

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO BỘ Y TẾ
ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN CÔNG TRUNG

NGHIÊN CỨU
MATRIX METALLOPROTEINASE-12 (MMP-12)
TRONG BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH

Chuyên ngành: Nội Hô Hấp
Mã số :62.72.01.44

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

TP. 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: PGS.TS. NGUYỄN VĂN TRÍ
PGS.TS. HOÀNG ANH VŨ

Phản biện 1:

Phản biện 2

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp trường
hợp tại Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh
vào giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- 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. Đặt vấn đề

Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT) là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong và bệnh tật mạn tính trên toàn thế giới. Tại Việt Nam tỉ lệ mắc bệnh BPTNMT là 6,7% [62].

Các thuốc thường được sử dụng điều trị BPTNMT là thuốc giãn phế quản và thuốc kháng viêm giúp cải thiện triệu chứng, giảm tần số và mức độ nặng của đợt cấp, cải thiện sức khỏe. Tuy nhiên, cho đến nay, chưa có loại thuốc nào có chứng cứ lâm sàng làm giảm sự tắc nghẽn tiến triển của bệnh này. Do đó, các nhà nghiên cứu chú ý nhiều đến hướng nghiên cứu các gen có vai trò trong cơ chế bệnh sinh dẫn đến BPTNMT [34], nhằm mục đích can thiệp vào các gen này.

Gen Matrix Metalloproteinase-12 (MMP-12) được các nhà nghiên cứu chú ý nhiều nhất, lí do là, gen MMP-12 bị kích hoạt bởi khói thuốc lá - yếu tố nguy cơ chính dẫn đến gia tăng sản xuất proteinase MMP-12 gây ra mất cân bằng proteinase - antiproteinase dẫn đến thoái hóa chất nền (elastin, collagen) ở phổi dẫn đến BPTNMT [15], [115], [122].

Nghiên cứu của Hautamaki (1997) [61] sử dụng chất ức chế gen MMP-12 (MMP-12 inhibitor) trên chuột cho thấy có hiệu quả ngăn chặn được khí phế thũng do khói thuốc lá. Nghiên cứu của Churg A (2012) [34] kết luận: nếu can thiệp vào bệnh BPTNMT với chất ức chế gen MMP-12 có thể là một liệu pháp hữu hiệu cho BPTNMT. Nghiên cứu của Kraen M (2019) [85] về khói thuốc lá liên quan đến 2 bệnh là BPTNMT và xơ vữa động mạch cảnh, tác giả kết luận “proteinase MMP-12 và MMP-1 là chỉ dấu sinh học có thể hữu ích trong lâm sàng, và cần có các nghiên cứu tiếp theo để làm sáng tỏ vai trò proteinase của chúng”. Tổ chức GOLD 2020 kết luận gen MMP-12 liên quan đến giảm chức năng phổi, hoặc liên quan đến yếu tố nguy cơ BPTNMT [54]

Gen MMP-12 liên quan đến giảm chức năng phổi, và gen MMP-12 bị kích hoạt bởi khói thuốc lá [54]. Tuy nhiên, mối liên quan giữa khói thuốc lá kích hoạt biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT là mối liên

quan không đồng nhất, và mối liên quan biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng là chưa rõ ràng; lí do là, trong bệnh học, có rất nhiều người không bao giờ hút thuốc lá vẫn mắc bệnh BPTNMT. Ngược lại, cũng có rất nhiều người hút thuốc lá vẫn không mắc bệnh BPTNMT.

Vì vậy, nghiên cứu này nhằm tìm kiếm mối liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT, và tìm kiếm mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng của BPTNMT. Từ đó, có thêm cơ sở số liệu về vấn đề này, để góp phần hiểu rõ hơn về gen MMP-12 ở BPTNMT.

Mục tiêu nghiên cứu

1. Mô tả đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm ở các nhóm nghiên cứu
2. Khảo sát mối liên quan giữa khói thuốc lá với biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT ở các nhóm nghiên cứu.
3. Đánh giá mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng, và với độ nặng của bệnh ở nhóm bệnh nhân BPTNMT.
4. Đánh giá mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ

2. Tính cấp thiết của đề tài luận án

BPTNMT chưa có thuốc điều trị khỏi hẳn, chưa có loại thuốc nào có chứng cứ lâm sàng làm giảm sự tắc nghẽn tiến triển của bệnh BPTNMT [54]. Do đó, các nhà nghiên cứu đang chú ý nhiều đến hướng nghiên cứu các gen có vai trò trong cơ chế bệnh sinh dẫn đến BPTNMT nhằm mục đích can thiệp vào các gen này [34]. Trong số các gen có vai trò trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT, gen MMP-12 được chú ý nhiều nhất. Tổ chức GOLD 2020 kết luận “gen MMP-12 liên quan đến giảm chức năng phổi, hoặc liên quan đến yếu tố nguy cơ BPTNM” và gen MMP-12 bị kích hoạt bởi khói thuốc lá [54]. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu Matrix Metalloproteinase-12 trong BPTNMT nhằm tìm kiếm mối liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT, và tìm kiếm sự liên quan giữa biểu hiện gen

MMP-12 với biểu hiện lâm sàng của BPTNMT. Từ đó, có thêm cơ sở số liệu về vấn đề này, để góp phần hiểu rõ hơn về vai trò của gen MMP-12 ở BPTNMT và có thể là giúp góp phần trong phòng ngừa và điều trị BPTNMT do gen MMP-12.

3. Những đóng góp của luận án

Góp phần hiểu rõ hơn về vai trò của gen MMP-12 trong BPTNMT:

- Mức độ biểu hiện gen MMP-12 là khác biệt nhau (không đồng nhất) giữa các nhóm do liên quan với BPTNMT và/ hoặc khói thuốc lá.
- Biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở bệnh nhân BPTNMT, cho dù bệnh nhân này có hút thuốc lá hay không hút thuốc lá ($p=0,001$).
- Khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ chính kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi. Ngoài khói thuốc lá, khói bụi, khí độc hại khác...cũng dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT.
- Sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi chỉ là điều kiện cần, mà chưa có điều kiện đủ để dẫn đến BPTNMT.
- Sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là chỉ dấu sinh học có thể có hữu ích trong tiên đoán bệnh nặng trên lâm sàng và tiên đoán sự suy giảm FEV₁ và chức năng phổi theo thời gian.
- Biện pháp ngưng hút thuốc lá là một trong những biện pháp hữu hiệu làm giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, giúp giảm bớt tình trạng suy giảm chức năng phổi ở bệnh nhân BPTNMT.
- Xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có thể giúp phát hiện những người có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ ($FEF_{25-75\%} < 60\%$) ở những người hút thuốc lá dai dẳng. Từ đó, có cơ sở để khuyến cáo ngưng hút thuốc ở những người này, giúp góp phần ngăn chặn sự tắc nghẽn nhỏ sớm tiến triển, và giúp góp phần giảm tần suất BPTNMT.

4. Bố cục luận án

Luận án có 121 trang, được bố cục gồm: mở đầu: 3 trang; tổng quan tài liệu: 33 trang; đối tượng và phương pháp nghiên cứu: 18 trang;

kết quả nghiên cứu: 27 trang; bàn luận: 37 trang; kết luận và kiến nghị: 3 trang. Luận án có 31 bảng, 19 biểu đồ, 15 sơ đồ và 157 tài liệu tham khảo, trong đó có 11 tài liệu tiếng Việt, 146 tài liệu tiếng Anh, 49 tài liệu mới trong 5 năm chiếm tỉ lệ 31%

CHƯƠNG I: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1 Định nghĩa BPTNMT: Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính là một bệnh thường gặp, bệnh có thể ngăn ngừa và điều trị được, đặc tính của bệnh là những triệu chứng hô hấp và tình trạng giới hạn luồng khí dai dẳng do bất thường đường dẫn khí và / hoặc phế nang, thường do phơi nhiễm với phân tử độc hại hoặc khí độc hại, và bị ảnh hưởng bởi yếu tố thể tạng, bao gồm sự phát triển bất thường của phổi. Những bệnh đồng mắc nghiêm trọng có thể tác động đến tỉ lệ mắc bệnh và tử vong” [54].

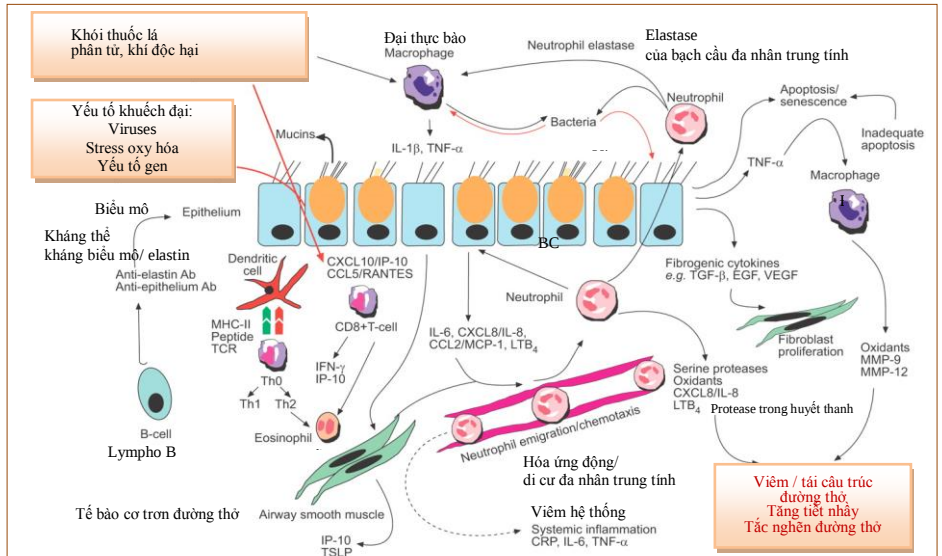
1.2 Dịch tễ học: Trên thế giới có 6-10% dân số người lớn mắc bệnh BPTNMT. Tại Việt Nam có 6,7% dân số mắc bệnh BPTNMT [62], [153]

1.3 Yếu tố nguy cơ: Khói thuốc lá, ô nhiễm môi trường trong và ngoài nhà, nghề nghiệp, gen, sự trưởng thành và phát triển của phổi, giới tính, già hóa dân số, nhiễm khuẩn hô hấp, hen, lao phổi, kinh tế xã hội nghèo nàn, rối loạn dinh dưỡng, bệnh đồng mắc.

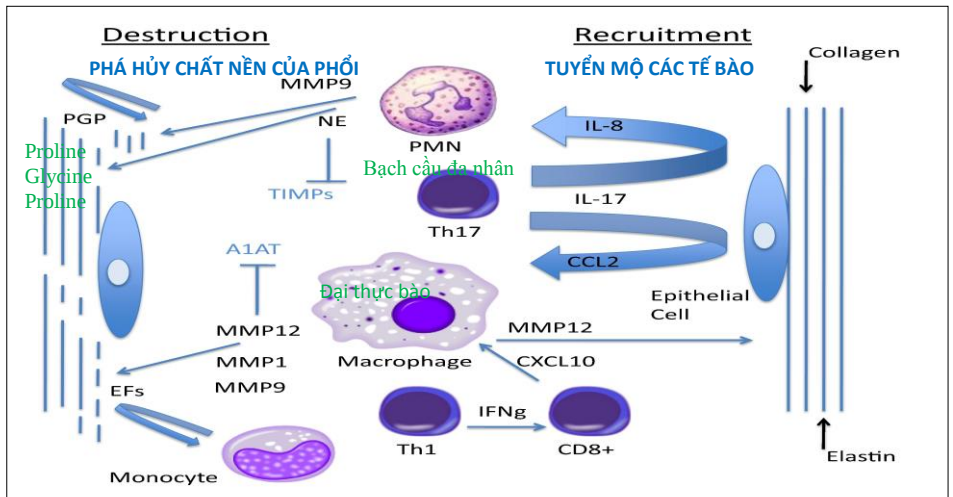
1.4 Cơ chế bệnh sinh BPTNMT: do mất cân bằng proteinase - antiproteinase, viêm dai dẳng, stress oxy hóa, mất cân bằng miễn dịch, yếu tố gen, giả thuyết cytokine, giả thuyết nhiễm khuẩn, dẫn đến phá hủy chất nền ở phổi và tái cấu trúc đường dẫn khí dẫn đến BPTNMT [30] (Sơ đồ 1.2).

1.5 Vai trò MMP-12 trong cơ chế bệnh sinh: khói thuốc lá kích hoạt gen MMP-12 sản xuất ra proteinase MMP-12 dẫn đến mất cân bằng proteinase - antiproteinase, dẫn đến sự phá vỡ chất nền ở phổi (elastin, collagen) dẫn đến BPTNMT và giảm chức năng phổi (Sơ đồ 1.3).

1.6 Khái niệm biểu hiện gen (expression gene): Biểu hiện gen là quá trình chuyển đổi thông tin di truyền chứa trong gen thành sản phẩm trong tế bào sống, là quá trình tổng hợp ra một phân tử chức năng sinh học hoặc một phân tử RNA hay protein [36].



Sơ đồ 1.2: Cơ chế bệnh sinh BPTNMT “Nguồn: Chung K. F, 2008” [30]



Sơ đồ 1.2: Cơ chế bệnh sinh BPTNMT do MMP-12 “Nguồn: Houghton, 2015” [63]

1.7 Mối liên quan chu kỳ ngưỡng với mức độ biểu hiện gen: Số chu kỳ ngưỡng càng thấp thì mức độ biểu hiện gen càng cao và ngược lại [67]

1.8 Khái niệm về tỉ lệ biểu hiện gen: Tỉ lệ biểu hiện gen là tỉ lệ về số lượng gen (số lượng bản sao DNA trong RT-PCR) ở 2 nhóm mẫu NC.

CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu mô tả cắt ngang

2.2 Đối tượng NC: gồm 4 nhóm: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc lá, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá, (3) nhóm khỏe - hút thuốc lá, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc lá.

2.3 Thời gian NC: từ tháng 6 - 2016 đến 12 - 2018

2.4 Địa điểm NC: BV Nguyễn Trãi và BV Đại Học Y Dược TPHCM

2.5 Cơ mẫu NC: công thức trong so sánh giá trị trung bình các biến số

$$n = \frac{(Z_{1-\beta} + Z_{1-\alpha/2})^2 (\delta_1^2 + \delta_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

2.6 Xác định các biến số độc lập và biến số phụ thuộc

Bảng 2.1: Tên biến số và cách tính các biến số trong nghiên cứu

TÊN BIẾN SỐ	CÁCH TÍNH BIẾN SỐ
Tuổi	Số tuổi = năm nghiên cứu – năm sinh đối tượng
Giới tính	Nam, Nữ
Đối tượng - không hút thuốc lá	Đối tượng hoàn toàn không hút thuốc hoặc là hút < 100 điếu trong đời, tính tại thời điểm phỏng vấn [29]
Đối tượng - hút thuốc lá	Đối tượng hút thuốc ≥ 10 điếu mỗi ngày ($\geq 0,5$ gói/ngày) và thời gian hút thuốc ít nhất là ≥ 35 năm
Số gói-năm (pack-years)	Số gói hút mỗi ngày X số năm đối tượng đã hút
Nhóm BPTNM - không hút thuốc	Có FEV1/FVC < 0,7 sau thuốc giãn phế quản, có triệu chứng lâm sàng và không hút thuốc [29], [79]
Nhóm BPTNMT - hút thuốc	Đối tượng có đủ tiêu chuẩn BPTNMT (theo GOLD 2020), và hút thuốc [29], [79]
Nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc	Đối tượng có đủ tiêu chuẩn BPTNMT (theo GOLD 2020) và ngưng hút thuốc ≥ 1 năm (12 tháng)
Nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)	Đối tượng có FEV1/ FVC $\geq 0,7$ sau thuốc giãn phế quản, không hút thuốc lá [29], [79]
Nhóm khỏe - hút thuốc	Đối tượng có FEV1/ FVC $\geq 0,7$ sau thuốc giãn phế quản, và hút thuốc [29], [79]
Nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ	Các đối tượng trong nhóm khỏe - hút thuốc, nhưng họ có FEV25-75%- dự đoán < 60% (căn cứ theo phế dung kí)
Đối tượng BPTNMT- có	Đối tượng có số điểm từ thang điểm mMRC ≥ 2 và/

nhiều triệu chứng	hoặc điểm CAT ≥ 10 .
Đối tượng BPTNMT- có nguy cơ cao	Khi có ≥ 2 đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, hoặc 1 đợt cấp phải nhập viện
Đối tượng có đợt cấp nặng phải nhập viện (trong năm vừa qua)	Đối tượng có đợt cấp nặng phải nhập viện trong vòng 12 tháng trước, một đợt cấp nằm viện ít nhất ≥ 7 ngày (1 tuần)

CHƯƠNG III: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 ĐẶC ĐIỂM NHÂN TRẮC HỌC, LÂM SÀNG VÀ BIỂU HIỆN GEN MMP-12 Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện trên 351 đối tượng gồm có: (1) nhóm BPTNMT-hút thuốc lá có n=112 đối tượng, (2) nhóm BPTNMT- không hút thuốc lá có n=61 đối tượng; (3) nhóm khỏe-hút thuốc lá có n=115 đối tượng, (4) nhóm khỏe- không hút thuốc lá (nhóm chứng) có n=63.

3.1.1 Tuổi: nhóm BPTNMT là $65,1 \pm 8,6$; thấp nhất là 55 tuổi, cao nhất là 93 tuổi.

3.1.2 Giới tính: nhóm BPTNMT - chung có 173 đối tượng, trong đó: nam: n=153 (88,4%); nữ: n=20 (11,6%). Tỷ lệ nam hơn nữ 7,6 lần.

3.1.3 Số đối tượng ở GOLD I, II, III và IV: lần lượt là 42 (24,3%), 47 (27,2%), 48 (27,7%), và 36 (20,8%).

3.1.4 Số gói thuốc-năm (pack-years): Nhóm GOLD I, II, III, IV lần lượt là: $28,62 \pm 15,08$; $45,11 \pm 22,15$; $48,30 \pm 18,10$; $56,13 \pm 15,33$; $p = 0,032$, $r = 0,231$, $p = 0,006$. Nhóm BPTNM - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc lần lượt là $50,65 \pm 16,75$ và $46,57 \pm 19,62$, $p = 0,093$.

3.1.5 Giá trị trung bình các thông số hô hấp

Nhóm khỏe - hút thuốc có $FEV_1/FVC = 0,72 \pm 0,10$; giá trị này rất gần trị số mắc bệnh BPTNMT và có FEF 25-75% - dự đoán là $0,49 \pm 0,12$ cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

3.1.6 Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ: Nhóm khỏe - hút thuốc có 75 đối tượng, chiếm tỷ lệ 65,2% (75/115). Nhóm khỏe - không hút thuốc có 6 đối tượng chiếm tỷ lệ 9,5% (6/63)

3.1.7 Số đối tượng nhóm A, B, C, D; nhiều triệu chứng; nguy cơ cao: Nhóm A, B, C, D lần lượt là 27 (15,6%), 29 (16,8%), 51 (29,5%), 66

(38,1%); nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng là 95 (54,9%). Nhóm BPTNMT- nguy cơ cao là 117 (67,6%).

3.1.8 Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu

Bảng 3.9: Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu

CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen β-Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa (ΔCT)	2 ^{-ΔCT}	p ^a	p
Nhóm BPTNMT - hút thuốc (n=112)	29,99 ±1,16	22,38 ±0,91	7,61 ±1,10	2 ^{-7,61}	p*= 0,371	0,001
Nhóm BPTNMT- không hút (n=61)	30,31 ±1,12	22,49 ±0,77	7,81 ±1,11	2 ^{-7,81}		
Nhóm khỏe- hút thuốc (n=115)	30,28 ±0,96	22,27 ±1,14	7,86 ±1,02	2 ^{-7,86}	p**= 0,001	
Nhóm khỏe- không hút thuốc (n=63)	31,51 ±0,62	22,04 ±1,03	9,47 ±1,08	2 ^{-9,47}		

Bảng 3.9 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm BPTNMT- hút thuốc > nhóm BPTNMT- không hút thuốc > nhóm khỏe - hút thuốc > nhóm khỏe - không hút thuốc. Tương ứng với số chu kì ngưỡng lần lượt là: $7,61 \pm 1,10$; $7,81 \pm 1,11$; $7,86 \pm 1,02$; $9,47 \pm 1,08$, $p = 0,001$.

3.2 KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHỐI THUỐC LÁ VỚI BIỂU HIỆN GEN MMP-12 DẪN ĐẾN BPTNMT Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU

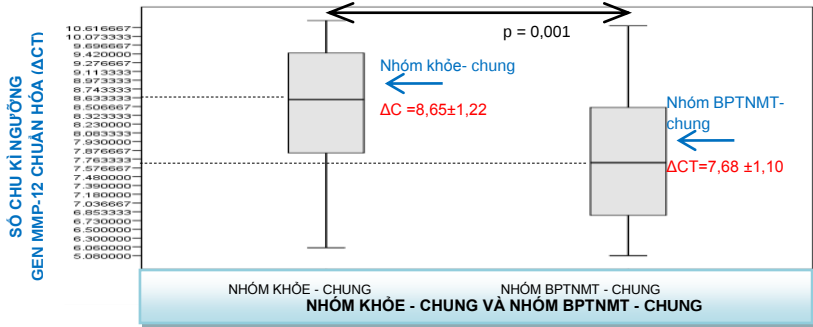
3.2.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- chung so với nhóm khỏe - chung

Bảng 3.10: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- chung so với nhóm khỏe – chung

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa (ACT)	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta ACT}$	p
Nhóm BPTNMT chung (n=173)	30,10 $\pm 1,18$	22,41 $\pm 0,86$	7,68 $\pm 1,10$	$2^{-7,68}$	1,95 1	0,001
Nhóm khỏe- chung (n=178)	30,83 $\pm 1,07$	22,18 $\pm 0,96$	8,65 $\pm 1,22$	$2^{-8,65}$		

Bảng 3.10 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- chung cao hơn nhóm

khỏe - chung có ý nghĩa thống kê, $p = 0,001$. Tương ứng với số chu kỳ ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là $\Delta CT = 7,68 \pm 1,10$ và $8,65 \pm 1,22$.



Biểu đồ 3.1 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT-chung cao hơn so với nhóm khỏe - chung 1,95 lần, $p = 0,001$

3.2.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Bảng 3.11: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kỳ ngưỡng gen MMP-12	Số chu kỳ ngưỡng gen β -actin	Số chu kỳ ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỷ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta \Delta CT}$	p
Nhóm BPTNMT-hút thuốc (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 0,10$	$2^{-7,61}$	$\frac{3,63}{1}$	0,0001
Nhóm khỏe - không hút thuốc (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

Bảng 3.11 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- hút thuốc cao hơn nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,63 lần, $p=0,0001$

3.2.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Bảng 3.12: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen	p
BPTNMT- không hút thuốc (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$	3,16 1	0,001
Nhóm khỏe -không hút thuốc (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

Bảng 3.12 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- không hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc 3,16 lần, $p = 0,001$.

3.2.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

Bảng 3.13: So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta CT}$	p
Nhóm BPTNMT- hút thuốc (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 0,10$	$2^{-7,61}$	1,18 1	0,077
Nhóm khỏe - hút thuốc (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,27 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$		

Bảng 3.13 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê, $p = 0,077$

3.2.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

Bảng 3.14: So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen β -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa (ΔCT)	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta CT}$	p
BPTNMT- không hút thuốc (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$	1,04 1	0,771
Nhóm khỏe - hút thuốc (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,27 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$		

Bảng 3.14 cho thấy cho thấy biểu gen ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc, không khác biệt, $p = 0,771$.

3.2.6 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc

Bảng 3.15: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP12	Số chu kì ngưỡng gen β -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta CT}$	p
Nhóm BPTNMT- hút thuốc (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 1,10$	$2^{-7,61}$	$\frac{1,15}{1}$	0,371
Nhóm BPTNMT- không hút (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$		

Bảng 3.15 cho thấy biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT - hút thuốc không khác biệt so với nhóm BPTNMT - không hút thuốc, $p=0,371$.

3.2.7 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Bảng 3.16: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta CT}$	p
Nhóm khỏe- hút thuốc (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,27 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$	$\frac{3,05}{1}$	0,0001
Nhóm khỏe-không hút thuốc (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

Bảng 3.16 cho thấy biểu hiện gen ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc 3,05 lần, $p= 0,0001$.

3.3. ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI BIỂU HIỆN LÂM SÀNG, VÀ VỚI ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH Ở NHÓM BN BPTNMT

3.3.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc

Bảng 3.18: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc

NHÓM BPTNMT - HÚT THUỐC (n=112)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta CT}$	p
Nhóm BPTNMT- còn hút thuốc (n=61)	29,05 $\pm 0,88$	22,19 $\pm 0,79$	6,86 $\pm 0,92$	$2^{-6,86}$	<u>2,51</u> 1	0,001
Nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc (n=51)	30,69 $\pm 1,02$	22,50 $\pm 0,86$	8,19 $\pm 0,98$	$2^{-8,19}$		

Bảng 3.18 cho thấy mức độ biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc cao hơn so với BPTNMT- ngưng hút thuốc 2,51 lần, $p = 0,001$

3.3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở GOLD I, II, III, IV

Bảng 3.19: So sánh biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm GOLD I, II, III, IV

NHÓM BPTNMT (n=173)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β - Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	p
Nhóm GOLD I (n=42)	31,11 $\pm 0,78$	22,60 $\pm 0,92$	8,51 $\pm 0,93$	$2^{-8,51}$	$p = 0,005$ $r = 0,631$, $p^* = 0,001$
Nhóm GOLD II (n=47)	30,76 $\pm 0,78$	22,59 $\pm 0,91$	8,17 $\pm 0,86$	$2^{-8,17}$	
Nhóm GOLD III (n=48)	29,92 $\pm 0,81$	22,39 $\pm 0,94$	7,53 $\pm 0,89$	$2^{-7,53}$	
Nhóm GOLD IV (n=36)	28,57 $\pm 0,28$	22,07 $\pm 0,55$	6,50 $\pm 0,50$	$2^{-6,50}$	

Bảng 3.19 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm GOLD IV > III > II > I, $p = 0,005$; $r = 0,631$, $p = 0,001$

3.3.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 nhóm BPTNMT-nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT-nguy cơ thấp

Bảng 3.22: So sánh biểu hiện gen MMP-12 nhóm BPTNMT - nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT - nguy cơ thấp

NHÓM BPTNMT (n=173)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen β -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta CT}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta CT}$	p
Nhóm BPTNMT- nguy cơ cao (n=117)	29,66 $\pm 1,07$	22,33 $\pm 0,83$	7,32 $\pm 1,01$	$2^{-7,32}$	<u>2,17</u> 1	0,001
Nhóm BPTNMT - nguy cơ thấp (n=56)	30,05 $\pm 0,75$	22,60 $\pm 0,91$	8,44 $\pm 0,88$	$2^{-8,44}$		

Bảng 3.22 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nguy cơ cao cao hơn so với BPTNMT - nguy cơ thấp, 2,17 lần, $p=0,001$.

3.4 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI ĐẦU HIỆU SỚM CỦA TẮC NGHẼN ĐƯỜNG DẪN KHÍ NHỎ

3.4.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ($FEF_{25-75}\%$ - dự đoán $<60\%$) so với nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn

Bảng 3.24: Mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm - có dấu hiệu sớm so với nhóm- không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ

NHÓM KHỎE (nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe không hút thuốc) (n=115 và n=63)	Số chu kì ngưỡng gen MMP12	Số chu kì ngưỡng gen β -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta Ct}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta Ct}$	p
Nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn (n=81)	30,51 $\pm 0,96$	22,45 $\pm 0,83$	8,01 $\pm 0,91$	$2^{-8,01}$	2,05 1	0,001 $r=0,524$ $p=0,001$
Nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn (n=97)	31,12 $\pm 1,26$	22,11 $\pm 0,95$	9,05 $\pm 1,17$	$2^{-9,05}$		

Bảng 3.24 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 2,05 lần, có ý nghĩa thống kê, $p = 0,001$; $r = 0,524$, $p = 0,001$.

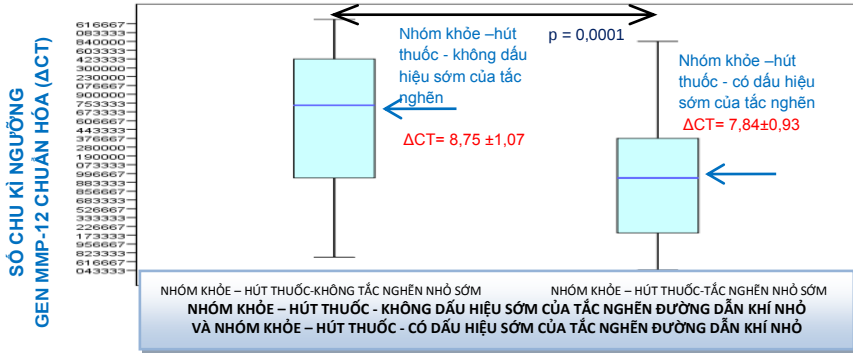
3.4.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ

Bảng 3.25: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm so với nhóm khỏe - hút thuốc- không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ

NHÓM KHỎE - HÚT THUỐC (n=115)	Số chu kì ngưỡng gen MMP12	Số chu kì ngưỡng gen β -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa	$2^{-\Delta Ct}$	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta Ct}$	p
----------------------------------	----------------------------	-------------------------------------	--------------------------------------	------------------	--	---

Nhóm khỏe – hút thuốc- có dấu hiệu sớm tắc nghẽn (n=75)	30,16 ± 0,95	22,12 ± 0,87	7,84 ± 0,93	$2^{-7,84}$	<u>1,87</u> 1	0,0001
Nhóm khỏe – hút thuốc không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn (n=40)	30,22 ± 1,17	22,45 ± 0,75	8,75 ± 1,07	$2^{-8,75}$		

Bảng 3.25 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 1,87 lần, $p = 0,001$.



Biểu đồ 3.16 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 1,87 lần, $p = 0,0001$

CHƯƠNG IV. BÀN LUẬN

4.1 ĐẶC ĐIỂM NHÂN TRẮC HỌC, LÂM SÀNG VÀ BIỂU HIỆN GEN MMP-12 TRONG TẾ BÀO ĐÀM Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU

4.1.1 Tuổi tác: Tuổi của nhóm BPTNMT ($n = 173$) là $65,1 \pm 8,6$, tương tự với các nghiên cứu trong và ngoài nước

4.1.2 Giới tính: nhóm BPTNMT- chung: tỉ lệ nam/nữ 7,6/ 1 lần, tương tự với các nghiên cứu trong nước. Khác với ngoài nước tỉ lệ nam/nữ: 1/1.

4.1.3 Số gói thuốc-năm (pack-years): ở nhóm GOLD I, II, III, IV lần

lượt là: $28,62 \pm 15,08$, $45,11 \pm 22,15$, $48,30 \pm 18,10$, $56,13 \pm 15,33$, $p = 0,032$, $r = 0,231$, $p = 0,006$. Như vậy, mức độ tắc nghẽn (GOLD) có tương quan thuận đến số gói - năm bệnh nhân đã hút.

4.1.4 Giá trị trung bình các thông số hô hấp: Nhóm khỏe - hút thuốc có FEV1/FVC = $0,72 \pm 0,10$ và có FEF_{25-75%} - dự đoán là $0,49 \pm 0,12$ cho thấy nhóm này có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

4.1.5 Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ: Nhóm khỏe - hút thuốc có 75 đối tượng, chiếm tỷ lệ 65,2% (75/115). Như vậy, đa số người hút thuốc lá có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

4.1.6 Số đối tượng nhóm A, B, C, D, và nhóm triệu chứng: số đối tượng nhóm A, B, C, D lần lượt là 27 (15,6%), 29 (16,8%), 51 (29,5%), 66 (38,1%). Nhóm BPTNMT- nhiều triệu chứng có 95 (54,9%) đối tượng. Nhóm BPTNMT - nguy cơ cao có 117 (67,6 %) đối tượng. Đa số BN BPTNMT trong nghiên cứu này có nguy cơ cao, nhiều triệu chứng.

4.1.7 Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi ở 4 nhóm nghiên cứu

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 từ cao xuống thấp theo thứ tự là: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc > (2) nhóm BPTNMT- không hút thuốc > (3) nhóm khỏe- hút thuốc > (4) nhóm khỏe- không hút thuốc (Bảng 3.9), $p=0,001$ cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là không đồng nhất ở các nhóm, liên quan với bệnh lý BPTNMT và khói thuốc lá.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự: (1) Nghiên cứu của Peng Qu (2009) [107] cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm BPTNMT - hút thuốc > nhóm BPTNMT - không hút thuốc > nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng), (2) nghiên cứu của Gilowska Iwona (2019) [51] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc 2,12 lần, và proteinase MMP-12 của nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng 1,94 lần, $p < 0,0001$.

4.2 KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHÓI THUỐC LÁ VỚI BIỂU HIỆN GEN MMP-12 DẪN ĐẾN BPTNMT

4.2.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT -

chung so với nhóm khỏe - chung

Nhóm BPTNMT - chung (gồm: nhóm BPTNMT- hút thuốc và không hút thuốc) có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn so với nhóm khỏe - chung (gồm: nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc) 1,95 lần, $p = 0,001$ (Bảng 3.10); cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở người mắc bệnh BPTNMT so với người khỏe mạnh. Biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở phổi BN BPTNMT là cơ sở để góp phần giải thích về tình trạng viêm, tắc nghẽn mạn tính luôn tiến triển.

Ở trong nước, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT để so sánh.

Ở nước ngoài, cho đến nay, các nghiên cứu đều kết luận có sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 và / hoặc proteinase MMP-12 ở người bệnh BPTNMT và người khỏe có hút thuốc lá dai dẳng.

Đáng chú ý là, đến nay, hầu hết các nghiên cứu ở nước ngoài về MMP-12 là nghiên cứu cùng một lúc nhiều loại gen có liên quan đến cơ chế bệnh sinh mất cân bằng proteinase - antiproteinase. Các tác giả nước ngoài thường nghiên cứu các gen sản xuất ra proteinase là gen MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, MMP-12...cùng lúc với các gen sản xuất ra antiproteinase là gen TMP1, 2, 3, 4, $\alpha 1$ - Antitrypsin...và thường thiết kế Realtime RT-PCR với định lượng tuyệt đối. Bước đầu, do điều kiện của Phòng Y Sinh Học Phân Tử ĐHYD TPHCM, nên chúng tôi chỉ thực hiện nghiên cứu trên một loại gen MMP-12 (nghiên cứu chỉ trên 1 gen MMP-12 và định lượng tương đối là hạn chế trong đề tài này)

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với các nghiên cứu: (1) Nghiên cứu của tác giả Annelie (2016) [14] cho thấy nồng độ MMP -12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng, $p= 0,005$, (2) Nghiên cứu của Aggarwal (2017) [127] cho thấy nồng độ MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng, $p< 0,001$, (3) nghiên cứu của Wengdong (2019) [137] cho thấy biểu hiện mRNA MMP-12 ở BN BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng, $p= 0,0067$, (4) nghiên cứu của Gilowska (2019) [51] cho thấy nồng độ MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng, $p< 0,0001$, (9) nghiên cứu của Kraen (2019) [85] cho thấy nồng độ MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng, $p< 0,0001$.

Tuy nhiên, trong lâm sàng, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm còn gặp trong các các trạng thái bệnh lí của đường hô hấp như: hen [104], ung thư tuyến ở phổi, ung thư tế bào vẩy ở phổi [107],... và ngay cả ở những người hút thuốc lá dai dẳng [115], [143]. Vì vậy, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm chỉ là yếu tố nguy cơ để hướng tới chẩn đoán BPTNMT và cần chẩn đoán phân biệt với các bệnh lí khác có gia tăng biểu hiện gen MMP-12. Nói cách khác, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở đàm là điều kiện cần trong chẩn đoán BPTNMT, nhưng chưa là điều kiện đủ để kết luận đối tượng mắc bệnh BPTNMT.

4.2.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc 3,63 lần, $p=0,0001$ (Bảng 3.11), cho thấy BN BPTNMT luôn có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm, và đặc biệt là nhóm BPTNMT - hút thuốc lá có biểu hiện gen MMP-12 trong đàm cao nhất (Bảng 3.9). Điều này, cho thấy gen MMP-12 có vai trò liên quan đến BPTNMT và cũng cho thấy yếu tố nguy cơ khói thuốc lá có liên quan mức độ biểu hiện gen MMP-12.

Kết quả nghiên cứu này tương tự với các kết quả nghiên cứu của các tác giả nước ngoài, mà chúng tôi vừa trình bày ở Mục 4.2.1.

4.2.3 So sánh biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc lá so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,16 lần, $p = 0,001$ (Bảng 3.12), cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở BN BPTNMT- không hút thuốc cũng như ở BN BPTNMT- hút thuốc (kết hợp Bảng 3.11 và 3.12)

Kết quả này góp phần giải thích tình trạng vì sao có những người không hút thuốc lá nhưng vẫn mắc bệnh BPTNMT. Lí do là, những người BPTNMT- không hút thuốc này đã có sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi dẫn đến phá hủy chất nền ở phế nang (elastin, collagen), ở đường dẫn khí nhỏ dẫn đến BPTNMT.

Kết quả biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm BPTNMT -

không hút thuốc lá cho thấy bên cạnh yếu tố nguy cơ chính là khói thuốc lá, còn có các yếu tố nguy cơ khác như: khói bụi, phân tử độc hại, khí độc hại... đã tương tác với các yếu tố gen, biến thể gen trong cơ thể dẫn đến kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm.

4.2.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc lá so với nhóm khỏe - không hút thuốc lá (nhóm chứng).

Mức độ biểu hiện gen ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,05 lần, $p = 0,001$ (Bảng 3.16), cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở các đối tượng hút thuốc lá dai dẳng. Mặc dù, đối tượng là người khỏe mạnh (chưa bệnh BPTNMT), nhưng khi đối tượng này hút thuốc lá dai dẳng sẽ dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi dẫn đến viêm mạn tính, tái cấu trúc đường thở và dẫn đến BPTNM. Kết quả này bằng chứng để khuyên những người hút thuốc lá ngưng hút thuốc lá.

Kết quả nghiên cứu cho thấy vai trò của khói thuốc lá trong BPTNMT. Bước đầu, khói thuốc lá kích hoạt đại thực bào, tế bào cơ trơn, nguyên bào sợi dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, dẫn đến tình trạng tắc nghẽn sớm đường dẫn khí nhỏ ($FEF_{25-75\%} - dự đoán < 0,6$) và sau cùng là dẫn đến BPTNMT.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự: (1) Nghiên cứu của Woodruff (2005) [143], (2) Nghiên cứu của Demedts (2006), (3) Nghiên cứu của Ilumets (2007) [68] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc tăng cao so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng), $p < 0,04$.

Có khả năng là ở đối tượng nhóm khỏe - hút thuốc lá bị phơi nhiễm khói thuốc lá trong thời gian dài, Vì vậy, họ có $FEF_{25-75\%} = 0,49 \pm 0,12$ và $FEV1/FVC = 0,72 \pm 0,10$ (Bảng 3.5) cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

Tóm lại, kết quả mức biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc tăng cao so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,05 lần, $p = 0,001$ cho thấy khói thuốc lá là tác nhân chính kích hoạt các tế bào chức năng dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi.

4.2.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút

thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

Cả 2 nhóm trên đều thuộc nhóm có hút thuốc lá. Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc không khác biệt so với nhóm khỏe - hút thuốc, $p = 0,077$ (Bảng 3.13). Kết quả trên cho thấy khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ chính dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, bằng chứng là cả 2 nhóm đối tượng trên đều có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi.

Tuy nhiên, nhóm khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu này chưa mắc bệnh BPTNMT (nhóm khỏe - hút thuốc có $FEV1/FVC = 0,72 \pm 1,10$ (Bảng 3.5)). Kết quả này cho thấy có khả năng là, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong phổi ở người hút thuốc lá chưa đủ các điều kiện về bệnh sinh dẫn đến BPTNMT.

Mặc dù, nhóm BPTNMT- hút thuốc và nhóm khỏe - hút thuốc đều có gia tăng biểu hiện MMP-12 tăng cao, $p < 0,05$. Các đối tượng nhóm BPTNMT - hút thuốc có triệu chứng lâm sàng của tắc nghẽn đường dẫn khí. Ngược lại, các đối tượng ở nhóm khỏe - hút thuốc vẫn chưa mắc bệnh. Điều này, cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có thể có mang yếu tố gen, biến thể gen (genetic variation) bảo vệ cơ thể với BPTNMT. Có thể là, các biến thể gen đã kích hoạt hệ thống gen có vai trò sản xuất ra các antiproteinase (ví dụ: các gen TIMP 1,2,3,4, $\alpha 1$ antitrypsin...) Vì vậy, cơ thể vẫn còn đảm bảo tương đối sự cân bằng giữa proteinase - antiproteinase. Do đó, họ vẫn chưa mắc bệnh BPTNMT.

Các nghiên cứu gần đây đã đề cập đến yếu tố gen bảo vệ cơ thể với bệnh BPTNMT và yếu tố gen nhạy cảm với BPTNMT: (1) nghiên cứu của Wei Chen (2015) [29] cho thấy có 2 ổ gen nhạy cảm BPTNMT là ổ gen KLHL7/NUPL2 và ổ gen DLG2; (2) nghiên cứu của Sorheim (2010) [123], và (3) nghiên cứu DeMeo (2007) [38] cho thấy yếu tố gen nhạy cảm với BPTNMT là E1- rs8192287 và I1- rs9192288 ; (4) nghiên cứu của Yamada (2000) [150] tìm thấy biến thể gen ở vùng khởi động của gen HMOX-1, nhạy cảm với khí phế thũng; (5) nghiên cứu của Yuan (2017) [154] cho thấy có 5 ổ gen nhạy cảm với BPTNMT là: gen 4q31 (HHIP),

gen 15q25 (CHRNA5), gen 4q13 (SHOWAHB), 8q24 (TRAPPC9) và 10p12 (KIAA1462) .

Ngược lại, cũng có thể là ở nhóm khỏe - hút thuốc có mang yếu tố gen, biến thể gen có tính bảo vệ cơ thể với BPTNMT. Các yếu tố gen, biến thể gen có tính bảo vệ cơ thể đã được tìm thấy trong các nghiên cứu: (1) nghiên cứu của Klaus (2006) [77] cho biết ở gen SOD3 khi có sự xuất hiện biến thể gen R213G là tạo ra các yếu tố gen bảo vệ cơ thể với bệnh BPTNMT. (2) nghiên cứu của Young [152] cho thấy biến thể gen R213G ở gen SOD3 có khả năng giảm nguy cơ phát triển BPTNMT, tần số biến thể R213G của gen SOD3 tăng cao ở người khỏe mạnh - hút thuốc so với người BPTNMT. (3) nghiên cứu của Gilowska (2019) [51] chứng minh rằng biến thể gen MMP-12 là alen - 82G của SNP rs2276109 làm giảm biểu hiện gen MMP-12, giúp giảm nguy cơ mắc bệnh BPTNMT ở trẻ nhỏ bị hen và người lớn hút thuốc lá” [77], [152]. Các nghiên cứu cho biết $\alpha 1$ antitrypsin là antiproteinase; Vì vậy, sự khiếm khuyết gen $\alpha 1$ AT dẫn đến BPTNMT [16], [22].

4.3 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI BIỂU HIỆN LÂM SÀNG, VÀ VỚI ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH Ở NHÓM BN BPTNMT

4.3.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc.

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc cao hơn so với BPTNMT - ngưng hút thuốc, $p=0,001$ (Bảng 3.18), Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy việc ngưng hút thuốc đã làm giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi.

Kết quả nghiên cứu trên tương tự với nghiên cứu của Wallace (2008) [133], tác giả Wallace kết luận: nồng độ MMP-12 cao hơn trong đại thực bào ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc

Kết quả nghiên cứu cho thấy ngưng hút thuốc lá là một trong những biện pháp hữu hiệu giúp giảm biểu hiện gen MMP-12. Từ đó, giảm mức độ triệu chứng, tần số, mức độ nặng đợt cấp, cải thiện sức khỏe.

4.3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn GOLD I, II, III, IV

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm đối tượng GOLD I, GOLD II, GOLD III, GOLD IV, $p = 0,005$ (Bảng 3.19), và mức độ biểu hiện gen MMP-12 từ cao xuống thấp lần lượt là GOLD IV > GOLD III > GOLD II > GOLD I, $p = 0,005$.

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm tương quan thuận với mức độ tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV, $r = 0,631$, $p = 0,001$. Như vậy, kết quả này cho thấy biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm càng cao tương ứng với giai đoạn tắc nghẽn (GOLD) càng nặng.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả nghiên của Chaudhuri (2012) [115] cho thấy nồng độ MMP-12 và hoạt tính gen MMP-12 ở tế bào đàm BN BPTNMT có liên quan trực tiếp với mức độ nặng của bệnh khí thũng (được đo bằng CT Scan).

Như vậy, có thể là xét nghiệm đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm để tiên đoán giai đoạn nặng tắc nghẽn của BN BPTNMT. Từ đó, giúp tiên đoán kiểu hình lâm sàng, nhằm góp phần giúp điều trị BPTNMT tốt hơn.

4.3.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng cao hơn so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng 2,53 lần, $p = 0,001$ (Bảng 3.21), Như vậy, biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong đàm ở nhóm BPTNMT- nhiều triệu chứng là một dấu hiệu có thể có ích trong lâm sàng. Có thể là, xét nghiệm đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm để giúp tiên đoán được mức độ triệu chứng của BN BPTNMT và để góp phần điều trị BPTNMT tốt hơn.

4.3.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 nhóm BPTNMT - nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT - nguy cơ thấp.

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nguy cơ cao tăng cao hơn so với nhóm BPTNMT- nguy cơ thấp 2,17 lần, $p = 0,001$

(Bảng 3.22). Như vậy, biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong đàm ở nhóm BPTNMT- nguy cơ cao là một dấu hiệu có thể có ích trong lâm sàng. Có thể là, xét nghiệm đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm để giúp tiên đoán được mức độ nguy cơ của bệnh nhân BPTNMT. Từ đó giúp góp phần cho tiên đoán kiểu hình lâm sàng và góp phần cho điều trị BPTNMT tốt hơn.

4.4 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI DẤU HIỆU SỚM CỦA TẮC NGHẼN ĐƯỜNG DẪN KHÍ NHỎ

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc- có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ($< 2\text{mm}$) cao hơn so với nhóm khỏe- hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 1,87 lần, $p = 0,001$ (Bảng 3.25). Điều này cho thấy gen MMP-12 liên quan với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm đối tượng – có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, và có tương quan thuận giữa biểu hiện gen MMP-12 với mức độ tắc nghẽn nhỏ sớm, $r = 0,524$, $p = 0,001$ (Bảng 3.24). Kết quả này cho thấy có thể xem MMP-12 như là một chỉ dấu sinh học, có thể hữu ích trên lâm sàng. Có thể là, xét nghiệm Realtime RT- PCR đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở những người khỏe - hút thuốc lá để giúp phát hiện ra đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, góp phần cùng với kết quả phế dung kí trong việc chẩn đoán các đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở người hút thuốc lá dai dẳng, và là cơ sở để khuyến cáo ngưng hút thuốc lá ở những người khỏe - hút thuốc lá có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, giúp giảm tần suất BPTNMT.

Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi chỉ là nghiên cứu bước đầu với quy mô nhỏ, cần có nhiều nghiên cứu thêm nữa với quy mô lớn, để làm sáng tỏ mối liên quan mức độ biểu hiện gen MMP-12 với mức độ tắc nghẽn nhỏ sớm ở người khỏe - hút thuốc lá dai dẳng.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu vai trò biểu hiện gen Matrix Metalloproteinase-12 (MMP-12) trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính được thực hiện trên 351 đối tượng, bằng phương pháp Realtime RT- PCR với định lượng gen tương đối, kỹ thuật phát hiện SYBR Green. Chúng tôi có kết luận sau:

1. Biểu hiện gen MMP-12 được tìm thấy ở mẫu đàm kích thích của tất cả đối tượng ở các nhóm trong nghiên cứu. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 là khác biệt nhau (không đồng nhất) giữa các nhóm nghiên cứu do liên quan với bệnh lý BPTNMT và / hoặc tình trạng hút thuốc. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ thấp đến cao theo thứ tự là: nhóm khỏe - không hút thuốc < nhóm khỏe - hút thuốc < nhóm BPTNMT - không hút thuốc < nhóm BPTNMT - hút thuốc, $p = 0,001$.

2. Phơi nhiễm khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ chính kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm. Mọi liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi là rõ ràng. Tuy nhiên, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là chưa đủ điều kiện bệnh sinh để dẫn đến BPTNMT. Nói cách khác, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là không đủ tiêu chuẩn để kết luận đối tượng mắc bệnh BPTNMT.

3. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có mối liên quan thuận với mức độ nặng của bệnh nhân BPTNMT trên lâm sàng. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm càng cao, tương ứng với mức độ tắc nghẽn đường dẫn khí càng nặng và nguy cơ nặng của bệnh càng cao. Sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là chỉ dấu sinh học có thể hữu ích trên lâm sàng trong tiên đoán bệnh nặng và tiên đoán sự suy giảm FEV₁ và chức năng phổi theo thời gian. Biện pháp ngưng hút thuốc lá là một trong những biện pháp hữu hiệu làm giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, giúp giảm bớt tình trạng suy giảm chức năng phổi ở BPTNMT.

4. Xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có thể giúp phát hiện những người có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ ở những người hút thuốc lá dai dẳng. Từ đó, có cơ sở để khuyến

cáo ngưng hút thuốc ở những người này (người hút thuốc lá có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ), góp phần ngăn chặn sự tắc nghẽn nhỏ sớm tiến triển, và góp phần giảm tần suất BPTNMT.

KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu vai trò Matrix Metalloproteinase 12 (MMP-12) trong BPTNMT được xét nghiệm tại Trung Tâm Y Sinh Học Phân Tử ĐHYD là bước đầu, quy mô nhỏ, cần có nghiên cứu lớn hơn. Dựa theo kết quả nghiên cứu, chúng tôi kiến nghị.

1. Xem xét xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở người hút thuốc lá dai dẳng để phát hiện những người có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, có cơ sở để khuyến cáo những người này đến khám bệnh hô hấp định kì, nhằm giúp phát hiện sớm bệnh nhân BPTNMT, và có cơ sở để khuyến cáo ngưng hút thuốc lá ở những người này, giúp giảm tần suất BPTNMT.

2. Xem xét xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở bệnh nhân BPTNMT để tiên đoán mức độ tắc nghẽn, mức độ nguy cơ và mức độ triệu chứng của bệnh nhân BPTNMT, nhằm góp phần cho điều trị bệnh nhân BPTNMT tốt hơn.

3. Khuyến cáo ngưng hút thuốc lá ở bệnh nhân BPTNMT nhằm hạn chế biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, hạn chế sự tắc nghẽn tiến triển mạn tính ở bệnh nhân BPTNMT, giúp giảm mức độ nặng của bệnh trên lâm sàng. Khuyến cáo ngưng hút thuốc lá ở người khoẻ mạnh - hút thuốc lá nhằm phòng ngừa dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở phổi. Từ đó, giúp giảm tần suất BPTNMT.

4. Nghiên cứu sự biểu hiện các gen sản xuất antiproteinase (các gen TIMP1,2,3,4, gen alpha - 1 antitrypsin) ở nhóm đối tượng có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm (nhóm BPTNMT và ở nhóm khỏe - hút thuốc lá), để góp phần hiểu rõ hơn về sự cân bằng proteinase - antiproteinase ở các nhóm này và hiểu rõ hơn vai trò của gen MMP-12 trong BPTNMT.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Nguyễn Công Trung, Hoàng Anh Vũ, Nguyễn Thế Vinh (2018), “Xây dựng quy trình kỹ thuật Realtime PCR để khảo sát sự biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào thu từ mẫu đàm của bệnh nhân bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh, 22 (2), tr. 47-53.
2. Nguyễn Công Trung, Nguyễn Văn Trí, Lê Thị Tuyết Lan, Hoàng Anh Vũ, Nguyễn Thế Vinh (2018), “Gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào từ mẫu đàm của bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính ở người cao tuổi”, Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh, 22 (2), tr. 86-92.