

Bước đầu đánh giá mức độ biểu hiện và giá trị chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết của một số micro-RNA lưu hành tự do trong máu

Preliminary assessment of expression and diagnostic value of plasma micro-RNAs in sepsis patients

Trần Thị Liên, Ngô Tất Trung và Lê Hữu Song

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Thiết lập phương pháp định lượng miRNA lưu hành tự do trong máu ngoại vi và xác định các miRNA ứng viên để tiếp tục nghiên cứu vai trò của các miRNA ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. **Đối tượng và phương pháp:** Mô tả cắt ngang, có so sánh bệnh-chứng. Đối tượng nghiên cứu gồm 31 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết và nhóm chứng gồm 30 người khỏe mạnh. Định lượng miRNA được thực hiện bằng kỹ thuật PCR bán định lượng (realtime qPCR) sử dụng SYBERGREEN làm chất đánh dấu tại Khoa Sinh học phân tử, Bệnh viện TWQĐ 108. Có 6 miRNA được lựa chọn nghiên cứu: MiRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA 147b, miRNA-155, miRNA -223. **Kết quả:** Mức độ biểu hiện tương đối của 4 miRNA: MiRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155 và miRNA-223 ở nhóm nhiễm khuẩn huyết cao nhóm chứng là người khỏe mạnh ($p=0,000$). MiRNA-146-3p và miRNA-147b có diện tích dưới đường cong ROC lớn nhất trong chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết và người khỏe mạnh với AUC tương ứng là 0,849 và 0,868 và có thể phù hợp cho các bước đánh giá tiếp sau. **Kết luận:** Mức độ biểu hiện của 4miRs lưu hành trong huyết tương: MiRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155 và miRNA- 223 có thể là các dấu ấn sinh học tiềm năng để chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết.

Từ khóa: Nhiễm khuẩn huyết, miR-146-3p, miR-146-5p, miR 147b, miR-150, miR-155, miR 223.

Summary

Objective: To establish a quantitative method of free circulating miRNA in peripheral blood to select internal miRs and identify candidate miRs to further study the role of miRNAs in sepsis patients is to investigate the diagnostic performance of hematopoiesis specific miRNAs and/or inflammation related microRNAs in differentiating sepsis from SIRS or sepsis follow-up. **Result:** The relative expression level of 4 mir RNA: MiRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155 and miRNA-223 in the sepsis group were higher than in the healthy group ($p=0.001$). The AUC of miRNA-146-3p and miRNA-147b are the highest in the diagnosis of sepsis and healthy people with AUC of 0.849 and 0.868, respectively and can be used for further evaluation. **Conclusion:** Circulating 4 miRNAs: MiRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155 and MiRNA- 223 can be promising candidate for sepsis diagnostic definition.

Keywords: Sepsis, miRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA 147b, miRNA-150, miRNA-155, miRNA 223.

Ngày nhận bài: 01/9/2020, ngày chấp nhận đăng: 08/9/2020

Người phản hồi: Trần Thị Liên, Email: ttlien@hpmu.edu.vn - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

1. Đặt vấn đề

Nhiễm khuẩn huyết (NKH) là nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở bệnh nhân điều trị tại các đơn vị chăm sóc tích cực [1]. Việc chẩn đoán chính xác kịp thời nhiễm khuẩn huyết giúp giảm tỷ lệ tử vong của nhiễm khuẩn huyết [2]. Vì thế, cùng với phát triển các phương pháp định danh vi sinh vật trực tiếp từ bệnh phẩm, các nghiên cứu đang tập trung vào việc thiết lập các phương pháp chẩn đoán gián tiếp dựa trên sự biểu hiện bất thường của các dấu ấn sinh học.

MicroRNA (miRNA) là những RNA nhỏ, không mã hóa, có chiều dài từ 20 - 23 nucleotid, đóng vai trò quan trọng trong việc điều tiết nhiều quá trình, bao gồm cả phản ứng viêm và miễn dịch tế bào thông qua phân huỷ mRNA đích để điều chỉnh biểu hiện gen ở sinh vật có nhân tế bào [3]. Một số miRNA đã được nghiên cứu ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết đã chỉ ra các miRNA này có vai trò như một chỉ dấu sinh học để chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết như: miRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA-147b, miRNA-150, miRNA-155 và miRNA-223 [4], [5]. Tuy nhiên, kết quả của các nghiên cứu về các miRNA này còn mâu thuẫn với nhau, do vậy, tiếp tục nghiên cứu về các miRNA với vai trò là dấu ấn sinh học để chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết là rất cần thiết. Nghiên cứu được thực hiện với mục tiêu: *Sàng lọc các miRNA ứng viên có thể nghiên cứu với vai trò một chỉ dấu sinh học của nhiễm khuẩn huyết.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn đối tượng nghiên cứu

Cỡ mẫu được lựa chọn theo phương pháp thuận tiện, gồm 2 nhóm:

Nhóm bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết với 31 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết theo hướng dẫn chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết 2016 [1] và có kết quả cấy máu dương tính. Các bệnh nhân này được chẩn đoán và điều trị tại Khoa Truyền nhiễm, Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp,

Hải Phòng trong thời gian từ tháng 9 năm 2014 đến tháng 5 năm 2015, chấp nhận tham gia nghiên cứu.

Nhóm chứng gồm 30 người khỏe mạnh, tham gia hiến máu tình nguyện, không có tiền sử mắc bệnh mạn tính và tại thời điểm lấy máu không mắc bệnh cấp tính, đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ: Loại khỏi nghiên cứu bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết bệnh lý mạn tính ở giai đoạn cuối, bệnh ác tính hoặc có kết quả HbsAg dương tính, antiHCV dương tính, antiHIV dương tính. Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

Phương pháp mô tả cắt ngang, có so sánh bệnh - chứng.

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được chia làm 3 giai đoạn:

Giai đoạn 1: Sàng lọc trên cỡ mẫu nhỏ để tìm kiếm các ứng viên tiềm năng.

Giai đoạn 2: Thử nghiệm trên một cỡ mẫu đủ lớn.

Giai đoạn 3: Khẳng định giá trị của các ứng viên trên một cỡ mẫu lớn.

Trong nội dung bài báo này, chúng tôi trình bày kết quả của giai đoạn 1 của nghiên cứu.

2.2.2. Lựa chọn các ứng viên microRNAs nghiên cứu

Chúng tôi đã sử dụng các từ khóa bằng tiếng Anh như: "microRNA, sepsis, MiR, MiRNA, diagnosis, prognosis, miRNA genes base, biomarker, Septicemia, Biology", để tìm kiếm trên Pubmed, Science Research, Google scholar và lựa chọn các nghiên cứu về vai trò của microRNA trong chẩn đoán, tiên lượng nhiễm khuẩn huyết theo tiêu chí: Điểm IF > 2,0, cỡ mẫu ≥ 30 cho mỗi nhóm. Chúng tôi đã lựa chọn 06 miRNA (miRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA-147b, miRNA-150, miRNA-155, miRNA-223) có ý nghĩa nhất trong phản ứng viêm để tiến hành đo mức độ biểu hiện ở huyết tương của bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết và 03 miRs (miRNA-16, cel miRNA-39, U6SRNA) để đưa vào sàng lọc các miRNA có mức độ biểu hiện ổn định nhất làm nội chuẩn.

Bảng 1. Trình tự các acid nucleic của các miRNA

MiRNA	Trình tự gen	Chiều dài
MiRNA-16	UAGCAGCACGUAAAUAUUGGCG	22
MiRNA-39	AGGUGCUCCAGGCUGGCUCACA	22
U6SRN	GCCATGCTAATCTTCTCTGTATC	23
MiRNA-146a-3p	CCUCUGAAAUUCAGUUCUUCAG	22
MiRNA-146a-5p	UGAGAACUGAAUCCAUGGGUU	22
MiRNA-147b	GUGUGCGGAAUAGCUUCUGCU	21
MiRNA-150	UCUCCCAACCCUUGUACCAGUG	22
MiRNA-155	UUA AUGCUAAUCGUGAUAGGGGUU	23
MiRNA-223	CGUGUAUUUGACAAGCUGAGUU	22

2.2.3. Lấy bệnh phẩm máu

Thu thập bệnh phẩm máu và lưu trữ

Các mẫu máu của bệnh nhân được thu thập trong vòng 24 giờ kể từ khi được chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết và đựng trong ống EDTA K2 và được ly tâm 5000 vòng trong 5 phút ở nhiệt độ phòng, sau đó huyết tương được hút sang ống Ependor và giữ ở -20°C để chuẩn bị cho quá trình tách chiết ARN, tổng hợp cDNA và thực hiện phản ứng qRT PCR để đo mức độ biểu hiện tương đối của các miRNA [6].

Định lượng miRNA bằng phương pháp quantitative real-time-PCR

Mỗi: Chúng tôi sử dụng cặp mỗi xuôi và mỗi ngược được thiết kế đặc hiệu bởi khoa SHPT cho các miRNA: MiRNA-16, miRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA-147b, miRNA-150, miRNA-155, miRNA-223.

Thành phần phản ứng: Master mix SYBR luminar: 5µl, Primer mix - FR: 1µl/ miRNA (miRNA-16, miRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-150, miRNA-155, miRNA-223), cDNA: 5µl.

Chu trình nhiệt chạy SYBR, 45 cycles: 50°C - 2 phút, 95°C - 10 phút, 95°C - 15 giây, 58°C - 1 phút, 95°C - 15 giây, 60°C - 1 phút, 95°C - 15 giây.

Mỗi mẫu xét nghiệm được lặp lại 2 lần và lấy kết quả trung bình cộng để nghiên cứu. Mức độ biểu hiện của các miRNA được định lượng tương đối trên hệ thống máy Agilent. Công thức tính mức độ biểu hiện tương đối của miRNA bệnh.

Công thức tính mức độ biểu hiện tương đối của miRNA:

$$\text{MiRNA} = 2^{-\Delta\text{Ct}} (\Delta\text{Ct} = \text{Ct}_{\text{miRNA NC}} - \text{Ct}_{\text{miRNA-16}})$$

Trong đó: CtmiRNA NC là chu kỳ ngưỡng của các miRNA nghiên cứu (miRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA-147b, miRNA-150, miRNA-155, miRNA-223), CtmiRNA-16: Chu kỳ ngưỡng của miRNA nội chuẩn, ở đây là miRNA-16.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được quản lý và phân tích bằng phần mềm thống kê y học SPSS phiên bản 18.0. Các kiểm định được coi là có ý nghĩa khi giá trị $p < 0,05$.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm chung của 2 nhóm nghiên cứu

Nghiên cứu của chúng tôi gồm có 31 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết và 30 người khỏe mạnh làm nhóm chứng. Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân nghiên cứu như sau:

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm nhiễm khuẩn huyết

Đặc điểm chung của nhiễm khuẩn huyết		Số lượng (n)	Tỷ lệ %
Tuổi (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)		49,03 $\pm$ 16,06	
Giới (nam)		19	61,3
Tiền sử mắc bệnh mạn tính		16	51,6
Điểm SOFA nhanh	≥ 2	14	45,2
Ổ nhiễm khuẩn ban đầu	Có	16	51,6
Bạch cầu (G/L) 4 - 10 (trung vị, tứ phân vị)		14,2 (8,2 - 18,6)	
Tiểu cầu (G/L) 150 - 400 (trung vị, tứ phân vị)		174 (95 - 286)	
Bilirubin tp ($\mu\text{mol/l}$) < 17,6 (trung vị, tứ phân vị)		15 (9,2 - 41)	
Creatinin ($\mu\text{mol/l}$) < 120 (trung vị, tứ phân vị)		73,05 (68,7 - 86,3)	
CRP (mg/l) < 6 (trung vị, tứ phân vị)		77,0 (27,4 - 220,8)	
PCT (ng/dl) < 0,05 (trung vị, tứ phân vị)		2,3 (0,35 - 11,3)	
Điểm SOFA (trung vị, tứ phân vị)		2 (2 - 4)	
Tác nhân được phân lập	Vi khuẩn Gram âm	17	54,8
	Vi khuẩn Gram dương	14	45,2
Sốc nhiễm khuẩn	Có	2	9,1
Kết quả điều trị	Tử vong	4	12,9

Nhận xét: Tuổi trung bình của nhóm bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết là 49,03 $\pm$ 16,06 tuổi, giới nam chiếm > 60%. Tỷ lệ có ổ nhiễm khuẩn ban đầu là 51,6%. Điểm SOFA trung bình là 2 (2 - 4), PCT trung bình là 2,3 (0,35 - 11,3). Tỷ lệ cấy máu dương tính 100%, vi khuẩn Gram âm chiếm 54,8%. Tỷ lệ tử vong của bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu là 12,9%.

3.2. Kết quả định lượng miRNA

Mức độ biểu hiện của các miRNA nội chuẩn

Dựa vào các nghiên cứu trước đó và ngân hàng MiR database, chúng tôi đã lựa chọn 3 miRs: MiR-16, U6SRn, miR-39 làm miR nội chuẩn và tiến hành đo chu kỳ ngưỡng của 3 miRs trên nhóm nhỏ gồm 10 mẫu người khỏe mạnh và 10 mẫu bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết, kết quả thể hiện ở Bảng 2 dưới đây:

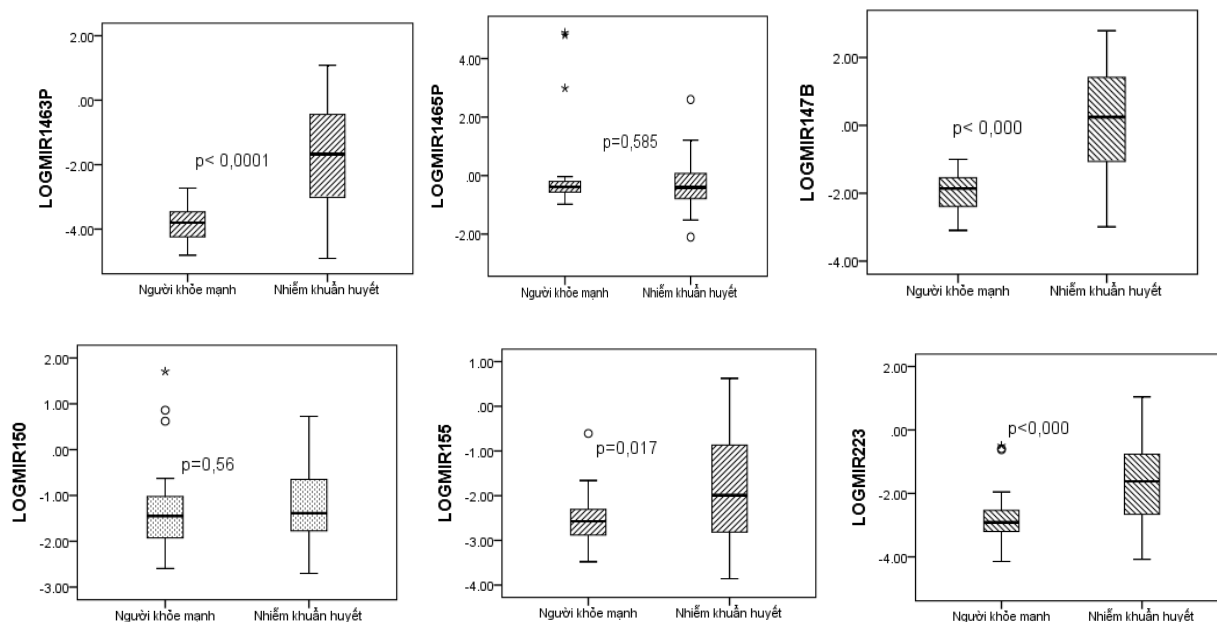
Bảng 2. Chu kỳ ngưỡng của các miR nội chuẩn được lựa chọn

MiRNA (Ct)	Người khỏe mạnh (n = 10) Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	NKH (n = 10) Trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn	p
U6sRNA	37,76 $\pm$ 2,68	33,35 $\pm$ 2,70	0,1
MiRNA-16	27,20 $\pm$ 2,59	29,27 $\pm$ 2,18	0,087
MiRNA-39	18,94 $\pm$ 3,09	23,14 $\pm$ 6,93	0,002

Nhận xét: MiRNA-16 và U6sRNA có chu kỳ ngưỡng tương đối ổn định giữa nhóm nhiễm khuẩn huyết và người khỏe mạnh với $p > 0,05$. MiRNA-39 có chu kỳ ngưỡng ở nhóm nhiễm khuẩn huyết thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với chu kỳ ngưỡng ở nhóm người khỏe mạnh ($p = 0,002$).

Mức độ biểu hiện của các miRNA nghiên cứu

Với nội chuẩn là miRNA-16, chúng tôi đã định lượng tương đối 6 miRNA ứng viên đã nêu trên cỡ mẫu lớn hơn và tiến hành phân tích. Kết quả mức độ biểu hiện của các miRNA ở 2 nhóm nhiễm khuẩn huyết-người khỏe mạnh như sau:

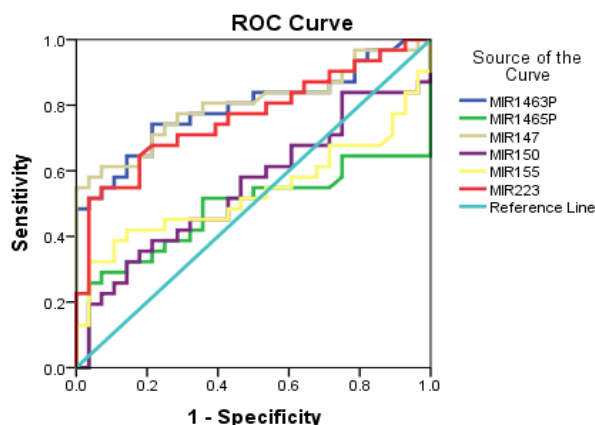


Biểu đồ 1. Mức độ biểu hiện tương đối so với nội chuẩn miRNA-16 của 6 miRNA ở nhóm nhiễm khuẩn huyết và người khỏe mạnh

Nhận xét: Mức độ biểu hiện tương đối của 4 miRNA: miRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155, miRNA-223 ở nhóm nhiễm khuẩn huyết cao hơn có ý nghĩa so với nhóm người khỏe mạnh với $p < 0,001$. Không thấy sự khác biệt về mức độ biểu hiện giữa nhóm người khỏe mạnh và bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết ở miRNA-146-5p và miRNA-150 ($p > 0,05$).

Vai trò của các miRNA trong chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết

Kết quả mô hình chẩn đoán ROC và diện tích dưới đường cong AUC như sau:



Biểu đồ 2. Mô hình chẩn đoán phân biệt nhiễm khuẩn huyết với người khỏe mạnh

Bảng 3. Mô hình chẩn đoán phân biệt nhiễm khuẩn huyết với người khỏe mạnh

MiRNA	Area	p	Điểm cắt	Độ nhạy %	Độ đặc hiệu %
MiRNA-146-3p	0,849	<0,01	0,0009	76,3	93,0%
MiRNA-146-5p	0,484	0,81	1,712	25,8	96,4%
MiRNA-147b	0,868	<0,01	0,0868	76,3	97,7%
MiRNA-150	0,537	0,56	0,216	32,3	85,7%
MiRNA-155	0,661	0,01	0,00795	52,6	86,0%
MiRNA-223	0,780	<0,01	0,00478	68,4	86,0%

Nhận xét: Tại điểm cắt 0,0009, miRNA-146-3p có khả năng phân biệt nhiễm khuẩn huyết tốt với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 76,3% và 93,0% với diện tích dưới đường cong 0,849 ($p < 0,01$). Tại điểm cắt 0,087, miRNA-147b có khả năng phân biệt nhiễm khuẩn huyết tốt với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 76,3% và 97,7% với diện tích dưới đường cong 0,868 ($p < 0,01$). Tại điểm cắt 0,008, miRNA-155 có khả năng phân biệt nhiễm khuẩn huyết với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 52,6% và 86,0% với diện tích dưới đường cong 0,661 ($p < 0,05$). Tại điểm cắt 0,005, miRNA-223 có khả năng phân biệt nhiễm khuẩn huyết với độ nhạy và độ đặc hiệu tương ứng là 68,4% và 86,0% với diện tích dưới đường cong 0,78 ($p < 0,01$).

Hai miRNA: miRNA-146-5p và miRNA-150 có giá trị kém trong chẩn đoán phân biệt bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết với người khỏe mạnh với AUC $\approx 0,5$, $p > 0,05$.

4. Bàn luận

4.1. MiRNA-16 phù hợp làm miRNA nội chuẩn trong định lượng mức độ biểu hiện tương đối của các miRNA huyết tương ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết

Kết quả Bảng 2 cho thấy, không có sự khác biệt về chu kỳ ngưỡng của miRNA-16 và U6sRNA ở nhóm bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết và người khỏe mạnh. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Fabian Benz về U6SRNA, tác giả này đã chứng minh rằng, mức độ biểu hiện của U6sRNA lưu hành trong huyết thanh của bệnh nhân mắc bệnh hiểm nghèo và nhiễm trùng huyết có sự khác biệt đáng kể so với nhóm chứng và nhóm có hội chứng đáp ứng viêm và kết luận U6sRNA không phù hợp làm miRNA nội chuẩn

[3]. Trong một nghiên cứu khác, tác giả Lange Tim đã nghiên cứu và khẳng định miRNA-16 là gen tham chiếu nội sinh ổn định và phù hợp nhất trong bộ dữ liệu về miR nội chuẩn mà nhóm nghiên cứu đã sàng lọc [8]. Từ đó, chúng tôi nhận thấy miRNA-16 là lựa chọn phù hợp để làm miR nội chuẩn vì giá trị chu kỳ ngưỡng ổn định, không thay đổi giữa các nhóm bệnh và nhóm chứng, đồng thời, tín hiệu chu kỳ ngưỡng cao hơn so với U6sRNA. MiRNA-39 mặc dù có tín hiệu chu kỳ ngưỡng sớm nhưng khác biệt giữa các nhóm nghiên cứu. Với nội chuẩn được lựa chọn là miRNA-16, chúng tôi đã định lượng tương đối biểu hiện của 6 miRNA ứng viên và phân tích theo mục đích nghiên cứu.

4.2. Mức độ biểu hiện của 4 miRNA: miRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155, miRNA-223 trong huyết tương bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết cao hơn người khỏe mạnh

Chúng tôi đưa vào phân tích mức độ biểu hiện tương đối của 6 miRNA gồm: miRNA-146-3p, miRNA-146-5p, miRNA 147b, miRNA-150, miRNA-155 và miRNA-223 lưu hành tự do trong huyết tương của 31 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết và 30 người khỏe mạnh làm nhóm chứng với nội chuẩn được lựa chọn là miRNA-16.

Kết quả cho thấy, miRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155 và miRNA-223 có mức độ biểu hiện trong huyết tương bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết cao hơn có ý nghĩa thống kê so với trong huyết tương người khỏe mạnh. Trong khi đó, mức độ biểu hiện của miRNA-146-5p và miRNA-150 lại không có sự khác biệt về mức độ biểu hiện giữa hai nhóm này.

Kiểm định Spearman cũng được sử dụng để tìm kiếm mối liên quan giữa tuổi của bệnh nhân nghiên cứu với mức độ biểu hiện của các miRNA, với giá trị

$p > 0,05$, chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa tuổi của bệnh nhân với mức độ biểu hiện của miRNA.

Chẩn đoán và đánh giá mức độ các nhiễm trùng huyết sớm là rất quan trọng để điều trị kịp thời hội chứng phức tạp này. Ngoài cấy máu được coi là “tiêu chuẩn vàng” để phân biệt nhiễm khuẩn từ các bệnh không truyền nhiễm khác, các nghiên cứu tìm kiếm và xác định các dấu ấn sinh học lý tưởng cho chẩn đoán và tiên lượng nhiễm khuẩn huyết vẫn luôn được tiếp tục. Các dấu ấn sinh học hiện có như CRP, cytokine và chemokine đều chưa đủ mạnh để chẩn đoán xác định một nhiễm khuẩn huyết. Trước đây, vào năm 2012, nồng độ procalcitonin được khuyến cáo là một trong những tiêu chuẩn chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết [9], tuy nhiên, đến năm 2016, hướng dẫn chẩn đoán mới của Hội nghị đồng thuận bàn về định nghĩa nhiễm khuẩn huyết và sốc nhiễm khuẩn lần thứ 3 (Sepsis-3) đã không đưa PCT vào hướng dẫn chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết do vai trò của procalcitonin trong việc phân biệt nhiễm trùng huyết từ SIRS không do nhiễm trùng vẫn chưa rõ ràng [1]. Gần đây, mức độ biểu hiện của miRNA trong huyết thanh được nghiên cứu với vai trò là chỉ dấu sinh học của nhiễm khuẩn huyết. Jia-feng Wang và cộng sự đã xác định mức độ biểu hiện của miRNA: miRNA-146-3p, miRNA- và miRNA-223 trong nhóm nhiễm trùng huyết cao hơn đáng kể so với nhóm chứng là những người khỏe mạnh và bệnh nhân SIRS không do nhiễm trùng [4]. Hai miRNA này có thể coi như là chỉ dấu sinh học tiềm năng và cần được đánh giá thêm trong chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết. Trong nghiên cứu của chúng tôi, mức độ biểu hiện của miRNA-223 ở những bệnh nhân nhiễm trùng huyết tăng cao so với nhóm người khỏe mạnh. Một vài nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng miRNA-223 có thể được sử dụng để chẩn đoán phân biệt bệnh nhân nhiễm trùng huyết. MiRNA-155 có thể điều chỉnh làm tình trạng viêm nặng hơn trong nhiễm khuẩn huyết. Mức độ biểu hiện của miRNA-155 tăng lên ở những bệnh nhân nhiễm trùng huyết có xu hướng tăng vào giai đoạn cuối của nhiễm khuẩn huyết [10].

MiRNA 147 đóng vai trò rất quan trọng trong phản ứng viêm như tham gia vào quá trình dung

nạp nội độc tố LPS, kích thích sản xuất TLR-4, làm giảm phản ứng viêm của đại thực bào khi có vi sinh vật xâm nhập [5]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấy, mức độ biểu hiện của miRNA 147 trong huyết tương ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết cao hơn so với người khỏe mạnh. Do vậy, chúng tôi kỳ vọng có thể sử dụng các miRs này trong chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết để có thể giúp ích cho điều trị bệnh nhân sớm.

5. Kết luận

Bước đầu, chúng tôi đã sàng lọc và lựa chọn được 4 miRNA nghiên cứu: miRNA-146-3p, miRNA-147b, miRNA-155 và miRNA-223 và nội chuẩn là miRNA-16 để là ứng viên phù hợp để tiếp tục nghiên cứu với vai trò là dấu ấn sinh học hỗ trợ chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết ở giai đoạn tiếp theo.

Lời cảm ơn

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển khoa học và công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) trong đề tài mã số 108.06-2017.21 (Chủ nhiệm đề tài PGS.TS. Lê Hữu Song) .

Tài liệu tham khảo

1. Singer M et al (2016) *The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)*. Jama 315(8): 801-810.
2. Kumar A et al (2006) *Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock*. Crit Care Med 34(6): 1589-1596.
3. Lee RC, Feinbaum RL, and Ambros V (1993) *The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14*. Cell 75(5): 843-884.
4. O'Neill LA, Sheedy FJ, and McCoy CE (2011) *MicroRNAs: the fine-tuners of Toll-like receptor signalling*. Nat Rev Immunol 11(3): 163-175.
5. Liu G et al (2009) *miR-147, a microRNA that is induced upon Toll-like receptor stimulation, regulates murine macrophage inflammatory responses*. Proc Natl Acad Sci USA 106(37): 15819-15824.

6. Chen C et al (2005) *Real-time quantification of microRNAs by stem-loop RT-PCR*. Nucleic Acids Res 33(20): 179.
7. Benz F et al (2013) *U6 is unsuitable for normalization of serum miRNA levels in patients with sepsis or liver fibrosis*. Exp Mol Med 45: 42.
8. Lange T et al (2017) *Identification of miR-16 as an endogenous reference gene for the normalization of urinary exosomal miRNA expression data from CKD patients*. PLoS One 12(8): 0183435.
9. Briegel J and Mohnle P (2013) *International guidelines of the surviving sepsis campaign: update 2012*. Anaesthesist 62(4): 304-309.
10. Liu J et al (2015) *Elevated miR-155 expression induces immunosuppression via CD39(+) regulatory T-cells in sepsis patient*. Int J Infect Dis 40: 135-141.