

Nghiên cứu vai trò của microRNA huyết tương trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết điều trị tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 và Bệnh viện hữu nghị Việt Tiệp Hải Phòng (2014-2017)

The role of microRNAs as potential biomarkers in the prognosis of shock in septic patients treated at the 108 Military Central Hospital and Viet Tiep Hospital from 2014 to 2017

Trần Thị Liên, Ngô Tất Trung,
Vũ Viết Sáng, Lê Hữu Song

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,

Tóm tắt

Mục tiêu: Nghiên cứu vai trò tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết của 4 microRNA huyết tương (microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155 và microRNA-223). **Đối tượng và phương pháp:** 71 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 và Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp Hải Phòng trong thời gian từ tháng 11/2014 đến tháng 7/2017. Mức độ biểu hiện tương đối của các microRNA trong huyết tương bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết được định lượng bằng phương pháp q-RT-PCR tại Khoa Sinh học phân tử, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108. Diện tích dưới đường cong AUC ROC được sử dụng để ước tính giá trị của các microRNA trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. **Kết quả và kết luận:** Mức độ biểu hiện của 4 microRNA: MicroRNA-146a, microRNA-147b, microRNA-155 và microRNA-223 lưu hành trong huyết tương bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có sốc cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không sốc ($p < 0,05$). Chỉ có 3 microRNA (MicroRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-223) có khả năng tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết với $AUC \geq 0,70$ ($p < 0,05$).

Từ khóa: Nhiễm khuẩn huyết, sốc nhiễm khuẩn, microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155, microRNA-223.

Summary

Objective: In this study, we aimed to investigate the significance of circulating microRNAs (microRNA-155, microRNA-147b, microRNA-223, microRNA-146-3p) in the prognosis of sepsis. **Subject and method:** 71 septic patients at 108 Military Central Hospital & Viet Tiep Hospital from November 2014 to July 2017 were enrolled. The expression of microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155, microRNA-223 were measured by q-RT-PCR in the Department of Molecular Biology at 108 Military Central Hospital. The ROC used to shock in prognosis in septic patients. **Result and conclusion:** The expression level of 4 microRNAs: MicroRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155, microRNA-223 in septic shock patients group was higher than in septic patients group ($p < 0.05$). The expression level of 4 microRNAs was also higher in the group without organ failure with $p < 0.05$. The prognosis value of septic shock of 3 microRNAs (microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-223) was quite good, with $AUC > 0.7$.

Ngày nhận bài: 2/9/2020, ngày chấp nhận đăng: 10/9/2020

Người phản hồi: Trần Thị Liên, Email: ttlien@hpmu.edu.vn - Bệnh viện TWQĐ 108

Keywords: Sepsis, septic shock, microRNA 146-3p, microRNA-147b, microRNA-155, microRNA-223.

1. Đặt vấn đề

Nhiễm khuẩn huyết là nguyên nhân gây tử vong phổ biến ở khoa hồi sức điều trị tích cực (ICU) và chẩn đoán sớm giúp cải thiện tiên lượng bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết. Tỷ lệ tử vong của sốc nhiễm khuẩn tăng 7,6% sau mỗi giờ trì hoãn điều trị kháng sinh [1], do vậy, chẩn đoán và tiên lượng nhiễm khuẩn huyết là vô cùng quan trọng trong công tác điều trị bệnh nhân. Các dấu ấn sinh học như C-reactive protein (CRP) và procalcitonin (PCT) đã được sử dụng trên lâm sàng để hỗ trợ tiên lượng nhiễm khuẩn huyết [2], [3], [4]. Tuy nhiên, tính đặc hiệu và độ nhạy của các dấu ấn sinh học hiện nay như CRP và PCT vẫn còn nhiều hạn chế, do đó các nghiên cứu gần đây đã gợi ý sử dụng các dấu ấn sinh học mới để bổ sung giá trị chẩn đoán và tiên lượng nhiễm khuẩn huyết, đặc biệt là sự lưu hành của micro ribonucleic acid (microRNA) huyết tương.

MicroRNA là các RNA nhỏ, không mã hóa, có chiều dài từ 20 - 23 nucleotid có mặt trong huyết thanh hoặc huyết tương với nồng độ ổn định, có chức năng điều hòa mức độ biểu hiện gen và kiểm soát chức năng tế bào nội mô và các đường truyền tín hiệu viêm. Một số nghiên cứu cho thấy vai trò của microRNA trong cơ chế bệnh sinh nhiễm khuẩn huyết cũng như sự thay đổi về mức độ biểu hiện của các microRNA này trong huyết thanh bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có sốc. Tuy vậy, xác định vai trò tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết của các microRNA vẫn chưa rõ ràng, thậm chí vẫn còn nhiều mâu thuẫn. Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: *Đánh giá vai trò của 4 microRNA (microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155, microRNA-223) huyết tương trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Gồm 71 bệnh nhân được chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết (NKH) điều trị tại Bệnh viện Trung ương

Quân đội 108 và Bệnh viện Hữu nghị Việt Tiệp trong thời gian từ tháng 11/2014 đến tháng 7/2017.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân: Theo tiêu chuẩn Hội nghị Đồng thuận Quốc tế lần thứ 3 về nhiễm khuẩn huyết (Sepsis-3): ≥ 18 tuổi, có bằng chứng nhiễm khuẩn và rối loạn chức năng tạng cấp (SOFA ≥ 2 điểm) [4] có kết quả cấy máu dương tính.

Tiêu chuẩn chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết có sốc: Bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có rối loạn vận mạch (huyết áp động mạch trung bình ≤ 65 mmHg) và rối loạn chuyển hóa tế bào (lactate huyết thanh > 2 mmol/L) (Sepsis-3).

Tiêu chuẩn loại trừ: Bệnh nhân < 18 tuổi, được truyền máu hoặc bù dịch với thể tích lớn trước khi lấy máu, không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, có so sánh 2 nhóm NKH có sốc và NKH không có sốc.

Thu thập mỗi bệnh nhân 2ml máu tách huyết tương, lưu trữ, tiến hành tách chiết ARN, tổng hợp cDNA và định lượng mức độ biểu hiện tương đối của 4 microRNA: microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155, microRNA-223 bằng phương pháp qRT-PCR theo quy trình tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

Mức độ biểu hiện microRNA được định lượng theo thời gian thực dựa trên khả năng phát màu huỳnh quang của SYBRgreen gắn trên các mạch đôi DNA được tổng hợp trong mỗi chu kỳ của phản ứng PCR. Các phản ứng được tiến hành trên máy Agilent. MicroRNA-16 được sử dụng làm gen nội chuẩn.

2.3. Thống kê và xử lý số liệu

Phương pháp $2^{-\Delta Ct}$ được sử dụng để xác định mức độ biểu hiện của microRNA:

$$\text{microRNA} = 2^{-\Delta Ct} (\Delta Ct = Ct_{\text{microRNA}} - Ct_{\text{microRNA-16}}).$$

Đối với các biến được phân phối chuẩn, kết quả được biểu diễn dưới dạng trung bình (SD) và các kết quả này được so sánh giữa các nhóm bằng kiểm định T-student. Các biến không tuân theo luật phân

phối không chuẩn được biểu diễn dưới dạng trung vị và so sánh các nhóm bằng kiểm định Mann-Whitney U. Đường cong ROC và diện tích dưới đường cong được sử dụng để ước tính xác định giá

trị tiên lượng của các microRNA trong chẩn đoán sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết.

Phân tích có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

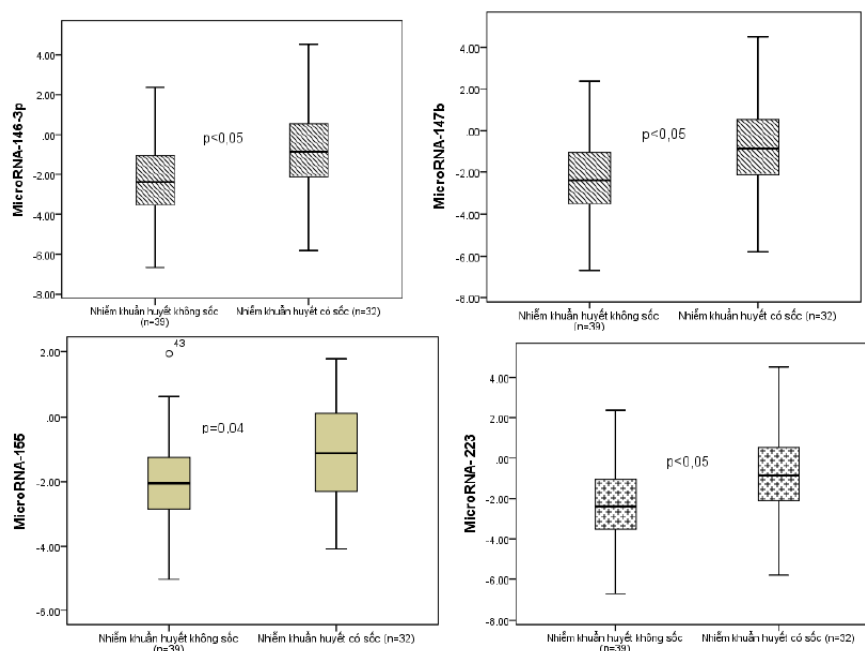
Phần mềm SPSS 21.0 được sử dụng để phân tích thống kê.

3. Kết quả

Bảng 1. Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Nhóm nghiên cứu	Nhiễm khuẩn huyết không sốc (n = 39)	Nhiễm khuẩn huyết có sốc (n = 32)	p
Tuổi (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)		53,9 $\pm$ 18,8	58,4 $\pm$ 16,0	0,19
Nam giới n (%)		31 (79,5%)	24 (75%)	0,63
Tiền sử mắc bệnh mạn tính n (%)		30 (76,9%)	30 (93,8%)	<0,05**
Cửa vào nhiễm khuẩn n (%)		33 (84,6%)	29 (90,6%)	>0,05**
Điểm SOFA (trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn)		2,6 $\pm$ 2,6	8,5 $\pm$ 3,9	<0,01*
Bạch cầu		14,8 $\pm$ 7,7	14,0 $\pm$ 11,1	0,66
PCT		30,0 $\pm$ 15,5	55,8 $\pm$ 41,3	<0,01*
Lactate		3,0 $\pm$ 3,2	6,3 $\pm$ 4,4	<0,01*
Tỷ lệ tử vong (%)		15,62%	60,97%	<0,01**

Nhận xét: Tuổi trung bình của bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết không sốc và có sốc lần lượt là 53,97 $\pm$ 18,80 và 58,46 $\pm$ 16,01, giới nam chiếm đa số, không có sự khác biệt về tuổi và giới ở hai nhóm bệnh này. Ở nhóm nhiễm khuẩn huyết có sốc tỷ lệ mắc bệnh mạn tính, điểm SOFA, PCT, lactate và tỷ lệ tử vong cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm nhiễm khuẩn huyết không sốc.



Biểu đồ 1. Mức độ biểu hiện của microRNA ở bệnh nhân nhiễm khuẩn

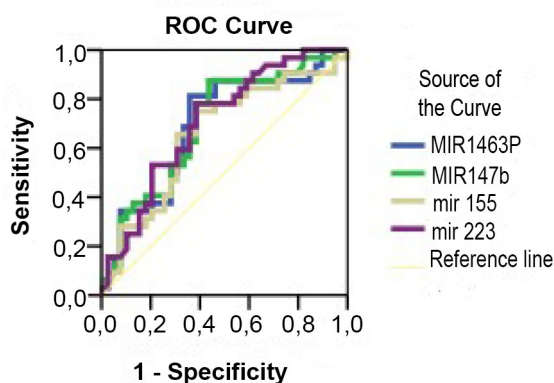
huyết có sốc và không sốc

Nhận xét: Mức độ biểu hiện của các microRNA ở nhóm nhiễm khuẩn huyết có sốc cao hơn có ý nghĩa so với nhóm nhiễm khuẩn huyết không sốc ($p < 0,05$).

Bảng 2. Độ nhạy, độ đặc hiệu của các microRNA trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết

MicroRNA	AUC	p	Điểm cắt	Độ nhạy	Độ đặc hiệu
MicroRNA-146-3p	0,70	0,004	0,0203	0,818	0,658
MicroRNA-147b	0,700	0,004	0,7152	0,879	0,579
MicroRNA-155	0,66	0,024	0,0209	0,758	0,632
MicroRNA-223	0,71	0,002	0,0054	0,788	0,632

Nhận xét: MicroRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-223 có khả năng tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết với $AUC \geq 0,70$ ($p < 0,05$).



Biểu đồ 2. Biểu đồ ROC của microRNA trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết

4. Bàn luận

Sốc là thể lâm sàng nặng nề nhất của nhiễm khuẩn huyết với tỷ lệ tử vong rất cao, đặc biệt khi chẩn đoán muộn và điều trị không kịp thời. Do vậy, việc phát hiện và tiên lượng sớm sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết vô cùng có ý nghĩa trên lâm sàng.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung vào phân tích giá trị của các microRNA trên trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết và có so sánh đối chứng với các dấu ấn sinh học được ứng dụng nhiều trên lâm sàng như: PCT, bạch cầu, lactat máu... Để thực hiện mục tiêu này, chúng tôi đã chia 71 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết thành hai nhóm: nhiễm khuẩn huyết có sốc và nhiễm khuẩn huyết không sốc. Trên cơ sở đó, chúng tôi đã so sánh mức

độ biểu hiện tương đối của 4 microRNA: microRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-155 và microRNA-223 lưu hành trong huyết tương những bệnh nhân này tại thời điểm chẩn đoán nhiễm khuẩn huyết. Cả 4 microRNA được xác định mức độ biểu hiện tương đối dựa trên nội chuẩn microRNA-16.

Kết quả cho thấy, mức độ biểu hiện của 4 microRNA này trong huyết tương bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có sốc đều tăng cao hơn có ý nghĩa so với nhóm còn lại. Kết quả so sánh nồng độ PCT, bạch cầu trong máu ngoại vi (Bảng 1) ở hai nhóm nhiễm khuẩn huyết sốc và không sốc cho thấy chỉ có nồng độ PCT ở nhóm nhiễm khuẩn huyết có sốc cao hơn nhóm nhiễm khuẩn huyết không sốc. Để xác định rõ hơn vai trò của 4 microRNA: MicroRNA-146-

3p, microRNA-147b, microRNA-155 và microRNA-223 trong tiên lượng sốc nhiễm khuẩn, chúng tôi sử dụng mô hình diện tích dưới đường cong cho cả 4 microRNA và PCT, bạch cầu máu ngoại vi và điểm rối loạn chức năng cơ quan SOFA. Kết quả cho thấy, mặc dù có sự thay đổi ý nghĩa về mức độ biểu hiện của cả 4 microRNA ở hai nhóm sốc và không sốc nhưng giá trị tiên lượng của các microRNA thấp hơn PCT. Vasques và cs nghiên cứu trên cả thực nghiệm và lâm sàng đều nhận thấy mức độ biểu hiện microRNA-155 ở nhóm nhiễm khuẩn huyết có sốc cao hơn có ý nghĩa so với nhóm nhiễm khuẩn huyết không sốc [5]. MicroRNA-146-3p, microRNA-147b và microRNA-223 là 3 microRNA có khả năng tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết ở mức khá với diện tích dưới đường cong $AUC \geq 0,70$. Kết quả này bị ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố khác như: cỡ mẫu, tiêu chuẩn chọn bệnh nhân, yếu tố về nhân chủng học, thời điểm xảy ra sốc, thời điểm lấy mẫu, các bệnh nền phối hợp... Các kết quả nghiên cứu về ý nghĩa tiên lượng sốc của các microRNA ở bệnh nhân NKH được công bố cũng cho thấy còn nhiều tranh luận. Tác giả Wang và cộng sự (2012) nghiên cứu mức độ biểu hiện của 4 microRNA ở bệnh nhân NKH không sốc và có sốc cho kết quả tương tự như chúng tôi, microRNA-223 có giá trị nhiễm khuẩn huyết có sốc với AUC 0,608 (độ nhạy 38,2%, độ đặc hiệu 83,7%) [6]. Một số nghiên cứu khác cũng chứng minh microRNA-223 tăng lên tương quan với sự tăng lên của nồng độ TNF α và mức độ nghiêm trọng của bệnh. Nghiên cứu trên 166 bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết cho thấy mức độ biểu hiện của microRNA-223 trong huyết thanh những bệnh nhân này cao hơn ở nhóm chứng là người khỏe mạnh và đáng chú ý là, cũng trong nghiên cứu này, mức độ microRNA-223 tăng cao liên quan đến mức độ nghiêm trọng của nhiễm khuẩn huyết [7]. Tuy nhiên, [Goodwin AJ](#) và cộng sự (2015) sàng lọc 13 microRNAs trong đó có microRNA-146a, microRNA-155 và microRNA-223 ở bệnh nhân NKH không sốc và có sốc lại cho thấy khả năng tiên lượng sốc của các microRNA này cần phải nghiên cứu nhiều hơn [8]. Do đó, để xác định vai trò của microRNA trong tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết cần

được tiếp tục nghiên cứu trên số lượng bệnh nhân lớn hơn.

5. Kết luận

Mức độ biểu hiện của 4 microRNA: MicroRNA-146a, microRNA-147b, microRNA-155 và microRNA-223 lưu hành trong huyết tương bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết có sốc cao hơn có ý nghĩa so với nhóm không sốc ($p < 0,05$). Chỉ có 3 microRNA (MicroRNA-146-3p, microRNA-147b, microRNA-223) có khả năng tiên lượng sốc ở bệnh nhân nhiễm khuẩn huyết với $AUC \geq 0,70$ ($p < 0,05$).

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