

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

TRƯỜNG TỬ TRẠCH

**ẢNH HƯỞNG CỦA BIẾN THỂ GEN CYP2C9, VKORC1 VÀ
YẾU TỐ LÂM SÀNG TRÊN LIỀU ACENOCOUMAROL**

Chuyên ngành: Nội tim mạch

Mã số: 62720141

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

Thành phố Hồ Chí Minh – Năm 2021

Công trình được hoàn thành tại:

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Châu Ngọc Hoa (HDC)

2. PGS.TS. Hoàng Anh Vũ (HDP)

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm luận án cấp Trường, họp tại ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH vào hồigiờ.....phút, ngày.....tháng.....năm

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp TP.HCM
- Thư viện Đại học Y Dược TP.HCM

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Lý do và tính cần thiết của nghiên cứu

Liều lượng thuốc chống đông kháng vitamin K, trong đó đặc trưng là hai thuốc acenocoumarol và warfarin thay đổi giữa các cá thể, việc chỉnh liều để INR đạt ngưỡng điều trị gặp phải nhiều khó khăn. Nhiều yếu tố tác động đến sự biến đổi này ngoài yếu tố lâm sàng: tuổi, tương tác thuốc-thuốc, nhiễm trùng, tiêu thụ vitamin K không giống nhau, suy tim, suy giảm chức năng gan, thận. Gần đây còn có yếu tố di truyền được xác định đóng một vai trò rất quan trọng và thực tế có nhiều công trình nghiên cứu đã chứng minh.

Mối liên quan của *CYP2C9**2 hoặc *CYP2C9**3 với nhu cầu giảm liều chống đông, để tránh nguy cơ chảy máu nặng, chảy máu đe dọa tính mạng. Tương tự biến thể đa hình của gen *VKORC1* và sự cần thiết giảm liều acenocoumarol đã được làm rõ trong các nghiên cứu.

Tại Việt Nam, dữ liệu nghiên cứu biến thể của *CYP2C9**2, *3 và *VKORC1-1639G>A* đối với liều acenocoumarol chưa được nhiều. Do đó, chúng tôi tiến hành nghiên cứu “Ảnh hưởng của biến thể gen *CYP2C9*, *VKORC1* và yếu tố lâm sàng trên liều acenocoumarol” nhằm xác định sự hiện diện của biến thể *CYP2C9**2, *3 và *VKORC1-1639G>A* ở đối tượng dùng acenocoumarol, đồng thời chứng minh vai trò của biến thể này kết hợp đặc điểm lâm sàng có ảnh hưởng đến liều lượng acenocoumarol.

Vì vậy nghiên cứu này là quan trọng, cần thiết, có tính thời sự, có ý nghĩa khoa học và thực tiễn.

2. Mục tiêu nghiên cứu

2.1. Phân loại kiểu gen *CYP2C9*, *VKORC1* trong dân số nghiên cứu.

2.2. Xác định ảnh hưởng của một số yếu tố lâm sàng, gen *CYP2C9* và *VKORC1* lên liều acenocoumarol; xây dựng mô hình tiên đoán liều trung bình acenocoumarol dựa vào một số yếu tố lâm sàng, kiểu gen *CYP2C9* và *VKORC1*.

3. Những đóng góp mới của luận án

Nghiên cứu đã góp phần phân loại tần suất kiểu gen của *CYP2C9*, *VKORC1* và tổ hợp 2 gen này; đóng góp vào cơ sở dữ liệu di truyền ứng dụng; xác định một số yếu tố lâm sàng, gen có liên quan liều acenocoumarol, xây dựng mô hình tiên đoán liều trung bình acenocoumarol theo một số yếu tố lâm sàng và gen.

4. Bố cục luận án

Luận án được viết 123 trang bao gồm: phần mở đầu và mục tiêu nghiên cứu 3 trang, tổng quan tài liệu 37 trang, đối tượng và phương pháp nghiên cứu 19 trang, kết quả nghiên cứu 25 trang, bàn luận 36 trang, kết luận và kiến nghị 3 trang. Luận án có 52 bảng, 7 biểu đồ, 1 hình, 6 sơ đồ, 144 tài tham khảo (5 tiếng Việt và 139 tiếng Anh).

Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Cơ chế tác dụng thuốc chống đông kháng vitamin K.

Bình thường các yếu tố II, VII, IX, X ở dạng tiền chất. Vitamin K epoxide reductase chuyển vitamin K₂, 3- epoxide thành vitamin K hydroquinol với vai trò đồng yếu tố cần thiết chuyển các tiền chất yếu tố đông máu II, VII, IX, X thành các chất có hoạt tính. Dẫn xuất coumarin có cấu trúc gần giống vitamin K, ức chế cạnh tranh enzyme epoxid-reductase (*VKORC1*). Biến thể gen *VKORC1* làm thay đổi tính nhạy cảm của acenocoumarol. Tại gan thuốc kháng

vitamin K chuyển hóa từ dạng hoạt động sang dạng không hoạt động bởi enzyme được tổng hợp từ gen *CYP2C9*, tùy cá thể mang kiểu alen của gen *CYP2C9* mà tổng hợp enzyme có mức độ chuyển hóa thuốc nhanh chậm khác nhau.

1.2. Các yếu tố ảnh hưởng đến liều thuốc kháng vitamin K

Có nhiều yếu tố ảnh hưởng liều VKA:

Yếu tố không gen: dinh dưỡng, tuân thủ điều trị, tương tác thuốc, hút thuốc, uống rượu, chức năng gan, thận, tim, tình trạng tăng chuyển hóa.

Yếu tố gen: Biến thể đa hình ở 2 gen *CYP2C9* và *VKORC1*, ước tính phần lớn thay đổi giữa các cá thể nhu cầu liều lượng VKA.

1.3. Tình hình nghiên cứu các biến thể *CYP2C9* và *VKORC1* trong dự đoán liều acenocoumarol

Cho đến nay có nhiều yếu tố được xác định có ảnh hưởng đến liều trung bình thuốc kháng đông kháng vitamin ở từng cá thể trong đó có yếu tố lâm sàng (tuổi, cân nặng, chỉ số khối cơ thể, chế độ ăn, tương tác thuốc) và gần đây đặc biệt quan tâm yếu tố gen: *CYP2C9**2,*3, *VKORC1*-1639G>A, *VKORC1*-1173C>T, *CYP4F2*. Không có một yếu tố nào đặc trưng cho việc xác định liều chính xác thuốc kháng đông kháng vitamin K ở mỗi cá thể, việc kết hợp nhiều yếu tố làm tăng giá trị tiên đoán. Yếu tố gen là một hứa hẹn trong tương lai góp phần quan trọng trong việc xác định liều lượng thuốc kháng đông kháng vitamin K.

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu: Cắt ngang mô tả kết hợp theo dõi dọc

2.2. Đối tượng nghiên cứu:

2.2.1. Đối tượng chọn bệnh

2.2.1.1. Đối tượng rung nhĩ

2.2.1.2. Đối tượng sửa hoặc thay van tim nhân tạo

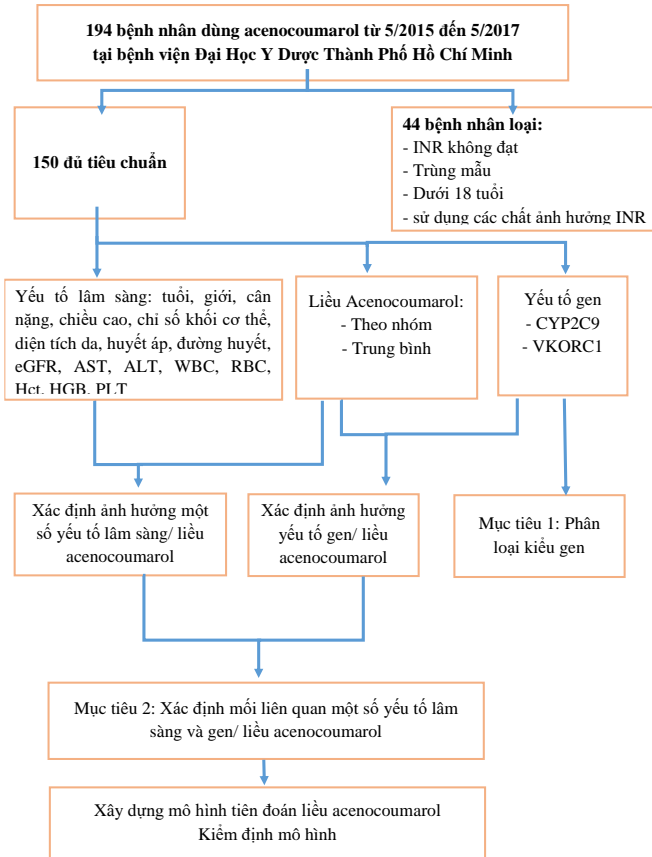
2.2.2. Đối tượng loại trừ: chống chỉ định của thuốc acenocoumarol.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu: bệnh nhân được chỉ định điều trị bằng thuốc acenocoumarol trong giai đoạn từ tháng 05/ 2015 - 05/ 2017 tại khoa nội Tim mạch và phòng khám Phẫu thuật Tim bệnh viện Đại Học Y Dược Thành Phố Hồ Chí Minh.

2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu: 150 bệnh nhân.

2.5. Xác định các biến số độc lập và phụ thuộc

2.6. Quy trình nghiên cứu



2.7. Kỹ thuật giải trình tự gen

Tách chiết DNA.



Thiết kế mồi cho PCR.



Thiết lập điều kiện.



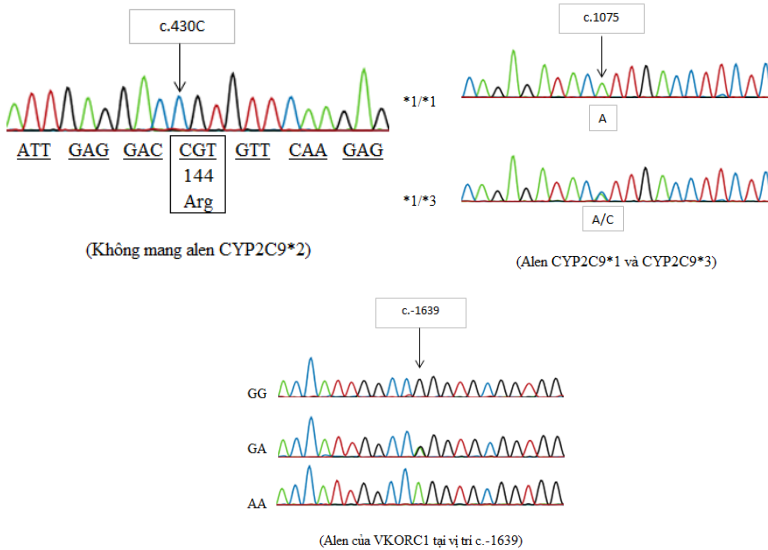
Kiểm tra sản phẩm PCR bằng điện di.



Tinh sạch sản phẩm PCR.



Thực hiện giải trình tự DNA



2.8. Phương pháp phân tích dữ liệu: bằng phần mềm SPSS 20.0.

Giá trị $P < 0,05$ được xem là có ý nghĩa thống kê.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu

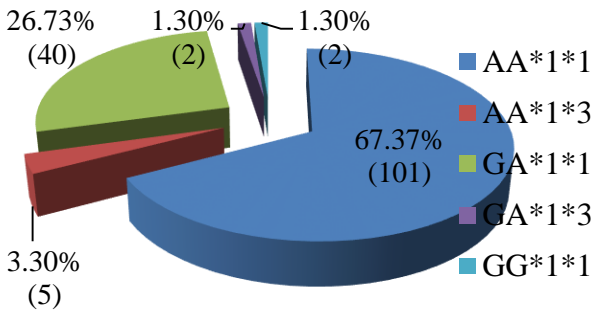
Đặc điểm lâm sàng mẫu nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm lâm sàng dân số nghiên cứu

Đặc điểm chung	Dân số nghiên cứu (n=150)	Nam (n=70)	Nữ (n=80)	p
Tuổi trung bình (năm)	49,4 ± 14,2	49,0 ± 14,5	49,7 ± 14,0	0,746
Cân nặng trung bình (kg)	57,5 ± 10,1	61,3 ± 9,3	54,1 ± 9,5	< 0,001
Chiều cao trung bình (cm)	159,2 ± 8,1	165,1 ± 6,8	154,1 ± 5,2	< 0,001
Chỉ số khối cơ thể (kg/m ²)	22,6 ± 3,4	22,5 ± 2,9	22,8 ± 3,7	0,585
Diện tích bề mặt cơ thể (m ²)	1,59 ± 0,17	1,67 ± 0,15	1,52 ± 0,14	< 0,001
Huyết áp tâm thu trung bình (mmHg)	124,5 ± 15,7	126,2 ± 15,6	123,1 ± 15,7	0,229
Huyết áp tâm trương trung bình (mmHg)	74,6 ± 11,1	76,1 ± 11,4	73,3 ± 10,7	0,119

3.2. Phân loại kiểu gen *CYP2C9*, *VKORC1*/ dân số nghiên cứu

3.2.1. Phân loại kiểu gen tổ hợp *CYP2C9* và *VKORC1*.



Biểu đồ 3.4. Tần suất kiểu gen tổ hợp CYP2C9 và VKORC1

3.3. Xác định ảnh hưởng của một số yếu tố lâm sàng; gen CYP2C9 và VKORC1 lên liều acenocoumarol; xây dựng mô hình tiên đoán liều acenocoumarol dựa vào một số yếu tố lâm sàng, kiểu gen CYP2C9 và VKORC1

3.3.1. Xác định ảnh hưởng của yếu tố lâm sàng/ liều acenocoumarol

3.3.1.1. Mối liên quan nhóm tuổi với liều acenocoumarol

Bảng 3.4. Mối liên quan nhóm tuổi với liều acenocoumarol

		Nhóm liều acenocoumarol (n=150)			P
		≤ 7 (mg/ tuần) (n = 34)	7 < Liều ≤ 14 (mg/ tuần) (n = 72)	> 14 (mg/ tuần) (n = 44)	
		n (%)	n (%)	n (%)	
Nhóm tuổi (n=150)	≤ 64 (n=130)	21 (16,2)	65 (50,0)	44 (33,8)	<0,001*
	65 – 74 (n=14)	8 (57,1)	6 (42,9)	0 (00,0)	
	≥ 75 (n=6)	5 (83,3)	1 (16,7)	0 (00,0)	

Nhóm tuổi liên quan nghịch với nhóm liều acenocoumarol ($p < 0,001$).

3.3.1.2. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với nhóm tuổi

Bảng 3.8. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với nhóm tuổi

		Trung bình (mg/ tuần)	Độ lệch chuẩn (mg/ tuần)	p
Nhóm tuổi (n=150)	≤ 64 tuổi (n=130)	13,1	4,64	< 0,001*
	65 – 74 tuổi (n=14)	7,9	1,67	
	≥ 75 tuổi (n=6)	7,17	0,98	

Liều trung bình acenocoumarol liên quan nghịch với tuổi $p < 0,001$.

3.3.2. Xác định ảnh hưởng của yếu tố gen lên liều acenocoumarol

3.3.2.1. Mối liên quan tổ hợp gen *CYP2C9* và *VKORC1* với nhóm liều acenocoumarol

Bảng 3.13. Mối liên quan tổ hợp gen *VKORC1*, *CYP2C9* với nhóm liều acenocoumarol

		Nhóm liều acenocoumarol (n=150)			P
		≤ 7 (mg/ tuần) (n = 34)	7 < Liều ≤ 14 (mg/ tuần) (n = 72)	> 14 (mg/ tuần) (n = 44)	
		n (%)	n (%)	n (%)	
<i>VKORC1</i> + <i>CYP2C9</i> (n=150)	AA*1*1 (n=101)	23 (22,8)	57 (56,4)	21 (20,8)	0,001*
	AA*1*3 (n=5)	1 (20,0)	4 (80,0)	0 (0,0)	
	GA*1*1 (n=40)	10 (25,0)	10 (25,0)	20 (50,0)	
	GA*1*3 (n=2)	0 (0,0)	1 (50,0)	1 (50,0)	
	GG*1*1 (n=2)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (100)	

*Kiểm định Fisher

Có mối liên quan giữa tổ hợp gen *VKORC1* và *CYP2C9* với nhóm liều acenocoumarol ($p = 0,001$).

3.3.2.2. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với các kiểu gen của tổ hợp gen *CYP2C9* và *VKORC1*

Bảng 3.16. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với các kiểu gen của tổ hợp *CYP2C9* và *VKORC1*

		Trung bình (mg/ tuần)	Độ lệch chuẩn (mg/ tuần)	p
<i>VKORC1</i> + <i>CYP2C9</i> (n=150)	AA*1*1 (n=101)	11,6	3,9	0,015*
	AA*1*3 (n=5)	9,8	2,6	
	GA*1*1 (n=40)	14,4	6,0	
	GA*1*3 (n=2)	15,5	2,1	
	GG*1*1 (n=2)	19,0	2,8	

*Kiểm định Kruskal-Wallis.

Có mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với các kiểu gen của tổ hợp *VKORC1* và *CYP2C9* ($p = 0,015$).

3.3.3. Xây dựng mô hình tiên đoán liều acenocoumarol.

3.3.3.1. Hồi quy tuyến tính đơn biến so sánh liều acenocoumarol trung bình theo đặc tính gen.

Bảng 3.19. Hồi quy tuyến tính đơn biến so sánh liều acenocoumarol trung bình theo đặc tính gen.

Đặc tính cận lâm sàng	Hệ số	Giá trị p	KTC 95%		R ²	R ² (hiệu chỉnh)
CYP2C9						
*1*1	0				0,002	0,004
*1*3	- 1,07	0,56	- 4,7	2,56		
VKORC1						
AA	0				0,102	0,09
GA	2,91	< 0,01	1,28	4,54		
GG	7,47	0,02	1,09	13,84		
VKORC1*CYP2C9						
AA*1*1	0				0,107	0,083
AA*1*3	- 1,82	0,38	- 5,93	2,29		
GA*1*1	2,77	< 0,01	1,09	4,44		
GA*1*3	3,88	0,23	- 2,52	10,28		
GG*1*1	7,38	0,02	0,98	13,78		

Nhận xét: kết quả phân tích hồi quy đơn biến các biến độc lập yếu tố gen *VKORC1*, tổ hợp *VKORC1* và *CYP2C9* có ảnh hưởng liều acenocoumarol trung bình ($p < 0,05$).

3.3.3.2. Hồi quy tuyến tính đa biến so sánh liều acenocoumarol.

Bảng 3.20. Hồi quy tuyến tính đa biến liều theo lâm sàng và gen.

	Hệ số	Giá trị p	KTC 95%	
Tuổi (năm)	- 0,14	< 0,01	- 0,19	- 0,08

Cân nặng (kg)	0,12	< 0,01	0,05	0,19
Chỉ định dùng kháng vitamin K				
Rung nhĩ	0			
Thay van tim cơ học	4,20	0,02	0,56	7,84
Thay van tim sinh học	2,45	0,23	- 1,54	6,45
Sửa van và tạo hình vòng van	1,25	0,53	- 2,64	5,14
CYP2C9				
*1*1	0			
*1*3	- 2,42	0,12	- 5,51	0,67
VKORC1				
AA	0			
GA	3,93	< 0,01	2,46	5,40
GG	8,96	< 0,01	3,44	14,47

Nhận xét: kết quả trong phân tích hồi quy đa biến các biến độc lập tuổi, cân nặng, chỉ định kháng đông, gen *VKORC1* có ảnh hưởng mạnh đến liều acenocoumarol trung bình ($p < 0,05$).

3.3.3.3. Mô hình hồi quy tuyến tính đa biến mô hình 1.

Liều acenocoumarol trung bình = $7,63 - 0,13 \cdot \text{tuổi (năm)} + 0,11 \cdot \text{cân nặng (kg)} + b_3 \cdot \text{chỉ định dùng kháng vitamin K} + b_4 \cdot \text{VKORC1}$.

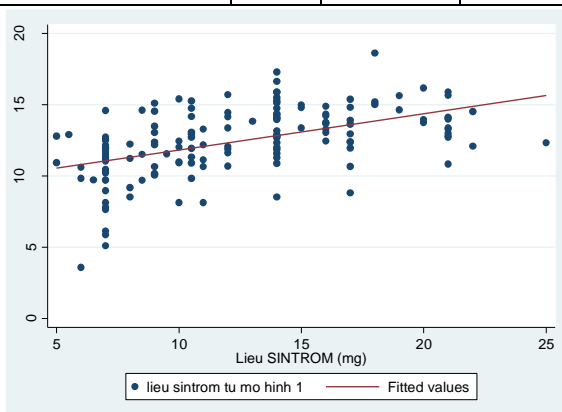
3.3.3.4. Mô hình hồi quy tuyến tính đa biến mô hình 2.

Liều acenocoumarol trung bình = $10,1 - 0,12 \cdot \text{tuổi (năm)} + 0,10 \cdot \text{cân nặng (kg)} + b_3 \cdot \text{chỉ định dùng kháng vitamin K}$.

3.3.3.5. So sánh liều acenocoumarol trung bình xây dựng dựa trên phương trình tiên đoán của mô hình 1 với liều acenocoumarol trung bình của mẫu nghiên cứu.

Bảng 3.24. so sánh liều trung bình từ mô hình và mẫu nghiên cứu

	N	TB	ĐLC	Giá trị p
Liều acenocoumarol của mẫu nghiên cứu (mg/ tuần)	150	12,45	4,74	1,00
Liều acenocoumarol từ mô hình 1(mg/ tuần)	150	12,45	2,39	



Hệ số tương quan hồi quy $r = 0,53$, $p < 0,001$.

Chương 4: BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm lâm sàng mẫu nghiên cứu.

Nghiên cứu chúng tôi (bảng 3.1) bao gồm 150 bệnh nhân với tuổi trung bình là $49,3 \pm 14,2$ tuổi, không khác biệt tuổi trung bình giữa nam và nữ ($p=0,746$). Độ tuổi này trong nghiên cứu chúng tôi tương đương với nghiên cứu của tác giả trong và ngoài nước. Giới

tính nữ ưu thế hơn nam với tỷ lệ lần lượt 53,3%, 46,7% phù hợp nghiên cứu các tác giả khác trong và ngoài nước. Cân nặng trung bình trong nghiên cứu chúng tôi là $57,5 \pm 10,0$ kg, nam có xu hướng nặng cân hơn nữ khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Cân nặng trung bình nhẹ hơn so với kết quả nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji $71,85 \pm 11,85$ kg, sự khác biệt có thể do khác nhau chủng tộc. Chỉ số khối cơ thể trung bình trong nghiên cứu chúng tôi là $22,6 \pm 3,4$ (kg/m^2), tương đồng nghiên cứu các tác giả trong nước, nhưng nhỏ hơn so với nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji. Diện tích bề mặt cơ thể trung bình nghiên cứu chúng tôi là $1,59 \pm 0,17$ m^2 , có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê diện tích bề mặt cơ thể giữa nam và nữ trong đó nam có xu hướng lớn hơn nữ ($p < 0,001$), điều này phù hợp do chiều cao và cân nặng trung bình của nam lớn hơn nữ.

4.2. Phân loại kiểu gen *CYP2C9*, *VKORC1*/ dân số nghiên cứu.

4.2.1. Phân loại kiểu gen *CYP2C9*

Bảng (4.1) có sự khác biệt tần suất các biến thể gen *CYP2C9* ở những chủng tộc khác nhau trên tế giới. Nghiên cứu này kiểu gen *CYP2C9**1/*1 chiếm 95,3%, kiểu gen *CYP2C9**1/*3 4,7% giống với nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thùy và của các tác giả Trung Quốc, Nhật Bản. Khác với nghiên cứu chủng tộc da trắng, Ấn Độ có tồn tại các kiểu gen biến thể khác như *CYP2C9**1/*2, *2/*2, *2/*3, *3/*3.

4.2.2. Phân loại kiểu gen *VKORC1*.

Bảng 4.2 nghiên cứu chúng tôi kiểu gen GG chiếm 1,3%, hầu hết mang alen biến thể A trong đó kiểu gen đồng hợp tử AA

chiếm 70,7%, dạng dị hợp tử GA 28%. Điểm giống giữa nghiên cứu chúng tôi và nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thùy là tần suất kiểu gen đồng hợp tử đại GG 1,3% so với 2%, tương tự nghiên cứu trên chủng tộc người Trung Quốc và Nhật Bản lần lượt có tỷ lệ đồng hợp tử đại GG khoảng 0-1,3%, 0-0,8%, cũng như nghiên cứu trên chủng tộc các quốc gia Đông Nam Á như Ma-lai-xi-a và In-do-ne-xi-a 1,6% và 4%. Ngược lại, chủng tộc người Ấn Độ kiểu gen GG chiếm rất cao từ 64-81%, giống chủng tộc người châu Âu, châu Mỹ từ 20-40%. Kiểu gen AA trong nghiên cứu chúng tôi 70,7% thấp hơn trong nghiên cứu tác giả Phạm Thị Thùy 87,3%, khá tương đồng nghiên cứu chủng tộc người Trung Quốc và Nhật Bản với tỷ lệ từ 80-88% và 83 -86 %. Ngược lại với chủng tộc Ấn Độ cực kỳ thấp 0-2,1%, chủng tộc da trắng kiểu gen AA từ 12-32%.

4.3. Xác định ảnh hưởng của một số yếu tố lâm sàng; gen *CYP2C9* và *VKORC1* lên liều acenocoumarol; xây dựng mô hình tiên đoán liều acenocoumarol dựa vào một số yếu tố lâm sàng, kiểu gen *CYP2C9* và *VKORC1*

4.3.1. Xác định ảnh hưởng của yếu tố lâm sàng lên liều acenocoumarol

4.3.1.1. Mối liên quan nhóm tuổi với nhóm liều acenocoumarol

Bảng 3.4 so sánh giữa các nhóm tuổi khác nhau ≤ 64 , 65 - 74, ≥ 75 tuổi và nhóm liều acenocoumarol ≤ 7 , $7 < \text{liều} \leq 14$, > 14 mg/ tuần, nhóm tuổi liên quan nghịch với nhóm liều acenocoumarol ($p < 0,001$). Kết quả phù hợp với nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji.

4.3.1.2. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với nhóm tuổi

Bảng 3.8 đối tượng ≥ 75 tuổi liều acenocoumarol trung bình $7,17 \pm 0,98$ mg/ tuần, ≤ 64 tuổi liều $13,1 \pm 4,64$ mg/ tuần. Liều trung bình acenocoumarol liên quan nghịch với tuổi $p < 0,001$. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji, Markatos.

4.3.2. Xác định ảnh hưởng của yếu tố gen lên liều acenocoumarol

4.3.2.1. Mối liên quan kiểu gen *CYP2C9* với nhóm liều acenocoumarol

Biểu đồ 3.2 và bảng 3.11 nghiên cứu này kiểu gen *CYP2C9**1/*3 gặp 7 trường hợp, trong đó 1 trường hợp ở nhóm liều acenocoumarol ≤ 7 mg/ tuần, 1 trường hợp ở nhóm liều acenocoumarol > 14 mg/ tuần, còn lại cả 5 trường hợp nằm nhóm liều acenocoumarol $7 < \text{liều} \leq 14$ mg/ tuần; Còn lại 143 trường hợp có kiểu gen đồng hợp tử đại *CYP2C9**1/*1 phân bố cả 3 nhóm liều acenocoumarol ≤ 7 , $7 < \text{liều} \leq 14$, > 14 mg/ tuần. Khác với nghiên cứu của Smires có 1 trường hợp kiểu gen đồng hợp tử *CYP2C9**3/*3 và nằm ở nhóm liều acenocoumarol ≤ 7 mg/ tuần, kiểu gen biến thể đồng hợp tử *CYP2C9**2/*2 có 4 trường hợp trong đó 2 trường hợp ở nhóm liều acenocoumarol ≤ 7 mg/ tuần.

4.3.2.2. Mối liên quan kiểu gen *VKORC1* với nhóm liều acenocoumarol

Xét từng alen ở nhóm liều lượng acenocoumarol khác nhau đối với các biến thể *VKORC1*-1639G>A kết quả có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê $P < 0,001$ (bảng 3.12). Trong nghiên cứu này có 34

trường hợp ở nhóm liều acenocoumarol ≤ 7 mg/ tuần tất cả đều có mặt alen A, trong đó 24 trường hợp có kiểu gen dạng đồng hợp tử AA, 10 trường hợp kiểu gen dị hợp tử GA, không trường hợp nào có kiểu gen đồng hợp tử GG; Nhóm 7 < liều ≤ 14 mg/ tuần, alen A ưu thế trong đó kiểu gen đồng hợp tử AA có 61 trường hợp, 11 trường hợp có kiểu gen dị hợp tử GA, không có trường hợp nào mang kiểu gen GG; Ngược lại, nhóm liều acenocoumarol khá cao > 14 mg/ tuần kiểu gen GA có 21 trường hợp, đặc biệt có sự có mặt của kiểu gen đồng hợp tử GG 2 trường hợp và tập trung nhóm liều > 14 mg/ tuần. Kết quả nghiên cứu cũng khá tương đồng với nghiên cứu của Smires.

4.3.2.3. Mối liên quan tổ hợp gen *CYP2C9* và *VKORC1* với nhóm liều acenocoumarol

Bảng 3.13 liều ≤ 7 mg/ tuần liên quan đến alen A của gen *VKORC1* nhiều hơn *CYP2C9* với 34/ 34 trường hợp trong đó kiểu gen đồng hợp tử AA chiếm 24/ 34 trường hợp chiếm 71%, kiểu gen dị hợp tử 10/ 34 trường hợp chiếm 29%, trong khi *CYP2C9* chủ yếu là dạng kiểu gen đồng hợp tử đại *CYP2C9**1/*1. Ngược lại, nhóm liều > 14 mg/ tuần liên quan alen G của *VKORC1* chiếm ưu thế, có cả 2 kiểu gen đồng hợp tử GG và dị hợp tử GA, còn đối với gen *CYP2C9* hầu hết là kiểu gen đồng hợp tử *CYP2C9**1/*1. So sánh nghiên cứu của tác giả Abdelhak Elkhazraji khá phù hợp, liều cao acenocoumarol tập trung ở người mang vừa kiểu gen đại đồng hợp tử của cả 2 gen *CYP2C9**1/*1 và GG của gen *VKORC1*. Ngược lại, liều thấp acenocoumarol rơi vào người mang kiểu gen biến thể của *CYP2C9* và kiểu gen biến thể *VKORC1* nhất là biến thể đồng hợp tử.

4.3.2.4. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol giữa các kiểu gen *CYP2C9*

Liều trung bình người mang kiểu gen đồng hợp tử *CYP2C9**1/*1 là $12,5 \pm 4,8$ mg/ tuần, kiểu gen biến thể *CYP2C9**1/*3 là $11,4 \pm 3,6$ mg/ tuần (bảng 3.14). Liều acenocoumarol trung bình của các kiểu gen *CYP2C9* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Phù hợp với nghiên cứu của tác giả Phạm Thị Thùy, nghiên cứu của các tác giả trên dân số Trung Quốc, Nhật Bản. Kết quả nghiên cứu chúng tôi khác với một số nghiên cứu của các tác giả châu Âu. Khác biệt do khác biệt chủng tộc người da trắng tần suất cao các kiểu gen biến thể *CYP2C9**3/*3, *CYP2C9**3/*2, *CYP2C9**2/*2.

4.3.2.5. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với các kiểu gen *VKORC1*

Bảng 3.15 kiểu gen đồng hợp tử AA liều trung bình $11,5 \pm 3,9$ mg/ tuần, dị hợp tử GA $14,4 \pm 5,9$ mg/ tuần, đồng hợp tử đại GG $19,00 \pm 2,8$ mg/ tuần, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê liều trung bình giữa các kiểu gen $P < 0,05$.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy tương đồng với hầu hết các nghiên cứu của các tác giả khác trong nước và trên thế giới trong đó kiểu gen đồng hợp tử AA của gen *VKORC1*-1639G>A liên quan acenocoumarol liều thấp, kiểu gen GA liều trung bình, kiểu gen GG nhu cầu liều cao nhất.

4.3.2.6. Mối liên quan liều trung bình acenocoumarol với các kiểu gen của tổ hợp gen *CYP2C9* và *VKORC1*

Có sự liên quan liều trung bình acenocoumarol với tổ hợp gen *VKORC1-CYP2C9* $p < 0,05$ (bảng 3.16). Kiểu gen AA*1/*3 liều trung bình thấp nhất $9,8 \pm 2,6$ mg/ tuần, kiểu gen GG*1/*1 liều cao nhất $19,00 \pm 2,8$ mg/ tuần. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu các tác giả trên thế giới.

4.3.3. Xây dựng mô hình tiên đoán liều acenocoumarol.

4.3.3.1. Hồi quy tuyến tính đơn biến so sánh liều acenocoumarol trung bình theo đặc tính gen *CYP2C9*, *VKORC1* và tổ hợp *CYP2C9* và *VKORC1* của mẫu nghiên cứu

Qua phân tích hồi quy tuyến tính đơn biến (bảng 3.19): kiểu gen *CYP2C9**1/*1, *CYP2C9**1/*3 không có liên quan liều acenocoumarol $p > 0,05$; Các kiểu gen AA, GA, GG của gen *VKORC1* và các tổ hợp 2 gen *CYP2C9* và *VKORC1* có liên quan đến liều acenocoumarol $p < 0,05$. Khả năng giải thích sự thay đổi liều trung bình acenocoumarol của gen *CYP2C9* là rất nhỏ $R^2 = 0,4\%$; gen *VKORC1* $R^2 = 9\%$; còn tổ hợp 2 gen *CYP2C9* và *VKORC1* $R^2 = 8,3\%$.

So sánh với các quốc gia châu Âu, Ấn Độ thì *CYP2C9* là gen chính yếu tác động đến liều trung bình acenocoumarol trong mô hình tiên đoán liều. Giải thích sự khác biệt có thể chính yếu do khác biệt chủng tộc, người châu Âu, Ấn Độ tần suất biến thể gen *CYP2C9* chiếm tỷ lệ cao, trong khi nghiên cứu này không có sự hiện diện của các biến thể.

4.3.3.2. Hồi quy tuyến tính đa biến so sánh liều trung bình acenocoumarol với một số yếu tố lâm sàng và gen *CYP2C9*, *VKORC1*

Tuổi, cân nặng, chỉ định dùng kháng đông kháng vitamin K, biến thể gen *VKORC1* có ảnh hưởng trên biến phụ thuộc là liều acenocoumarol trung bình với $p < 0,05$ (bảng 3.20).

Kết quả nghiên cứu này có một số biến độc lập tương đồng với nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji: tuổi, *VKORC1* liên quan có ý nghĩa $p < 0,05$. Biến cân nặng, chỉ định dùng thuốc kháng đông kháng vitamin K có ý nghĩa thống kê trong nghiên cứu này nhưng không ghi nhận có ý nghĩa thống kê trong nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji.

Kiểu gen đồng hợp tử đại *CYP2C9**1/*1 chiếm đến 95,3% trong nghiên cứu này do đó kết quả phân tích thống kê không ghi nhận có ảnh hưởng trên liều trung bình acenocoumarol. Khác với nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji.

4.3.3.3. Mô hình hồi quy tuyến tính đa biến tiên đoán liều acenocoumarol trung bình theo yếu tố lâm sàng (mô hình 2).

Bảng 3.21 xây dựng mô hình tiên đoán liều acenocoumarol chỉ dựa trên yếu tố lâm sàng. Kết quả tuổi, cân nặng, chỉ định dùng thuốc kháng đông kháng vitamin K là biến độc lập liên quan có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; $R^2 = 0,25$ và R^2 hiệu chỉnh = 0,23.

Pop Tudor Radu Mô hình tiên đoán liều acenocoumarol dựa theo yếu tố không gen: $D = 1,250 - 0,05 * \text{tuổi} + 0,010 * \text{BMI}$, mô hình này được áp dụng cho nhóm xác nhận giá trị mô hình, đạt được $R^2 =$

22,2%, và áp dụng mô hình cho toàn bộ dân số (nhóm chính và nhóm xác nhận giá trị mô hình) kết quả R^2 chưa hiệu chỉnh 18,8%.

Khả năng tiên đoán liều acenocoumarol chỉ dựa vào yếu tố lâm sàng còn nhiều hạn chế.

4.3.3.4. Mô hình hồi quy tuyến tính đa biến tiên đoán liều trung bình acenocoumarol dựa trên yếu tố lâm sàng, gen (mô hình 1).

Bảng 3.22 xây dựng mô hình tiên đoán kết hợp cả yếu tố lâm sàng và gen *VKORC1*. Khi có yếu tố gen *VKORC1* thì ngoài tuổi, cân nặng, chỉ định dùng thuốc kháng vitamin K, tất cả đều là biến độc lập ảnh hưởng có ý nghĩa thống kê đến biến phụ thuộc là liều acenocoumarol $p < 0,05$ khoảng tin cậy 95%; $R^2 = 0,43$ và R^2 hiệu chỉnh = 0,40. Khi thêm vào yếu tố gen *VKORC1* khả năng tiên đoán chính xác liều acenocoumarol tăng lên đáng kể từ 25% lên 43%. Bảng 3.24 giá trị liều trung bình từ mô hình (lâm sàng + gen) liên quan khá chặt với liều trung bình có được từ mẫu nghiên cứu với $r = 0,53$, $p < 0,001$.

Pop Tudor Radu phân tích đa biến, bao gồm cả yếu tố lâm sàng và gen *CYP2C9**2, *3 và *VKORC1*-1639G>A. *CYP2C9**2, *3 ảnh hưởng tối thiểu trong tiên đoán liều acenocoumarol ($R^2 = 4,7\%$). Ngược lại, *VKORC1*-1639G>A biến thể này tác động mạnh trong tiên đoán liều với $R^2 = 17,6\%$, khi có mặt *VKORC1*-1639G>A giá trị tiên đoán đạt được từ nhóm chính tăng lên 41,1% so với 18,8% chỉ có yếu tố lâm sàng. Kết quả này khá tương đồng với kết quả đạt được từ nghiên cứu chúng tôi với $R^2 = 43\%$ và R^2 hiệu chỉnh = 40%, thấp

hơn một chút so với kết quả ghi nhận từ nghiên cứu của Schie (52,6%) và Borobia (60,6%).

Saurabh Singh Rathore nếu chỉ dựa vào yếu tố lâm sàng cân nặng và giới tính mô hình tiên đoán liều $R^2 = 12,5\%$, khi thêm vào mô hình gen *VKORC1* giá trị tiên đoán tăng lên khá cao $R^2 = 34,9\%$, yếu tố gen *VKORC1* ảnh hưởng lớn đến liều duy trì acenocoumarol.

Nghiên cứu chúng tôi có một số hạn chế:

- Vitamin K nội sinh và ngoại sinh đóng vai trò rất quan trọng đến đáp ứng hiệu quả chống đông của acenocoumarol. Trong nghiên cứu này chỉ có thể kiểm soát được nguồn vitamin K ngoại sinh thông qua việc tư vấn.

- Cỡ mẫu nghiên cứu chưa thật sự đủ lớn $n=150$, thời gian thu thập dữ liệu nghiên cứu có giới hạn.

Ưu điểm của nghiên cứu:

Điểm mạnh nghiên cứu này là nghiên cứu các biến thể của gen (*VKORC1*) mã hóa ra protein là vị trí đích tác dụng của thuốc trong cơ chế sinh học phân tử và những biến thể của gen (*CYP2C9*) mã hóa ra protein chức năng tác dụng chuyển hóa thuốc thành dạng không hoạt động và đào thải. Điểm mạnh nữa là chúng tôi kết hợp các biến thể gen và các yếu tố lâm sàng xác định mô hình tiên đoán liều acenocoumarol.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 150 trường hợp sử dụng acenocoumarol đạt ngưỡng điều trị, liên quan với một số yếu tố lâm sàng và kiểu gen *CYP2C9*, *VKORC1*, nghiên cứu này rút ra 2 kết luận sau:

1. Phân loại kiểu gen *CYP2C9*, *VKORC1* trong dân số nghiên cứu

Gen *CYP2C9*: có 2 kiểu gen *CYP2C9*1*1*, *CYP2C9*1*3* với tỷ lệ lần lượt 95,3%; 4,7%.

Gen *VKORC1*: có 3 kiểu gen AA, GA và GG với tỷ lệ lần lượt là: 70,7%; 28,0% và 1,3%.

Tổ hợp *CYP2C9-VKORC1*: có các kiểu gen AA*1*1; GA*1*1; AA*1*3; GG*1*1; GA*1*3; với tỷ lệ lần lượt là: 67,37%; 26,73%; 3,3%; 1,3% và 1,3%.

2. Xác định ảnh hưởng của một số yếu tố lâm sàng, gen *CYP2C9* và *VKORC1* lên liều acenocoumarol; xây dựng mô hình tiên đoán liều trung bình acenocoumarol dựa vào một số yếu tố lâm sàng, kiểu gen *CYP2C9* và *VKORC1*

- Tuổi có liên quan nghịch với liều acenocoumarol ($p < 0,001$). Nhóm ≥ 75 tuổi liều acenocoumarol trung bình thấp nhất $7,17 \pm 0,98$ mg/ tuần; Nhóm từ 65 đến 74 tuổi liều trung bình $7,9 \pm 1,67$ mg/ tuần; Nhóm ≤ 64 tuổi liều trung bình cao nhất $13,1 \pm 4,64$ mg/ tuần.

- Có sự liên quan của gen *VKORC1* với liều acenocoumarol ($p < 0,001$). Bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp tử AA liều trung bình nhỏ nhất: $11,6 \pm 3,9$ mg/ tuần; đồng hợp tử GG liều trung bình cao nhất: $19,0 \pm 2,8$ mg/ tuần; dị hợp tử GA liều trung bình $14,4 \pm 5,9$ mg/ tuần.

- Có sự liên quan tổ hợp gen *CYP2C9-VKORC1* với nhóm liều acenocoumarol ($p < 0,015$). Kiểu gen đồng hợp tử đại GG*1*1 liều trung bình lớn nhất: $19,0 \pm 2,8$ mg/ tuần; tổ hợp biến thể 2 gen

AA*1*3 liều trung bình nhỏ nhất $9,8 \pm 2,6$ mg/ tuần; AA*1*1 liều trung bình $11,6 \pm 3,9$ mg/ tuần; GA*1*1 liều trung bình $14,4 \pm 6,0$ mg/ tuần; GA*1*3 liều trung bình $15,5 \pm 2,1$ mg/ tuần.

- Tuổi, cân nặng, chỉ định dùng thuốc kháng đông, gen *VKORC1* có liên quan liều trung bình acenocoumarol ($P < 0,05$).

Liều acenocoumarol trung bình = $7,63 - 0,13 * \text{Tuổi (năm)} + 0,11 * \text{Cân nặng (kg)} + b3 * \text{chỉ định dùng kháng vitamin K} + b4 * \text{VKORC1}$.

Mô hình này cải thiện giá trị tiên đoán với R^2 hiệu chỉnh từ 23% chỉ với yếu tố lâm sàng lên 40% khi có kết hợp gen *VKORC1* ($P < 0,001$).

Giá trị liều trung bình xây dựng từ mô hình kiểm chứng với liều trung bình có được từ mẫu thực tế liên quan khá chặt với với $r = 0,53$, $P < 0,001$.

KIẾN NGHỊ

Nên xem xét việc khảo sát xét nghiệm gen *VKORC1*-1639G>A cho những trường hợp đặc biệt: quá nhạy cảm liều thấp acenocoumarol mà đã đạt INR, bệnh nhân có sự dao động INR hoặc liều quá cao acenocoumarol mà không đạt INR mục tiêu.

Mô hình tiên đoán liều có được từ nghiên cứu này có thể giúp các nhà lâm sàng tham khảo trước khi dùng acenocoumarol.

Cần có nhiều nghiên cứu đoàn hệ thêm.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN

1/ Trương Tú Trạch, Châu Ngọc Hoa, Hoàng Anh Vũ (2020), “Biến thể *CYP2C9**2, *CYP2C9**3 của P-450 *CYP2C9*, -1639 G>A của *VKORC1* và liều acenocoumarol”, *Tạp chí Y học TP. Hồ Chí Minh*, 24 (3), tr. 160-165.

1/ Trương Tú Trạch, Trương Quang Bình, Châu Ngọc Hoa, Hoàng Anh Vũ (2020), “Mô hình tiên đoán liều acenocoumarol dựa trên biến thể *CYP2C9**2, *3 của *CYP2C9*, -1639G>A của *VKORC1* và yếu tố lâm sàng”, *Tạp chí y học thực hành Bộ Y Tế*, 7(1139), tr. 50-53.