, Nguyen Thi Ngoc Ha, Mai Thi Hien, Hoang Huong Diem, Hoang Thi My Nhung, Nguyen Thanh Liem, Than Thi Trang Uyen</i>	
Evaluating the affect of dimethyl sulfoxide on the viability of H9C2 cardiomyocyte	13
<i>Vu Thi Thu, Pham Thi Bich, Ngo Thi Hai Yen</i>	
Effects of gydenphy caspules on streptozotocin-induced type 1 diabetic in swiss mouse model	24
<i>Nguyen Trinh Thach Thi, Nguyen Duy Tuan, Nguyen Thanh Ha Tuan, Do Thi Huong Lan, Nguyen Hoang Ngan</i>	
Effects of np on some hematological and immunological indices in sarcoma TG180-bearing mice	33
<i>Ha Bui Thi Thu, Hung Vu Manh, Hai Nguyen Thanh, Tuan Nguyen Thanh Ha</i>	
The hemostatic and wound healing effects of autologous fibrin adhesive in experimental animals	45
<i>Hoang Thu Soan, Vu Tien Thang, Vu Thi Kim Lien Bui Thi Kieu Van, Vu Hoang Phuong Thuy*, Nguyen Mai Huong Pham Thi Thu Huong, Nguyen Thi Thu Thai</i>	
Study on characteristics of gene mutation G6PD in patient of enzyme G6PD deficiency	55
<i>Thao Ngo Thi, Khanh Tran Van</i>	
Prevalance and characteristics of sarcopenia in older patients with stable chronic obstructive pulmonary disease	67
<i>Huong Thi Thu Nguyen, Anh Trung Nguyen, Diu Thi Vu, Huyen Thi Thanh Vu</i>	
Common causes and treatment of hypoglycemia in older patients with diabetes at Thanh Nhan hospital	76
<i>Anh Trung Nguyen, Huong Thi Thu Nguyen, Huyen Thi Thanh Vu</i>	
Efficacy of Botulinum toxin A in treatment of primary hemifacial spasm	86
<i>Linh Truong Hue, Lieu Nguyen Van</i>	
Bleeding after surgery and application bleeding assessment tool to surgical patients in Hanoi Medicine University Hospital	94
<i>Nguyen Thi Minh Khue, Nguyen Quang Tung</i>	
Energy expenditure during cardiopulmonary exercise testing	102
<i>Tuan Do Thanh, Son Nguyen Duc, Tung Le Dinh</i>	

VIETNAM JOURNAL OF PHYSIOLOGY

Editor in Chief:

Prof. Pham Thi Minh Duc MD. PhD.

Deputy Editors:

Assoc.Prof. Tran Hai Anh MD. PhD.

Assoc.Prof. Nguyen Tung Linh MD. PhD.

Editor Board:

Assoc.Prof. Tran Hai Anh MD. PhD.

Assoc.Prof. Dang Quoc Bao MD. PhD.

Assoc.Prof. Ta Tuyet Binh MD. PhD.

Prof. Pham Thi Minh Duc MD. PhD.

Assoc.Prof. Tran Minh Hau MD. PhD.

Prof. Nguyen Cong Huynh MD. PhD.

Assoc.Prof. Nguyen Trung Kien MD. PhD.

Assoc.Prof. Le Thu Lien MD. PhD.

Assoc.Prof. Nguyen Tung Linh MD. PhD.

Assoc.Prof. Nguyen Bach Ngoc MD. PhD.

Assoc.Prof. Vu Dang Nguyen MD. PhD

Prof. Le Quy Phuong MD. PhD.

Assoc.Prof. Le Dinh Tung MD. PhD.

Editorial Secretaries:

Pham Ngoc Thao MD. PhD.

Vu Thi Thu PhD.

Do Thanh Tuan MD.

Editorial Office:

First Floor, B3 Building, Hanoi Medical University

Nº1 Ton That Tung Street, Dong Da District, Hanoi City

Tel: 84-4-3852-3798. Ext: 203, 205, 207

Email: tapchi@sinhlyhoc.com.vn

Contact Addresses:

1. Pham Ngoc Thao MD. PhD.

Department of Functional Diagnosis, Military Hospital 103

Nº261 Phung Hung Street, Phuc La Commune, Ha Dong District, Hanoi City, VN

Cell phone: 0989 144 319

Email: tapchi@sinhlyhoc.com.vn

2. Vu Thi Thu PhD.

Dept. of Human Bio. and Phy., Faculty of Physiology, VNU University of Science

Nº334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan District, Hanoi City, VN

Cell phone: 0903 237 808

Email: tapchi@sinhlyhoc.com.vn