

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



PHẠM THỊ THÙY

**NGHIÊN CỨU TÍNH ĐA HÌNH GEN CYP2C9, VKORC1
VÀ LIỀU THUỐC CHỐNG ĐÔNG KHÁNG VITAMIN K
Ở BỆNH NHÂN THAY VAN TIM CƠ HỌC**

Chuyên ngành : Hoá sinh y học

Mã số : 62720112

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

- 1. GS.TS. TẠ THÀNH VĂN**
- 2. PGS.TS. PHẠM TRUNG KIÊN**

HÀ NỘI - 2020

LỜI CẢM ƠN

Trong suốt quá trình thực hiện đề tài này tôi đã nhận được rất nhiều sự giúp đỡ của Lãnh đạo các cơ quan, đơn vị, Thầy Cô, đồng nghiệp, các bệnh nhân, bạn bè và gia đình thân yêu của mình.

Trước hết, tôi xin bày tỏ lòng tri ân sâu sắc tới GS. TS. Tạ Thành Văn – Chủ tịch Hội đồng Trường, Nguyên Hiệu trưởng Trường Đại học Y Hà Nội, Trưởng Bộ môn Hóa sinh Đại học Y Hà Nội và PGS. TS. Phạm Trung Kiên – Phó chủ nhiệm khoa Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội, là những người thầy, người hướng dẫn khoa học, đã tận tình giúp đỡ, động viên tôi trong suốt quá trình học tập, trực tiếp hướng dẫn tôi thực hiện nghiên cứu, góp ý và sửa chữa luận án.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến quý thầy cô, đồng nghiệp, những người đã tạo mọi điều kiện, giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện luận án này:

Ban Giám Hiệu, Phòng Đào tạo Sau Đại Học, Trường Đại học Y Hà Nội.

Toàn thể quý thầy cô, cán bộ trong Bộ môn Hóa Sinh, Trường Đại học Y Hà Nội.

Toàn thể quý thầy cô, cán bộ trong Bộ môn Y dược học cơ sở, Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội.

Toàn thể bác sỹ, điều dưỡng của Khoa Xét nghiệm, Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Tim Hà Nội.

Xin được gửi lời cảm ơn đến các bệnh nhân cùng gia đình của họ đã giúp tôi có được các số liệu trong luận án này.

Xin cảm ơn bạn bè, đồng nghiệp đã giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và thực hiện luận án.

Cuối cùng, tôi xin ghi nhớ công ơn sinh thành, nuôi dưỡng và tình yêu thương của bố mẹ tôi, bố mẹ chồng tôi cùng sự ủng hộ, động viên của chồng, hai con và các anh chị em trong gia đình, những người đã luôn ở bên tôi, là chỗ dựa vững chắc để tôi yên tâm học tập và hoàn thành luận án.

Hà Nội, tháng năm 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Phạm Thị Thùy, nghiên cứu sinh khóa 35 Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Hóa Sinh Y Học, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy Tạ Thành Văn và Thầy Phạm Trung Kiên.
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày tháng năm 2020

Người viết cam đoan

Phạm Thị Thùy

CHỮ VIẾT TẮT

Từ viết tắt	Từ gốc tiếng Anh	Nghĩa tiếng Việt
ACC/AHA	American College of Cardiology/American Heart Association	Hội Tim mạch học Hoa Kỳ và Hiệp hội Tim mạch Hoa Kỳ
BMI	Body Mass Index	Chỉ số khối cơ thể
Bp	Base pair	Cặp bazơ
CYP2C9	Cytochrome P450 2C9	
DNA	Deoxyribonucleic acid	Axit deoxyribonucleic
EF		Chức năng tâm thu thất trái
HMWK	High molecular weight kininogen	Kininogen phân tử lượng cao
IDI & WPRO	International Diabetes Institute & Regional Office for the Western Pacific	Hiệp hội đái đường các nước châu Á
I359L	Isoleucine359Leucine	Đa hình tại bộ ba mã hoá 359, mã hoá Isoleucine hoặc Leucine
INR	International Normalized Ratio	Chỉ số chuẩn hóa quốc tế
ISI	International Sensitivity Index	Độ nhạy của lô thromboplastin được dùng so với thromboplastin chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới
PCR	Polymerase Chain Reaction	Phản ứng chuỗi khuếch đại gen
PTA	Plasma- thromboplastin antecedent	Tiền chất thromboplastin huyết tương
PT	Prothrombin time	Thời gian prothrombin
R144C	Arginin144Cystein	Đa hình tại bộ ba mã hoá 144, mã hoá Arginin hoặc Cystein
RNA	Ribonucleic acid	Axit ribonucleic
TTR	Time in Therapeutic Range	Thời gian trong khoảng điều trị
VKA	Vitamin K antagonists	Thuốc chống đông kháng vitamin K
TM	Transmembrane helices	Vòng xoắn xuyên màng
TF		Yếu tố tổ chức
UTR	Untranslated region	Vùng không được dịch mã
VKORC1	Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1	

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN.....	3
1.1. Tổng quan thay van tim cơ học.....	3
1.1.1. Bệnh lý van tim	3
1.1.2. Phẫu thuật thay van tim cơ học.....	4
1.2. Huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học.....	5
1.2.1. Sinh lý quá trình đông cầm máu	5
1.2.2. Cơ chế hình thành huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học...	10
1.2.3. Điều trị phòng ngừa huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học..	12
1.3. Tổng quan thuốc chống đông acenocoumarol.....	14
1.3.1. Dược lý và cơ chế tác dụng.....	14
1.3.2. Chỉ định và chống định	16
1.3.3. Điều trị thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học ...	17
1.3.4. Các yếu tố tương tác với thuốc acenocoumarol.....	20
1.4. Tổng quan gen <i>CYP2C9</i> và <i>VKORC1</i>	21
1.4.1. Đa hình đơn nucleotid.....	21
1.4.2. Tổng quan gen <i>CYP2C9</i> và mối liên quan với liều thuốc acenocoumarol	23
1.4.3. Gen <i>VKORC1</i> và mối liên quan với liều thuốc acenocoumarol	31
1.5. Tình hình nghiên cứu trên thế giới	37
CHƯƠNG 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	40
2.1. Đối tượng nghiên cứu.....	40
2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân	40
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ	40
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	40
2.2.1. Cỡ mẫu nghiên cứu	40
2.2.2. Các chỉ số, biến số nghiên cứu.....	41
2.2.3. Hóa chất và trang thiết bị nghiên cứu	43

2.2.4. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu.....	45
2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu	49
2.3.1. Địa điểm nghiên cứu.....	49
2.3.2. Thời gian nghiên cứu	49
2.4. Xử lý số liệu.....	49
2.5. Các loại sai số và cách khắc phục.....	49
2.5.1. Sai số mắc phải	49
2.5.2. Cách khắc phục sai số	50
2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu y sinh.....	50
CHƯƠNG 3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	51
3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tính đa hình gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> , <i>1173C>T</i> ở bệnh nhân thay van tim cơ học.....	51
3.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng ở nhóm nghiên cứu	51
3.1.2. Một số đặc điểm cận lâm sàng ở nhóm nghiên cứu.....	57
3.1.3. Tính đa hình gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> và <i>1173C>T</i> ở nhóm nghiên cứu	60
3.2. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đa hình gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> , <i>1173C>T</i> với liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học.....	69
3.2.1. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol	69
3.2.2. Mối liên quan giữa đặc điểm cận lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol	75
3.2.3. Mối liên quan giữa kiểu gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> và <i>1173C>T</i> với liều thuốc acenocoumarol	77
3.2.4. Phân tích hồi quy tuyến tính các yếu tố ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol	81

CHƯƠNG 4. BÀN LUẬN.....	87
4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tính đa hình gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> , <i>1173C>T</i> ở bệnh nhân thay van tim cơ học	88
4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng ở nhóm nghiên cứu	88
4.1.2. Một số đặc điểm cận lâm sàng ở nhóm nghiên cứu.....	96
4.1.3. Tính đa hình gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> và <i>1173C>T</i> ở nhóm nghiên cứu	98
4.2. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đa hình gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> , <i>1173C>T</i> với liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học	102
4.2.1. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol	102
4.2.2. Mối liên quan giữa đặc điểm cận lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol	108
4.2.3. Mối liên quan giữa kiểu gen <i>CYP2C9*3</i> , <i>VKORC1-1639G>A</i> và <i>1173C>T</i> với liều thuốc acenocoumarol	108
4.2.4. Phân tích hồi quy tuyến tính các yếu tố ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol	113
KẾT LUẬN.....	121
KIẾN NGHỊ.....	123
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN TÀI LIỆU THAM KHẢO PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Một số loại thuốc chống đông kháng Vitamin K.....	13
Bảng 1.2.	Một số đa hình đơn nucleotid của gen CYP2C9	27
Bảng 1.3.	Tần số xuất hiện các đa hình gen CYP2C9 ở một số chủng tộc trên thế giới	28
Bảng 1.4.	Tần số xuất hiện các biến thể di truyền gen VKORC1 - 1639G>A và 1173C>T ở một số quốc gia.....	34
Bảng 2.1.	Trình tự môi khuếch đại đoạn gen chứa các alen	47
Bảng 3.1.	Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm nghiên cứu	51
Bảng 3.2.	Đặc điểm về chỉ số BMI của nhóm nghiên cứu	52
Bảng 3.3.	Một số yếu tố nguy cơ, nguyên nhân và vị trí thay van tim ở nhóm nghiên cứu.....	53
Bảng 3.4.	Đặc điểm về thời gian sau thay van cơ học	54
Bảng 3.5.	Đặc điểm về tiền sử biến chứng xuất huyết.....	54
Bảng 3.6.	Đặc điểm về tiền sử huyết khối ở nhóm nghiên cứu	55
Bảng 3.7.	Một số thuốc dùng phối hợp ở nhóm nghiên cứu.....	56
Bảng 3.8.	Một số chỉ số xét nghiệm hóa sinh ở nhóm nghiên cứu	57
Bảng 3.9.	Một số chỉ số huyết học của nhóm nghiên cứu	58
Bảng 3.10.	Một số chỉ số đông máu ở nhóm nghiên cứu.....	58
Bảng 3.11.	Đặc điểm về điện tim và siêu âm tim ở nhóm nghiên cứu	59
Bảng 3.12.	Tần số alen và kiểu gen CYP2C9*3 ở nhóm nghiên cứu.....	62
Bảng 3.13.	Tần số alen và kiểu gen VKORC1-1639G>A.....	64
Bảng 3.14.	Tần số alen và kiểu gen VKORC1 1173C>T ở nhóm nghiên cứu..	67
Bảng 3.15.	Mối liên quan giữa tuổi với liều thuốc acenocoumarol.....	69
Bảng 3.16.	Mối liên quan giữa giới với liều thuốc acenocoumarol.....	70
Bảng 3.17.	Mối liên quan giữa chỉ số BMI với liều thuốc acenocoumarol ..	70
Bảng 3.18.	Mối liên quan giữa một số yếu tố nguy cơ với liều thuốc acenocoumarol	71

Bảng 3.19.	Mối liên quan giữa nguyên nhân thay van tim với liều thuốc acenocoumarol.....	72
Bảng 3.20.	Mối liên quan giữa vị trí thay van tim với liều thuốc acenocoumarol.....	72
Bảng 3.21.	Mối liên quan giữa thời gian sau thay van với liều thuốc acenocoumarol.....	73
Bảng 3.22.	Mối liên quan giữa một số loại thuốc được dùng phối hợp với acenocoumarol.....	74
Bảng 3.23.	Mối liên quan giữa đặc điểm về điện tim với liều thuốc acenocoumarol.....	75
Bảng 3.24.	Mối liên quan giữa một số đặc điểm về siêu âm tim với liều thuốc acenocoumarol.....	76
Bảng 3.25.	Mối liên quan giữa kiểu gen CYP2C9*3 với liều thuốc acenocoumarol.....	77
Bảng 3.26.	Mối liên quan giữa kiểu gen phối hợp VKORC1-1639G>A và 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol.....	80
Bảng 3.27.	Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến các chỉ số nhân trắc ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol.....	81
Bảng 3.28.	Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến các yếu tố di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol.....	82
Bảng 3.29.	Phân tích hồi quy đa biến các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol.....	83
Bảng 3.30.	Phân tích hồi quy đa biến các chỉ số nhân trắc và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol.....	85
Bảng 4.1.	Tần số alen và kiểu gen CYP2C9*3 ở một số quốc gia trên thế giới..	99
Bảng 4.2.	Tần số alen và kiểu gen VKORC1-1639G>A ở một số quốc gia/dân tộc trên thế giới.....	100
Bảng 4.3.	Tần số alen và kiểu gen VKORC1 1173C>T ở một số quốc gia trên thế giới.....	101

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1.	Sơ đồ đông máu theo mô hình dòng thác đông máu	7
Hình 1.2.	Sơ đồ hình thành fibrin	8
Hình 1.3.	Sơ đồ quá trình tiêu fibrin.....	9
Hình 1.4.	Cơ chế hình thành huyết khối van cơ học	11
Hình 1.5.	Hình ảnh huyết khối van cơ học	12
Hình 1.6.	Hình ảnh cấu trúc thuốc acenocoumarol	14
Hình 1.7.	Cơ chế tác dụng của thuốc acenocoumarol	15
Hình 1.8.	Hình ảnh về SNP.....	22
Hình 1.9.	Hình ảnh cấu trúc gen CYP2C9.....	23
Hình 1.10.	Hình ảnh mô phỏng cấu trúc bậc 1 của enzym CYP2C9	24
Hình 1.11.	Hình ảnh cấu trúc enzym CY2C9.....	25
Hình 1.12	Hình ảnh về vị trí liên kết giữa thuốc chống đông và enzym CYP2C9	26
Hình 1.13.	Phân bố kiểu gen CYP2C9 ở một số dân số châu Á	29
Hình 1.14.	Chuyển hóa thuốc acenocoumarol.....	30
Hình 1.15.	Hình ảnh cấu trúc gen VKORC1	32
Hình 1.16.	Hình ảnh cấu trúc enzym Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1	33
Hình 1.17.	Ảnh hưởng của đa hình gen VKORC1 và CYP2C9 lên liều thuốc aenocoumarol.....	35
Hình 3.1.	Hình ảnh điện di sản phẩm phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa SNP CYP2C9*3	60
Hình 3.2.	Hình ảnh giải trình tự giải trình exon 7 xác định SNP CYP2C9*3 của gen CYP2C9	61

Hình 3.3.	Điện di sản phẩm phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa SNP VKORC1-1639G>A	62
Hình 3.4.	Hình ảnh giải trình tự vùng promoter xác định SNP VKORC1-1639G>A của gen VKORC1	63
Hình 3.5.	Điện di sản phẩm phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa SNP VKORC1 1173C>T	65
Hình 3.6.	Hình ảnh giải trình tự đại diện các kiểu gen của SNP VKORC1 1173C>T	66
Hình 3.7.	Tần số kiểu gen phối hợp của VKORC1 -1639G>A và VKORC1 1173C>T ở nhóm nghiên cứu.....	68
Hình 3.8.	Mối liên quan giữa kiểu gen VKORC1-1639G>A với liều thuốc acenocoumarol	78
Hình 3.9.	Mối liên quan giữa kiểu gen VKORC1 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol	79

ĐẶT VẤN ĐỀ

Thay van tim là phương pháp điều trị hiệu quả nhằm cải thiện triệu chứng cũng như kéo dài tuổi thọ cho những bệnh nhân mang tổn thương van tim không hồi phục [1]. Mỗi năm, có khoảng 280.000 bệnh nhân trên toàn thế giới và 90.000 bệnh nhân tại Hoa Kỳ được thay van tim nhân tạo [2]. Tại Việt Nam, đã có hàng nghìn ca thay van tim được thực hiện tại các Trung tâm Tim mạch trên cả nước. Sau thay van cơ học, bệnh nhân có nguy cơ hình thành huyết khối từ 0,5 đến 6%, do vậy việc dùng thuốc chống đông suốt đời sau phẫu thuật là yêu cầu bắt buộc nhằm hạn chế biến chứng này [3], [4], [5], [6]. Trong đó, acenocoumarol là thuốc chống đông kháng vitamin K (Vitamin K antagonists) được sử dụng phổ biến với nhiều ưu điểm được ghi nhận [7], [8], [9].

Tuy nhiên, giới hạn điều trị của acenocoumarol rất hẹp, nếu dùng quá liều sẽ gây xuất huyết, dưới liều lại gây huyết khối tắc mạch hoặc kẹt van tim, đây là nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học [4], [10], [11]. Một chỉ số tin cậy để các nhà lâm sàng đánh giá hiệu quả của thuốc chống đông trên bệnh nhân thay van tim cơ học là chỉ số chuẩn hóa quốc tế (International Normalized Ratio - INR) [12]. Theo khuyến cáo, bệnh nhân đạt đích điều trị khi INR từ 2,5 đến 3,5 đối với van hai lá, từ 2,0 đến 3,0 đối với van động mạch chủ và thời gian trong khoảng điều trị (Time in Therapeutic Range - TTR) >60% [13], [14]. Tuy nhiên, để duy trì được chỉ số INR đạt mục tiêu là một khó khăn rất lớn do sự chuyển hóa và hấp thu của thuốc chịu ảnh hưởng của nhiều yếu tố như đặc điểm lâm sàng và di truyền của người bệnh.

Một trong những yếu tố ảnh hưởng rất lớn tới hiệu quả điều trị của thuốc là tính đa hình gen *CYP2C9* (Cytochrome P450 2C9) và *VKORC1* (Vitamin K

epoxide reductase complex subunit 1) [15], [16], [17], [18]. Gen *CYP2C9* mã hóa enzym *CYP2C9* là một enzym thuộc họ Cytochrome P450 ở gan. *CYP2C9* có tính đa hình cao, trong đó đa hình *CYP2C9*3* làm thay đổi acid amin I359L, đã được xác định là nguyên nhân làm giảm chuyển hóa acenocoumarol. Gen *VKORC1* mã hóa cho enzym Vitamin K epoxide reductase là enzym đích của acenocoumarol chịu trách nhiệm chuyển hóa vitamin K dạng oxy hóa thành vitamin K dạng khử giúp hoạt hóa các yếu tố đông máu II, VII, IX, X tham gia vào quá trình đông máu. Sự xuất hiện các biến thể di truyền *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* sẽ làm giảm tổng hợp enzym dẫn đến những người mang các biến thể di truyền này cần liều thuốc acenocoumarol thấp hơn bình thường để đạt hiệu quả chống đông máu [19], [20], [21].

Hiện tượng đa hình đơn nucleotid gen *CYP2C9* và *VKORC1* tạo ra các kiểu gen khác nhau trong cộng đồng, mỗi kiểu gen có yêu cầu liều thuốc chống đông acenocoumarol khác nhau [6], [22], [23]. Chính vì vậy, việc xác định các đa hình gen này có ý nghĩa rất lớn trong xác định liều điều trị phù hợp cho từng cá thể người bệnh.

Xuất phát từ nhu cầu thực tiễn đó, đề tài này được tiến hành nhằm: **“Nghiên cứu tính đa hình gen *CYP2C9*, *VKORC1* và liều thuốc chống đông kháng vitamin K ở bệnh nhân thay van tim cơ học”** với hai mục tiêu:

1. *Xác định đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tính đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* ở bệnh nhân thay van tim cơ học.*
2. *Xác định mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* với liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học.*

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN

1.1. Tổng quan thay van tim cơ học

1.1.1. Bệnh lý van tim

Bình thường quả tim có bốn buồng tim bao gồm nhĩ trái và thất trái được ngăn cách với nhau bởi van hai lá, nhĩ phải và thất phải được ngăn cách bởi van ba lá. Dòng máu từ thất phải qua van động mạch phổi để lên động mạch phổi, từ thất trái qua van động mạch chủ để vào động mạch chủ. Bốn ổ van tim có vai trò giúp dòng máu chỉ đi theo một chiều nhất định. [24]. Bệnh van tim thường biểu hiện dưới hai dạng tổn thương chính là hẹp và hở van tim, đôi khi một van tim có thể có tổn thương phối hợp vừa hẹp vừa hở van, thường gặp ở van hai lá và van động mạch chủ [25]. Hiện nay bệnh van tim ảnh hưởng đến hơn 100 triệu người trên toàn thế giới. Trong 50 năm qua, dịch tễ học bệnh lý van tim đã thay đổi với giảm rõ rệt tỷ lệ bệnh thấp tim và sự gia tăng đáng kể tỷ lệ thoái hóa van tim [3].

Trên thực tế tại các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam bệnh van tim chủ yếu là hậu quả của thấp tim. Đây là nguyên nhân hàng đầu của các bệnh van tim mắc phải [25]. Bệnh để lại những di chứng nặng nề đối với tim, đặc biệt là tổn thương van tim và hay gặp ở van hai lá. Tại Ấn Độ, tỷ lệ thấp tim là 1,3 trên 1000 dân, đây là nguyên nhân chủ yếu của các trường hợp phải thay van tim [26]. Tại Việt Nam, nghiên cứu của tác giả Đoàn Quốc Hưng và cộng sự tại Bệnh viện Việt Đức cho thấy tỷ lệ phải thay van do thấp tim vẫn chiếm tỷ lệ rất cao trong số các bệnh van tim tại miền Bắc Việt Nam [27]. Tại các nước phát triển, sự gia tăng đáng kể tuổi thọ cùng các yếu tố như vữa xơ mạch, thâm nhiễm đại thực bào... đã làm gia tăng đáng kể tỷ lệ thoái

hóa van [28], [29], [30]. Tại Hoa Kỳ, có khoảng 10% bệnh nhân trên 75 tuổi bị thoái hóa van tim và tỷ lệ hiện mắc ước tính khoảng 2,5% [3], [29], [30].

Do các tổn thương của van, khiến tim phải làm việc tăng lên. Để tăng khả năng co bóp của tim, ban đầu các tế bào cơ tim phát triển tăng về mặt thể tích, số lượng các sợi co bóp trong mỗi tế bào tăng lên để bù lại tình trạng quá tải thể tích máu khiến thành tim dày lên. Nếu tình trạng này kéo dài và không được điều trị sẽ làm cho các buồng tim giãn ra, các tế bào xơ phát triển, quả tim bị giãn dẫn tới hậu quả suy tim [25]. Điều trị nội khoa nhằm ổn định tình trạng suy tim bằng các thuốc như lợi tiểu, ức chế men chuyển, digitalis... Tuy nhiên điều trị nội khoa chỉ mang tính chất phòng bệnh, điều trị triệu chứng hoặc hỗ trợ điều trị phẫu thuật. Điều trị ngoại khoa có tính triệt để hơn do can thiệp trực tiếp vào van tim. Năm 1984 phương pháp nong van qua da được thực hiện, từ đó đến nay phương pháp này dần được thay thế bằng phẫu thuật tách van tim kín [31]. Tuy nhiên, trên thực tế với những tổn thương van nặng và phức tạp như xơ hóa, dày, vôi, co rút van thì phẫu thuật thay van tim vẫn là lựa chọn tối ưu.

1.1.2. Phẫu thuật thay van tim cơ học

Các van tim đã bị tổn thương gây ảnh hưởng tới chức năng bơm máu của tim dẫn đến suy tim làm giảm chất lượng cuộc sống, khả năng làm việc, thậm chí cả tuổi thọ của bệnh nhân. Do vậy, các van tim này cần được sửa chữa hoặc thay thế bằng một van tim nhân tạo mới có khả năng làm việc giống van tim bình thường. Van tim nhân tạo là một loại van được mô phỏng theo cấu trúc và nguyên lý hoạt động của một van tự nhiên, khi cấy ghép vào cơ thể sẽ hoạt động thay thế cho van tim bị tổn thương. Có hai loại van tim phổ biến được sử dụng là van sinh học (van đồng loài từ người hiến tặng, van dị loài từ van bò, lợn đã qua xử lý) và van cơ học (van được chế tạo từ vật liệu tổng hợp và hợp chất kim loại như silicon, titanium, carbon...). Việc lựa chọn

van tim cơ học hay sinh học phụ thuộc nhiều yếu tố như tuổi của bệnh nhân, tình trạng sức khỏe, mong muốn sinh con và sự chấp nhận để có thể tiến hành một cuộc phẫu thuật thay van tim lại đối với van sinh học.

Hiện nay, van tim cơ học được sử dụng rất rộng rãi do ưu điểm tuổi thọ dài, van có độ bền từ 20 đến 30 năm hoặc lâu hơn, trong khi van sinh học chỉ từ 10 đến 15 năm, nên khả năng phải mổ lại của van cơ học thấp hơn so với van sinh học. Do vậy, van cơ học thích hợp dùng cho những người có độ tuổi dưới 65 [32]. Một nghiên cứu tại Mỹ trên 575 bệnh nhân từ năm 1977 đến 1982 cho thấy tỷ lệ phẫu thuật thay van lại sau 15 năm của van động mạch chủ sinh học là 26% , van cơ học là 0%, tương tự với van hai lá sinh học là 44% và van cơ học là 4% [33]. Những nghiên cứu trên đã chứng tỏ độ bền vượt trội của van cơ học. Hơn nữa, những bệnh nhân sau thay van tim đều được cải thiện đáng kể khả năng lao động cũng như chất lượng cuộc sống. Theo nghiên cứu của tác giả Đoàn Quốc Hưng ghi nhận bệnh nhân sau phẫu thuật có cải thiện khả năng lao động là 88,76%, 78,7% có chất lượng cuộc sống tốt lên, 85,21% tăng cân sau phẫu thuật [27].

Mặc dù, thay van tim là phương pháp hiệu quả giúp kéo dài tuổi thọ và nâng cao chất lượng cuộc sống của bệnh nhân. Tuy nhiên, sau thay van cơ học bệnh nhân vẫn phải đối diện với nhiều nguy cơ do van cơ học hoạt động có thể hình thành huyết khối gây tắc mạch và kẹt van tim, đây là những biến chứng nguy hiểm thậm chí có thể gây tử vong ở bệnh nhân mang van tim cơ học.

1.2. Huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học

1.2.1. Sinh lý quá trình đông cầm máu

Đông cầm máu là trạng thái cân bằng được thiết lập phụ thuộc hoàn toàn vào sự tương tác phức tạp giữa các yếu tố đông máu, tiểu cầu và nội mô. Mất cân bằng này sẽ dẫn tới hậu quả huyết khối hoặc xuất huyết [34], [35], [36].

1.2.1.1. Các giai đoạn của quá trình đông cầm máu

❖ Giai đoạn cầm máu ban đầu:

Khi thành mạch bị tổn thương, cơ trơn thành mạch co lại làm giảm lưu lượng máu chảy qua vị trí tổn thương. Đồng thời sự bộc lộ của lớp dưới nội mạc khiến tiểu cầu dính vào lớp tổ chức giải phóng ra các sản phẩm làm cho tiểu cầu dính vào nhau hình thành nút tiểu cầu có tác dụng cầm máu tạm thời. Kết quả này tạo điều kiện cho việc hoạt hóa các yếu tố đông máu huyết tương tạo cục máu bền vững bịt chặt chỗ tổn thương.

❖ Giai đoạn đông máu huyết tương

➤ Thời kỳ hình thành thromboplastin hoạt hóa:

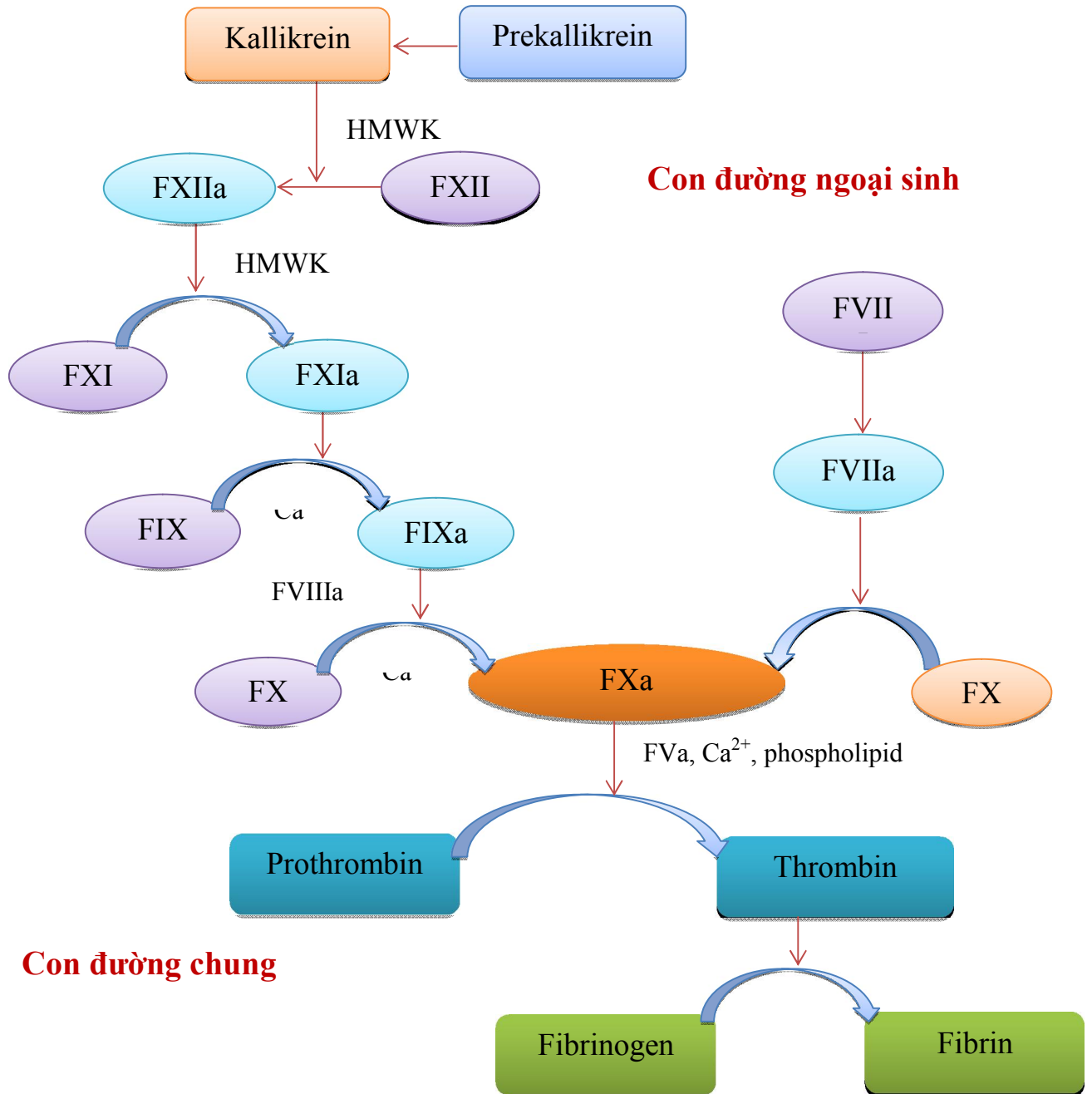
Đông máu nội sinh: Trong quá trình này, yếu tố XII được hoạt hóa thành XIIa, xúc tác quá trình chuyển prekallikrein thành kallikrein nhờ vai trò trung gian của HMWK. Nhờ vậy XII được hoạt hóa thành XIIa nhiều hơn. Yếu tố XIIa xúc tác quá trình chuyển XI thành XIa, đồng thời IX được hoạt hóa thành IXa nhờ XIa cùng với ion calci. Phức hợp các yếu tố IXa, VIIIa, ion calci và phospholipid hoạt hóa yếu tố X thành Xa. Đến giai đoạn này còn có sự phối hợp của con đường đông máu ngoại sinh.

Đông máu ngoại sinh: Yếu tố tổ chức TF được giải phóng hoạt hóa yếu tố VII thành VIIa hình thành phức hợp TF-VIIa. Phức hợp này cùng ion calci hoạt hóa yếu tố X thành Xa.

➤ Thời kỳ hình thành thrombin:

Yếu tố Xa được tạo thành từ con đường đông máu nội sinh và ngoại sinh cùng với yếu tố Va, ion calci, phospholipid tạo thành phức hợp prothrombinase hoạt hóa yếu tố II (prothrombin) thành IIa (thrombin).

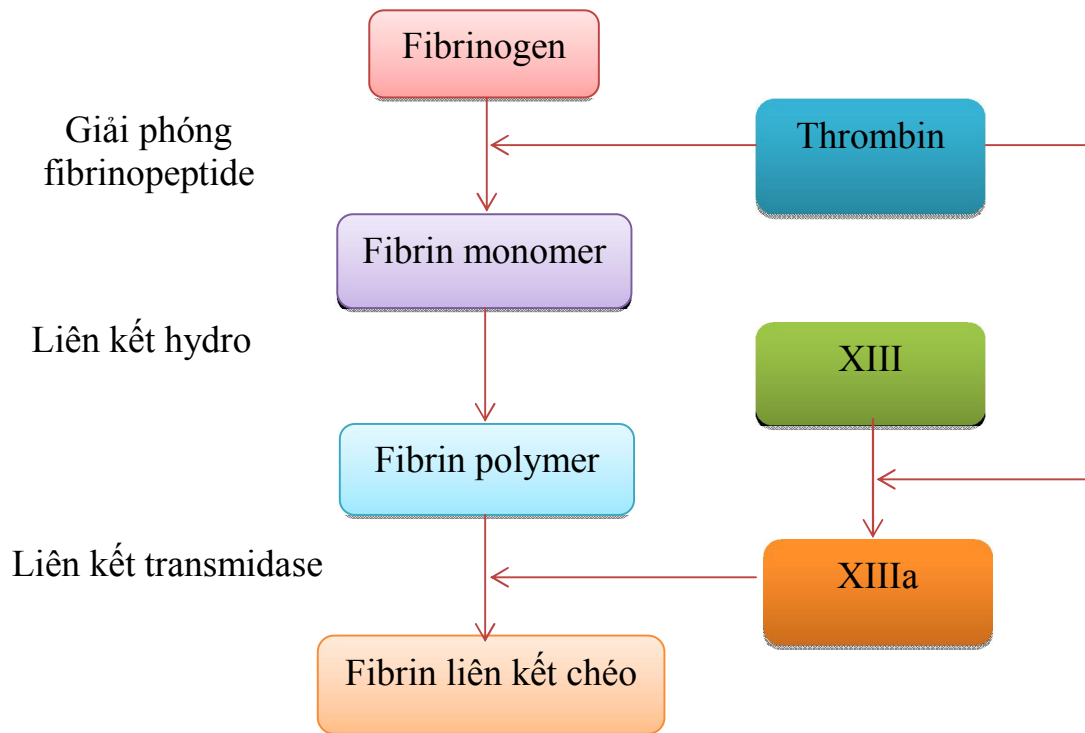
Con đường nội sinh



Hình 1.1. Sơ đồ đông máu theo mô hình dòng thác đông máu [34]

➤ Thời kỳ hình thành fibrin

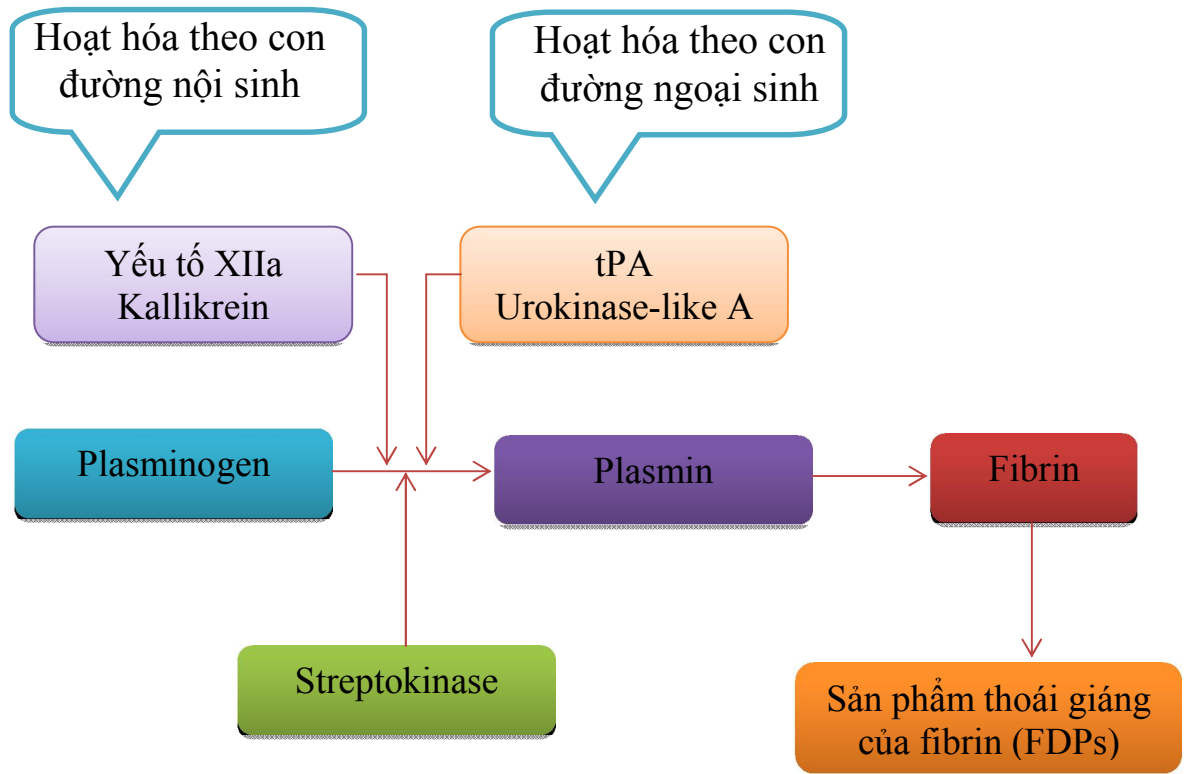
Thrombin được tạo ra có tác dụng thủy phân fibrinogen thành fibrin monome và các fibrinopeptide A, B. Sau đó xuất hiện lực hút tĩnh điện giữa các fibrin monome để tạo thành fibrin polymer. Yếu tố XIII được hoạt hóa thành XIIIa nhờ thrombin và ion calci. Yếu tố XIIIa làm cho các fibrin polymer trở nên bền vững, không tan bằng cách hình thành các liên kết tạo cục máu đông vững chắc bịt kín vị trí tổn thương.



Hình 1.2. Sơ đồ hình thành fibrin [34]

* Giai đoạn tiêu fibrin

Khi fibrin được hình thành sẽ xảy ra quá trình hoạt hóa plasminogen thành plasmin. Sau đó plasmin làm thoái giáng các fibrin không hòa tan thành các sản phẩm có trọng lượng phân tử thấp và hòa tan, giai đoạn đầu tạo ra các sản phẩm X, Y, giai đoạn muộn tạo ra các sản phẩm D và E.



Hình 1.3. Sơ đồ quá trình tiêu fibrin [34]

❖ Mô hình đông máu trên cơ sở tế bào: Trong những năm gần đây các nhà nghiên cứu đã đề xuất và hình thành mô hình đông máu trên cơ sở tế bào giúp thể hiện một cách đầy đủ và toàn diện các hiện tượng cầm máu in vivo mà giả thuyết “dòng thác” đông máu không giải thích được. Quá trình này bao gồm hàng loạt các phản ứng có điều khiển để hình thành thrombin và cuối cùng tạo fibrin bền vững. Các phản ứng đó bao gồm các giai đoạn nối tiếp nhau là giai đoạn khởi đầu, khuếch đại, lan rộng và kết thúc. Các giai đoạn này được thực hiện bởi sự hoạt hóa lần lượt nối tiếp nhau của các phức hợp đại phân tử TF/VIIa, VIIIa/IXa, Va/Xa đối với yếu tố IX, X và prothrombin dẫn đến sự khuếch đại và lan rộng quá trình đông máu. Cuối cùng hình thành thrombin và fibrin để tạo cục máu đông [34].

1.2.1.2. Các xét nghiệm thăm dò quá trình đông máu

Thăm dò cầm máu ban đầu: Thời gian máu chảy, số lượng, chất lượng tiểu cầu (đếm số lượng, co cục máu, dính tiểu cầu, ngưng tập tiểu cầu, các yếu tố tiểu cầu), nghiệm pháp dây thắt.

Thăm dò giai đoạn đông máu huyết tương: Đông máu ngoại sinh (tỷ lệ phức hợp prothrombin, định lượng yếu tố II, V, VII, X). Đông máu nội sinh (Thời gian phục hồi calci của huyết tương, APTT, định lượng yếu tố VIII, IX, XI và các yếu tố tiếp xúc). Giai đoạn hình thành fibrin (Định lượng fibrinogen, yếu tố XIII, thời gian thrombin).

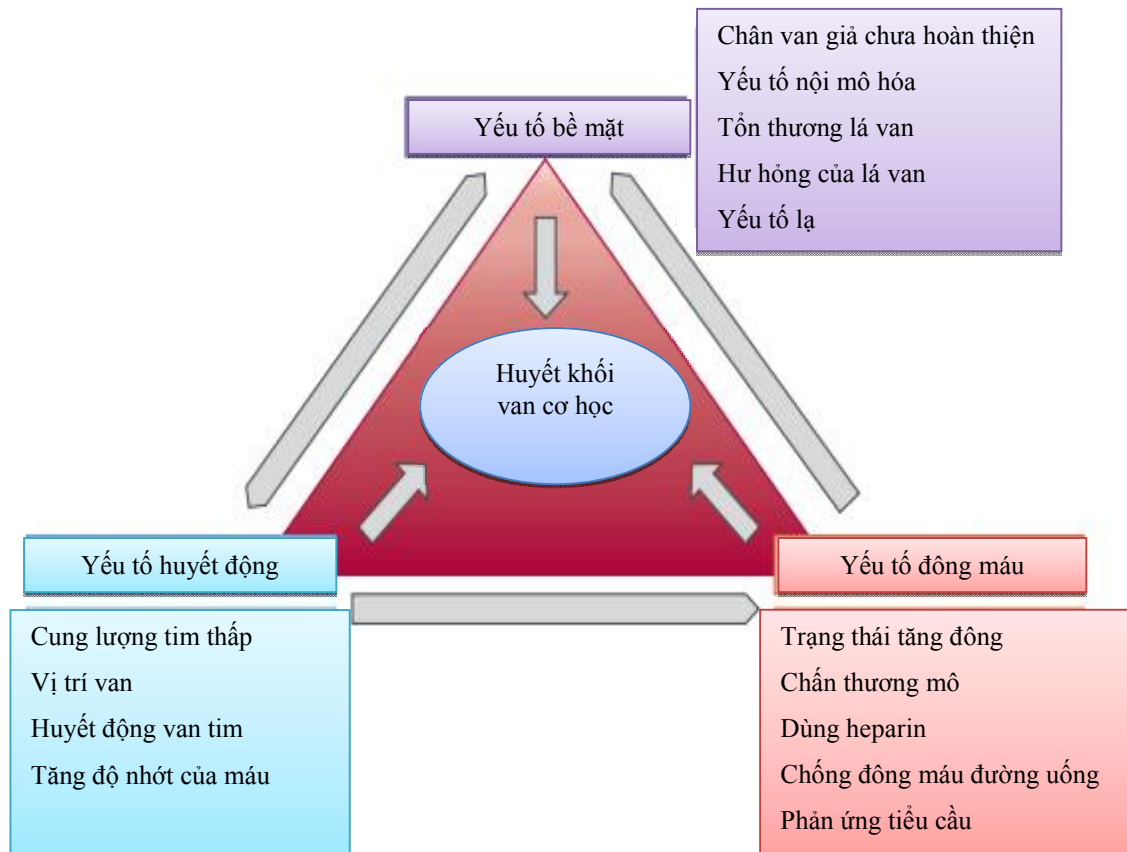
Nghiệm pháp Vonkaulla và nghiệm pháp Ethanol, định lượng P.D.F-D.Dimer, protein C, protein S.

1.2.2. Cơ chế hình thành huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học

Mặc dù van cơ học bền hơn van sinh học nhưng loại van này cũng có những nhược điểm mà bệnh nhân và các nhà lâm sàng cần xem xét. Giống như tại các nước trên thế giới, bệnh nhân sau khi thay van tim tại các trung tâm tim mạch của Việt Nam cũng thường gặp nhiều biến chứng sau thay van như kẹt van tim, hư van... Nhưng phổ biến và nguy hiểm nhất là huyết khối, tắc mạch do cục máu đông hình thành trong quá trình hoạt động của van tim nhân tạo. Đây là biến chứng rất nguy hiểm đe dọa tính mạng bệnh nhân mang van tim cơ học [37]. Tỷ lệ huyết khối là 0,1- 6% ở bệnh nhân thay van hai lá, thậm chí lên tới 20% ở những người thay van ba lá [38], [39]. Sự hình thành huyết khối phụ thuộc vào loại van, tình trạng kháng đông, vị trí van, sự hiện diện của rung nhĩ, và/hoặc rối loạn chức năng tâm thất [40].

Nguyên nhân hình thành huyết khối ở người mang van tim cơ học là do sự tương tác của các thành phần máu như tiểu cầu và các tế bào máu với màng trong tim bị tổn thương sau phẫu thuật. Hơn nữa do van cơ học làm từ

kim loại là dị vật gây hoạt hóa quá trình đông máu theo con đường nội sinh. Đồng thời sự thay đổi cấu trúc và chuyển hóa do dòng chảy quanh van (dòng chảy rối, ứ trệ dòng chảy) dẫn tới sự hình thành huyết khối tại tim gây tắc mạch, kẹt van phải phẫu thuật lại [39]. Tỷ lệ huyết khối lên đến 10% trong 3-6 tháng đầu sau thay van, đặc biệt hay gặp sau thay van hai lá.

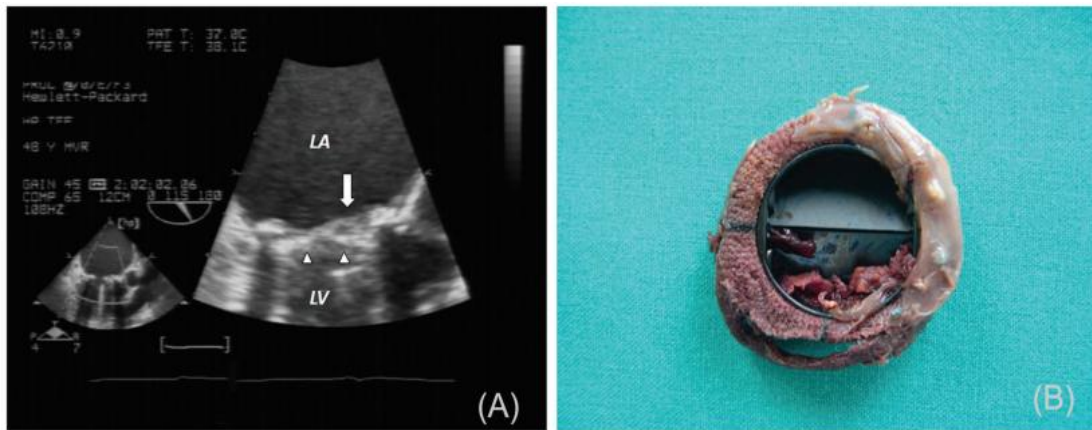


Hình 1.4. Cơ chế hình thành huyết khối van cơ học [41]

(Ghi chú: Ba nhóm nguyên nhân gây nguy cơ hình thành huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học là tổn thương bề mặt, rối loạn huyết động và rối loạn đông - cầm máu)

Chẩn đoán huyết khối kẹt van cơ học khi bệnh nhân đột ngột khó thở, mệt mỏi tăng lên. Nghe tiếng van cơ học mờ đi, đặc biệt xảy ra ở bệnh nhân không sử dụng hay sử dụng thuốc kháng đông không đều hoặc dùng thuốc

nhưng thường xuyên không đạt mục tiêu. Siêu âm tim qua thành ngực có thể thấy huyết khối gây kẹt van cơ học, chênh áp tối đa/trung bình qua van tăng lên. Siêu âm qua thực quản hoặc soi hoạt động của van dưới màn tăng sáng cho phép chẩn đoán xác định.



Hình 1.5: Hình ảnh huyết khối van cơ học [39]

(Ghi chú: Hình A: Hình ảnh huyết khối tại van tim trên siêu âm; Hình B: Hình ảnh huyết khối tại van tim sau phẫu thuật điều trị kẹt van tim)

Huyết khối tắc mạch là một trong những nguyên nhân gây tử vong hàng đầu ở bệnh nhân sau thay van tim. Do vậy tất cả những bệnh nhân này đều phải sử dụng thuốc chống đông suốt đời nhằm ngăn ngừa sự hình thành cục máu đông tránh nguy cơ huyết khối tắc mạch, kẹt van tim. Có nhiều loại thuốc chống đông nhưng được sử dụng phổ biến nhất là thuốc kháng vitamin K. Đây là nhóm thuốc được dùng rộng rãi trên thế giới bằng đường uống trong phòng ngừa, điều trị huyết khối động mạch và tĩnh mạch.

1.2.3. Điều trị phòng ngừa huyết khối ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học

Nhóm thuốc chống đông kháng Vitamin K (VKA) bắt đầu được sử dụng trên lâm sàng từ những năm 1940. Warfarin được dùng rộng rãi ở Nam Mỹ, Châu Âu và Châu Á. Tại các trung tâm tim mạch của Việt Nam, thuốc chống

đông kháng vitamin K được sử dụng hiện nay có warfarin (coumadin 2mg) và acenocoumarol (biệt dược Sintrom 4mg), tuy nhiên acenocoumarol được dùng phổ biến hơn. Sự khác biệt chính giữa các hợp chất này là thời gian tác dụng và bán thải của thuốc, thời gian bán thải trung bình của warfarin là 36 giờ, acenocoumarol là 24 giờ.

Bảng 1.1. Một số loại thuốc chống đông kháng Vitamin K [42]

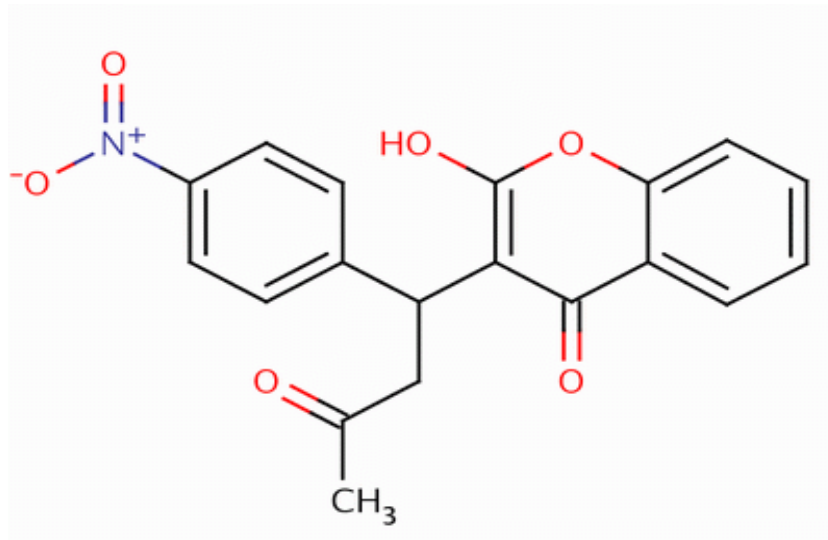
Tên thuốc	Biệt dược	Thời gian bán thải (giờ)	Liều duy trì (mg/ngày)
Acenocoumarol	Sintrom	24	1 - 8
Dicumarol		24 - 96	50 - 100
Phenindion	Pindione	5 - 10	50 - 150
Ethylbiscoumacetat	Tromexan	1 - 2	450 - 600
Warfarin	Coumadin	36	3-9

Các thuốc VKA gắn chặt với protein huyết tương (95 - 97%) khiến cho dạng hoạt động lưu hành trong máu chỉ chiếm khoảng 3 - 5%, tất cả những thuốc làm thay đổi tỷ lệ gắn với huyết tương từ 1 đến 2% có thể làm thay đổi tỷ lệ hoạt động của thuốc VKA từ 50 đến 100%. Các thuốc VKA được hấp thu tốt qua đường uống, được chuyển hóa tại gan và thải qua đường tiêu. Thuốc được sử dụng rộng rãi trong phòng ngừa và điều trị huyết khối như rung tâm nhĩ, thay van tim, sau nhồi máu cơ tim, dự phòng huyết khối tĩnh mạch sâu... [42], [43].

1.3. Tổng quan thuốc chống đông acenocoumarol

1.3.1. Dược lý và cơ chế tác dụng

Acenocoumarol là một thuốc chống đông kháng Vitamin K đường uống được sử dụng khá phổ biến trên thế giới trong phòng ngừa huyết khối [7]. Thuốc có công thức phân tử là $C_{19}H_{15}NO_6$ với hai dạng đồng phân S và R, tên hóa học là 2 - hydroxy - 3 - [1 - (4 - nitrophenyl) - 3 oxobutyl] chromen - 4 - one, trọng lượng phân tử của thuốc là 353,3255 g/mol [44]. Thuốc được đóng gói dưới dạng viên nén 1mg, 2mg và 4mg, trong đó viên 4mg có thể bẻ được làm bốn.

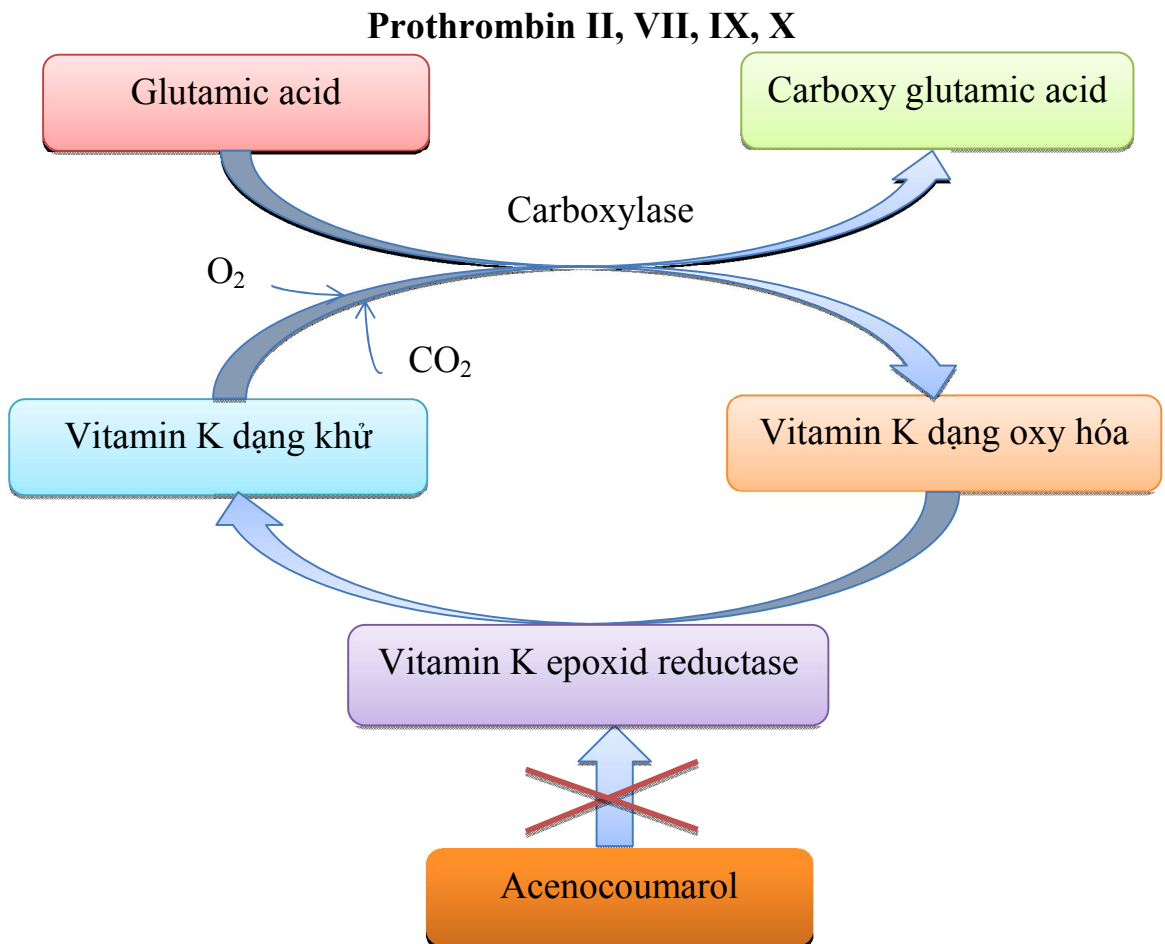


Hình 1.6. Hình ảnh cấu trúc thuốc acenocoumarol

(Nguồn: <http://www.medicalook.com>)

Thuốc có tác dụng chống đông máu gián tiếp bằng cách ngăn cản sự tổng hợp các dạng hoạt động của nhiều yếu tố đông máu. Do thuốc ức chế enzym vitamin K epoxid reductase, dẫn tới ngăn cản quá trình chuyển acid glutamic thành acid gamma - carboxyglutamic của protein tiền thân của các yếu tố đông máu II, VII, IX, X. Do vậy, những yếu tố này không được hoạt hóa nên không thể tham gia vào quá trình đông máu [6].

Sau khi uống, thuốc gây hạ prothrombin máu trong vòng 36 - 72 giờ. Sau khi ngừng thuốc, tác dụng chống đông máu còn kéo dài thêm 2 - 3 ngày. Thuốc có thể hạn chế được sự phát triển của các cục huyết khối đã có trước đó và ngăn ngừa được các triệu chứng huyết khối tắc mạch thứ phát, tuy nhiên không có tác dụng tiêu huyết khối trực tiếp vì không đảo ngược được thương tổn của mô bị thiếu máu cục bộ [43].



Hình 1.7. Cơ chế tác dụng của thuốc acenocoumarol [7]

(Ghi chú: Acenocoumarol ức chế enzym Vitamin K epoxid reductase, một enzym cần thiết cho quá trình hoạt hóa các yếu tố đông máu II, VII, IX và X thành dạng hoạt động tham gia vào quá trình đông máu).

Acenocoumarol được hấp thu nhanh qua đường tiêu hoá. Sinh khả dụng đường uống đạt 60%. Một phần đáng kể đồng phân S(-) - acenocoumarol qua chuyển hóa bước đầu tại gan, trong khi sinh khả dụng của đồng phân R(+) - acenocoumarol là 100%. Thuốc gắn mạnh với protein huyết tương (99%). Nồng độ đỉnh của thuốc trong huyết tương đạt trong vòng 1 - 3 giờ. Thể tích phân bố 0,16 - 0,34 lít/kg. Acenocoumarol qua nhau thai và một phần nhỏ được phát hiện trong sữa mẹ.

Acenocoumarol bị chuyển hoá ở gan bởi hệ enzym cytochrom P450 (isoenzym CYP2C9 chuyển hóa đồng phân S, đồng phân R bị chuyển hóa bởi một số isoenzym khác) thành các chất chuyển hóa amin và acetamid không có hoạt tính. Một vài chất chuyển hóa khác như diastereoisometric alcohol và chất chuyển hóa hydroxyl có thể có hoạt tính. Các nhà lâm sàng cần biết khả năng một số người bệnh nhạy cảm cao với acenocoumarol do tính đa hình của ty lạp thể ở gan và có thể phải giảm liều ở người bệnh đó. Nửa đời thải trừ của acenocoumarol khoảng 8 - 11 giờ. Thuốc đào thải chủ yếu qua nước tiểu (60% trong khoảng 1 tuần) ở dưới dạng chuyển hóa và một phần qua phân (29% trong khoảng 1 tuần) [43].

1.3.2. Chỉ định và chống chỉ định

1.3.2.1. Chỉ định

Điều trị và dự phòng huyết khối tĩnh mạch sâu, nhồi máu phổi, nhồi máu cơ tim cấp. Dự phòng nguy cơ hình thành huyết khối gây tắc mạch ở người bệnh rung nhĩ, thấp tim, sau thay van tim nhân tạo, bị bệnh huyết khối, mạch vành [42], [43].

1.3.2.2. Chống chỉ định

Mẫn cảm với các thành phần có trong thuốc, suy gan nặng, suy thận nặng (độ thanh thải creatinin <20ml/phút), loét dạ dày tá tràng tiến triển [42],[43].

1.3.2.3. Một số lưu ý khi sử dụng thuốc

Khi sử dụng thuốc chống đông acenocoumarol cần tuyệt đối tuân thủ điều trị. Vì biến chứng hay gặp nhất của thuốc là xuất huyết, đặc biệt nguy hiểm là xuất huyết ở các cơ quan nội tạng hoặc não. Chính vì vậy phải kiểm tra chỉ số chuẩn hóa quốc tế INR định kỳ và phải ở cùng một nơi. Đối với những trường hợp cần phải can thiệp ngoại khoa thì tùy từng trường hợp cần xem xét tạm dừng hoặc điều chỉnh thuốc cho phù hợp. Thuốc qua được hàng rào rau thai gây nguy cơ dị dạng thai nhi (4%) đặc biệt trong quý đầu của thai kỳ. Thuốc qua sữa mẹ nên tránh cho con bú, nếu phải bú cần bù vitamin k cho đứa trẻ [43].

1.3.3. Điều trị thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học

Ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học việc dùng thuốc chống đông là bắt buộc và kéo dài suốt đời. Liều lượng thuốc phải được điều chỉnh nhằm đạt mục đích ngăn cản cơ chế đông máu tới mức không xảy ra huyết khối nhưng cũng tránh được chảy máu tự phát. Tuy nhiên, không có một liều thuốc chung cho tất cả người bệnh. Hiện nay, điều trị thuốc chống đông chủ yếu là dò liều dựa trên kinh nghiệm của bác sỹ lâm sàng và việc theo dõi chỉ số chuẩn hóa quốc tế INR (International Normalized Ratio), được tính bằng công thức:

$$\text{INR} = [\text{Prothombin bệnh nhân}/\text{Prothombin chứng}]^{\text{ISI}}$$

Trong đó ISI (International Sensitivity Index) là độ nhạy của lô thromboplastin được dùng so với thromboplastin chuẩn của Tổ chức Y tế Thế giới có ISI = 1. Hiện nay, INR được xem là xét nghiệm chuẩn để đánh giá hiệu quả chống đông của acenocoumarol. Năm 2017, Hội Tim mạch Hoa Kỳ (American College of Cardiology/ American Heart Association - ACC/AHA) đã đưa ra hướng dẫn về mức INR mục tiêu cho bệnh nhân sau thay van tim cơ học như sau: Van động mạch chủ cơ học loại hai cánh (bileaflet) hoặc

Medtronic Hall: Không có yếu tố nguy cơ tăng đông (rung nhĩ, tiền sử huyết khối tắc mạch, nhĩ trái giãn >50mm, suy chức năng tâm thu thất trái nặng EF <35%) thì INR mục tiêu là từ 2,0 đến 3,0. Nếu có một hoặc nhiều yếu tố nguy cơ trên thì INR mục tiêu là từ 2,5 đến 3,5. Van động mạch chủ cơ học Starr Edwards hoặc van cơ học dạng đĩa (không phải là Medtronic Hall) thì INR mục tiêu là từ 2,5 đến 3,5. Với van hai lá cơ học thì INR mục tiêu là từ 2,5 đến 3,5. Van cơ học đang dùng thuốc VKA có nguy cơ tăng đông dùng aspirin từ 75 đến 100mg/ngày hoặc clopidogrel 75mg/ngày duy trì INR từ 3,5 đến 4,5 [14].

Theo khuyến cáo của Hiệp hội tim mạch Châu Âu (European Society of Cardiology - ESC) năm 2017: Bệnh nhân thay van tim loại van đĩa hai cánh, van đĩa một cánh, Medtronic Open-Pivot, St Jude Medical, OnX, Sorin Bicarbon không có yếu tố nguy cơ tăng đông (tiền sử huyết khối; rung tâm nhĩ; hẹp van hai lá ở mọi mức độ; LVEF <35%) thì INR mục tiêu là 2,5, nếu có ≥ 1 yếu tố nguy cơ cần INR mục tiêu là 3,0. Van hai lá có INR mục tiêu là 3,0, nếu có ≥ 1 yếu tố nguy cơ cần duy trì INR ở mức 3,5. Đối với Lillehei-Kaster, Omniscience, Starr-Edwards (lồng bóng), Bjork-Shiley và van đĩa nghiêng cần INR mục tiêu là 3,5, nếu có ≥ 1 yếu tố nguy cơ thì cần duy trì INR ở mức 4,0. Nguy cơ chảy máu tăng đáng kể khi chỉ số INR vượt quá 4,5 và tăng theo cấp số nhân khi chỉ số INR ở mức trên 6.0 [45].

Vì không thể có được một giá trị INR cố định trong suốt quá trình điều trị dài hạn nên những bệnh nhân sử dụng thuốc chống đông acenocoumarol được khuyến cáo nên làm xét nghiệm INR hàng tháng. Một thông số giúp các nhà lâm sàng theo dõi hiệu quả điều trị của acenocoumarol theo thời gian là thời gian trong khoảng điều trị (Time in Therapeutic Range -TTR). Thời gian TTR càng thấp được xác định là càng tăng nguy cơ biến cố chảy máu hay huyết khối tắc mạch. TTR được tính bằng cách tính tỉ lệ phần trăm số lần INR đạt

mục tiêu trên tổng số lần đo của từng bệnh nhân. Ví dụ: bệnh nhân được kiểm tra INR 8 lần, trong đó 6 lần INR đạt mục tiêu điều trị thì TTR = 6/8 (75%). TTR khuyến cáo ở bệnh nhân mang van tim cơ học điều trị thuốc chống đông là $\geq 60\%$ [46], [47].

Khoảng an toàn của thuốc acenocoumarol rất hẹp, nên khi điều trị phải dò liều an toàn, đảm bảo đạt hiệu lực nhưng tránh được biến chứng chảy máu do quá liều. Một khó khăn khi sử dụng thuốc acenocoumarol hiện nay là bệnh nhân phải dùng kéo dài suốt đời đồng thời phải theo dõi chỉ số INR thường xuyên để điều chỉnh liều dưới sự tư vấn của bác sĩ lâm sàng. Tuy vậy, tỉ lệ bệnh nhân được theo dõi và INR đạt đích điều trị hiện nay chỉ có khoảng 21-44,8% [48]. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Quốc Kính và Tạ Mạnh Cường trên 200 bệnh nhân thay van tim cơ học tại Bệnh viện Tim Hà Nội cho thấy sau thay van tim có 2,5% bệnh nhân tử vong, 4% bệnh nhân kẹt van, 5 – 7,5% bệnh nhân bị huyết khối, 18 - 23,6% có biến chứng chảy máu, tỉ lệ đạt đích INR chuẩn hóa (INR 2,5-3,5) chỉ đạt 30 - 33%. Việc hướng dẫn dùng thuốc chống đông chưa được tốt với 27,3% bệnh nhân cho là không cần xét nghiệm đông máu và 21,8% bệnh nhân không biết cần điều chỉnh liều thuốc chống đông đường uống theo giá trị INR. Chỉ có 67,3% số bệnh nhân ý thức được phạm vi đích điều trị INR nhưng 10% trong đó hiểu sai giá trị đích INR [48].

Nghiên cứu của tác giả Hồ Thị Thiên Nga tại bệnh viện Việt Đức ghi nhận 40% trong tổng số 180 bệnh nhân không biết đích INR cần đạt [49]. Năm 2010, Hoàng Quốc Toàn và cộng sự nghiên cứu trên 168 bệnh nhân sau thay van tim tại Bệnh viện 108, tác giả gặp 20,2% bệnh nhân có biến chứng liên quan đến thuốc chống đông sau thay van trong đó xuất huyết là 19% và huyết khối gây kẹt van là 1,2%, vị trí xuất huyết nhiều nhất là xuất huyết dưới da (31,3%), chảy máu mũi miệng (37,5%) và có 12,5% xuất huyết não, nguyên nhân được xác định là do bệnh nhân không uống thuốc thường xuyên và không kiểm tra định kỳ (đánh giá INR) [50]. Ngoài ra, một nguyên nhân

khác làm ảnh hưởng đến kết quả điều trị là do sự chuyển hóa và hấp thu của thuốc acenocoumarol bị chi phối bởi nhiều yếu tố như đặc điểm lâm sàng, môi trường và di truyền làm tăng hoặc giảm tác dụng của thuốc.

1.3.4. Các yếu tố tương tác với thuốc acenocoumarol

Thực tế lâm sàng cho thấy liều lượng acenocoumarol được sử dụng khác nhau để phù hợp với từng cá thể người bệnh vì thuốc được biết đến là bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố như lượng vitamin K cung cấp trong chế độ ăn uống, một số bệnh lý đi kèm, một số thuốc dùng phối hợp và đặc biệt là đặc điểm di truyền của người bệnh [42], [43], [51], [52].

1.3.4.1. Các yếu tố làm tăng cường tác dụng của thuốc

Suy gan: Khi chức năng của tế bào gan bị suy giảm làm giảm tổng hợp các yếu tố đông máu gây ra hiện tượng quá liều thuốc chống đông acenocoumarol. Ngoài ra, bệnh gan mạn tính hoặc xơ gan còn làm giảm chuyển hóa thuốc gây tích lũy thuốc trong cơ thể. Xơ gan làm giảm sản xuất protein huyết tương, làm tăng thành phần tự do của thuốc trong máu (khoảng 5%) nên tăng hiệu quả tác dụng của thuốc.

Suy thận: Làm giảm sự đào thải thuốc ra khỏi cơ thể gây hiện tượng quá liều.

Suy tim: Làm giảm tưới máu mô làm giảm chuyển hóa thuốc gây tích lũy thuốc.

Tình trạng tăng chuyển hóa: Sốt, nhiễm độc giáp trạng...

Tương tác thuốc: Một số thuốc trên lâm sàng làm tăng tác dụng của acenocoumarol như: Amidarone, acetaminophen, alcohol, metronidazole, omeprazol, diclophenac, meloxicam, vitamin E...[42], [43].

1.3.4.2. Các yếu tố làm giảm tác dụng của thuốc

Thai nghén: Làm tăng tổng hợp yếu tố đông máu.

Suy giáp trạng: Làm giảm các yếu tố đông máu làm giảm đáp ứng thuốc.

Tương tác với một số thuốc trên lâm sàng như: Barbiturate, rifampicin, cholestyramine, estrogen, progestin, vitamin K... [42], [43].

1.3.4.3. Vai trò của thực phẩm với tác dụng của thuốc

Thực phẩm giàu vitamin K có vai trò quan trọng trong chuyển hóa thuốc chống đông như: cải xoong, bắp cải, củ cải, rau diếp, rau dền, họ sùng, hành lá, ngò tây, trà xanh (chè), đậu nành, gan heo, gan bò... Đối với những thực phẩm này cần ăn ít và ổn định. Nếu muốn thay đổi chế độ ăn tạm thời hoặc vĩnh viễn cần xét nghiệm INR để điều chỉnh liều thuốc chống đông.

1.3.4.4. Ảnh hưởng của yếu tố di truyền tới liều thuốc acenocoumarol

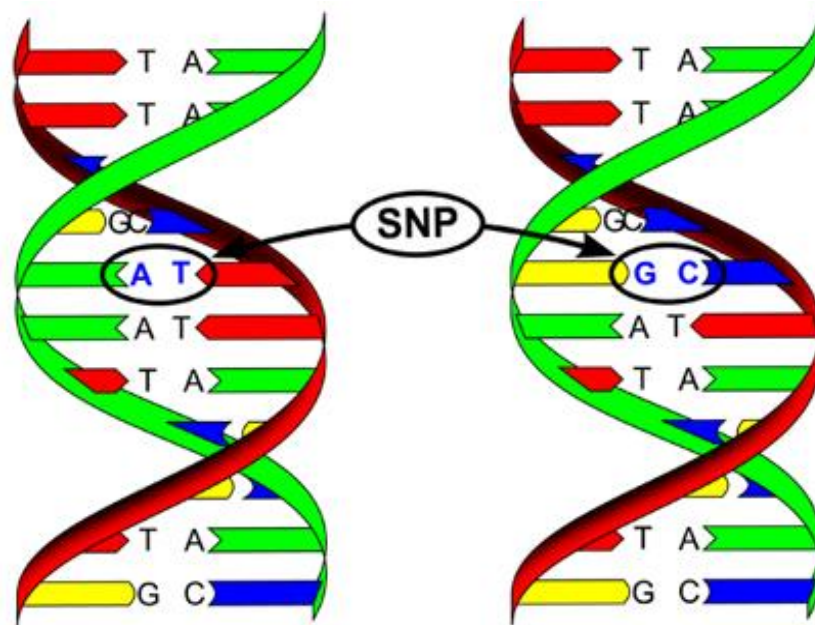
Yếu tố di truyền đã được chứng minh là có ảnh hưởng rất lớn tới quá trình chuyển hóa thuốc trong cơ thể người bệnh. Di truyền học là một trong các yếu tố quan trọng đóng vai trò tiên lượng và thay đổi liều điều trị để đạt được INR mục tiêu. Hơn 30 gen đã được tìm thấy tham gia vào các hoạt động và sự trao đổi chất của thuốc [53]. Trong đó gen *CYP2C9* (mã hóa cho họ enzym chuyển hóa thuốc cytochrome P450) và *VKORC1* (mã hóa cho enzym đích của thuốc) là quan trọng nhất ảnh hưởng tới khoảng 35-50% biến liều của thuốc chống đông acenocoumarol [54], [55], [56].

1.4. Tổng quan gen *CYP2C9* và *VKORC1*

1.4.1. Đa hình đơn nucleotid

Hiện tượng đa hình đơn nucleotid (single nucleotide polymorphisms – SNPs) là sự khác nhau về trình tự DNA (deoxyribonucleic acid) xảy ra khi một nucleotid đơn A, T, G, C ở trong bộ gen khác nhau giữa các cá thể của một

loài hay giữa các cặp nhiễm sắc thể của một người. Bộ gen người với 23 cặp nhiễm sắc thể gồm 22 cặp nhiễm sắc thể thường và 1 cặp nhiễm sắc thể giới tính, chứa khoảng 3,2 tỉ cặp nucleotid. Trong đó, 99,9% hệ gen người là giống nhau, chỉ 0,1% khác biệt tạo ra các cá thể với đặc điểm, tính trạng khác nhau. Các SNP xảy ra ở cả vùng mã hóa (exon) và vùng không mã hóa (intron) chiếm 97% hệ gen người với tần số rất lớn. Các biến thể này có thể là vô hại (làm thay đổi kiểu hình), có hại (gây ra bệnh) hay tiềm tàng (trong một số điều kiện cụ thể làm tăng khả năng phát triển thành bệnh).



Hình 1.8. Hình ảnh về SNP

(Nguồn: <http://www.viagenefertility.com>)

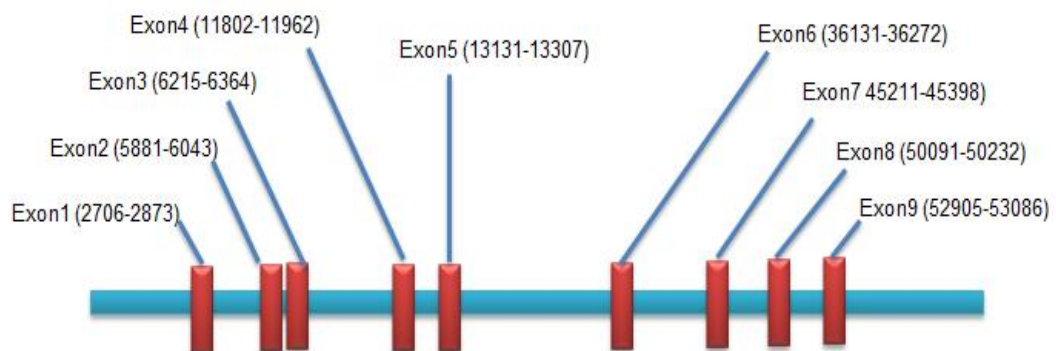
Hiện tượng đa hình đơn nucleotid tạo ra các cá thể với kiểu hình khác nhau dẫn đến sự đáp ứng với điều trị trong một số trường hợp bệnh lý cũng hoàn toàn khác nhau. Việc lựa chọn phác đồ điều trị phù hợp với đặc điểm di truyền của từng cá thể người bệnh ở cấp độ phân tử được gọi là Y học cá thể hóa, đây là bước tiến quan trọng hướng đến việc điều trị hiệu quả hơn với ít tác dụng phụ.

1.4.2. Tổng quan gen *CYP2C9* và mối liên quan với liều thuốc acenocoumarol

1.4.2.1. Cấu trúc gen và enzym *CYP2C9*

❖ Cấu trúc gen *CYP2C9*

Ở người, gen *CYP2C9* nằm trên nhánh dài của nhiễm sắc thể số 10 (10q24). Gen *CYP2C9* có kích thước >50kb, bao gồm 9 exon và 8 intron. Vùng không mã hoá thứ nhất (intron1) có kích thước rất lớn khoảng 10kb [57].



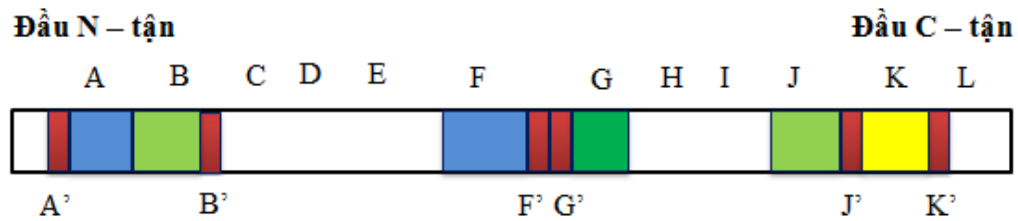
Hình 1.9. Hình ảnh cấu trúc gen *CYP2C9* [58]

(Ghi chú: Vùng màu đỏ là vùng mã hoá (exon 1 - 9). Vùng màu xanh không được dịch mã UTR (untranslated region) nằm xen giữa các exon là các intron).

❖ Enzym *CYP2C9*

Gen *CYP2C9* mã hóa enzym *CYP2C9* là một enzym thuộc họ Cytochrome P450. Enzym *CYP2C9* đóng vai trò quan trọng trong quá trình oxy hóa các hợp chất nội sinh và ngoại sinh ở gan. Enzym này chiếm khoảng 20% tổng lượng Cytochrom P450 trong microsom ở gan, tham gia chuyển hóa >15% loại thuốc trên lâm sàng bao gồm cả các thuốc có giới hạn điều trị hẹp như warfarin, acenocoumarol và phenytoin cũng như các thuốc được sử dụng thường xuyên khác như tolbutamide, losartan, glipizide và một số loại thuốc chống viêm không steroid [59], [60], [61], [62].

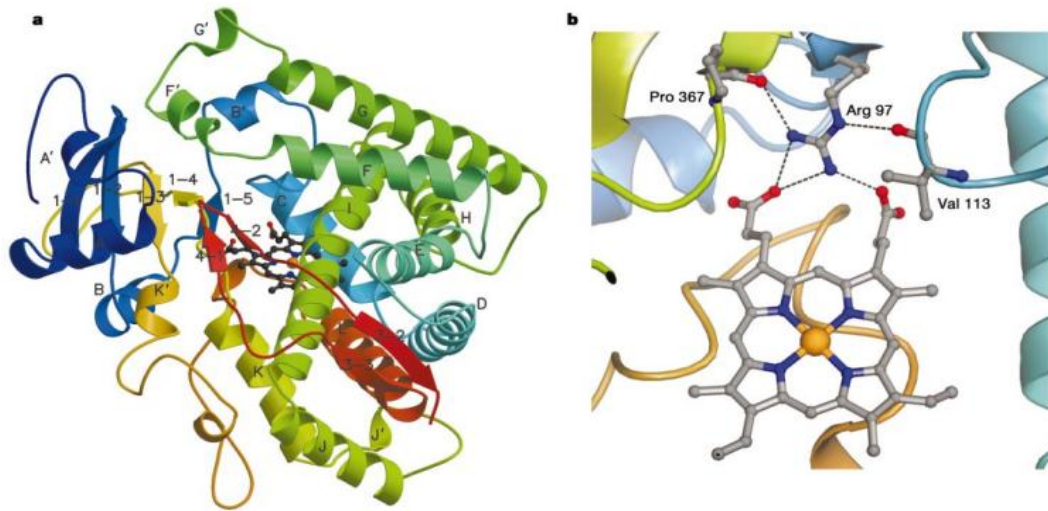
Enzym CYP2C9 được cấu tạo gồm 490 axit amin, với trọng lượng phân tử 55,6 kDa. Enzym có hai miền là cấu trúc và chức năng: Miền cấu trúc được tạo thành bởi các vòng xoắn (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L), trong đó vòng xoắn B - C góp phần quan trọng vào độ đặc hiệu của cơ chất. Miền chức năng bao gồm các vòng xoắn A', B', F', G', J', K', đây là trung tâm hoạt động của enzym liên kết trực tiếp với cơ chất tham gia xúc tác các phản ứng hóa học.



Hình 1.10. Hình ảnh mô phỏng cấu trúc bậc 1 của enzym CYP2C9 [60]

(Ghi chú: Miền cấu trúc gồm các vòng xoắn A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, Miền chức năng bao gồm các vòng xoắn A', B', F', G', J', K').

Enzym CYP2C9 mang nhiều đặc điểm chung của các enzym thuộc hệ thống Cytochrom P450, tuy nhiên CYP2C9 lại có những nét đặc trưng mà các enzym thuộc hệ thống này không có được. Đó là tại vòng xoắn B - C có cấu trúc xoắn B' tương ứng với các acid amin 101 - 106, vòng xoắn F - G có cấu trúc xoắn F' và G' tương ứng với các acid amin 212 - 222, đây là những vị trí xúc tác đặc hiệu của enzym. Tương tự, các Cytochrom P450 khác, nhân Hem nằm ở trung tâm, giữa vòng xoắn I và L, được giữ bởi liên kết hydro giữa nhóm propionat với các chuỗi bên cạnh tại các acid amin W120, R124, H368 và R433 [63].



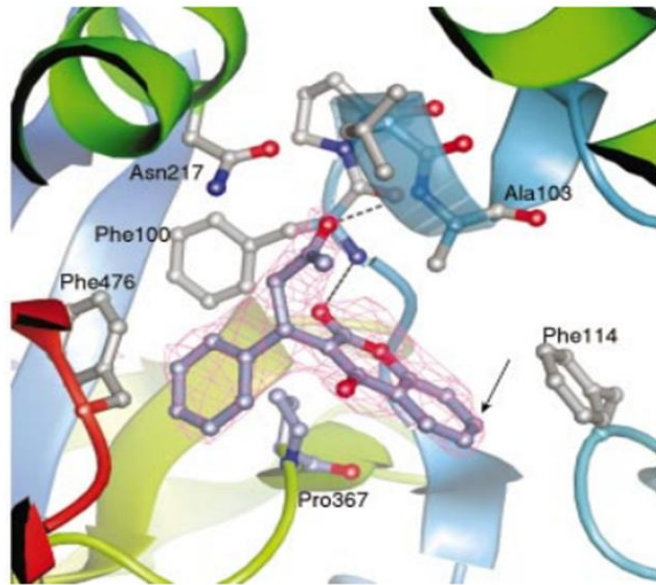
Hình 1.11. Hình ảnh cấu trúc enzym CYP2C9 [63]

(Ghi chú: Hình a: Hình ảnh cấu trúc gấp nếp của enzym CYP2C9, hình b: Hình ảnh mô tả vị trí nhân Hem của enzym CYP2C9).

Enzym CYP2C9 xúc tác cho quá trình hydroxyl hóa acenocoumarol thành 6 và 7 - OH - R - acenocoumarol không hoạt động và đào thải ra khỏi cơ thể qua nước tiểu. Mặc dù không có nghiên cứu nào mô tả cụ thể về sự gắn kết của enzym CYP2C9 và acenocoumarol, tuy nhiên với cấu trúc và chức năng tương tự, acenocoumarol liên kết với enzym giống như warfarin. Cụ thể, khi thuốc và enzym tiếp xúc với nhau, thuốc sẽ nằm trong một túi kỵ nước được tạo thành bởi một nhóm các acid amin R97, G98, I99, F100, L102, A103, V113, F114, N217, T364, S365, L366, P367 và F476. Vị trí phân tử thuốc được đặt vào là vị trí lý tưởng giúp cho việc hydroxyl hóa của enzym, vị trí ion sắt của nhân Hem khoảng 10\AA . Tại đây các liên kết được tạo thành giữa phân tử cơ chất và enzym:

Liên kết hydro được tạo thành giữa cơ chất với các nhóm amin của acid amin F100 và A103 của enzym (được mô tả bởi đường nét đứt trong hình). Liên kết $\pi - \pi$ được hình thành giữa nhóm phenyl của cơ chất với acid amin F476 của enzym. Lực phân tử Van der Waals sinh ra bởi sự phân cực

của các phân tử thành các lưỡng cực điện được tạo thành giữa hai vòng của cơ chất với các acid amin A103, F114 và P367 của enzym. Kết quả là acenocoumarol bị hydroxyl hóa tại vị trí carbon số 6 hoặc 7 và đào thải ra khỏi cơ thể. Mũi tên trong hình mô tả vị trí carbon số 7 của acenocoumarol bị hydroxyl hóa [63].



Hình 1.12 Hình ảnh về vị trí liên kết giữa thuốc chống đông và enzym CYP2C9 [63]

(Ghi chú: Nét đứt mô tả liên kết hydro được tạo thành giữa cơ chất với các nhóm amin của acid amin F100 và A103 của enzym. Mũi tên mô tả vị trí carbon số 7 của acenocoumarol bị hydroxyl hóa)

1.4.2.2. Tính đa hình của gen CYP2C9 và mối liên quan với liều thuốc chống đông acenocoumarol

Gen CYP2C9 có tính đa hình cao, hơn 60 nucleotide (SNPs) đã được tìm thấy trên vùng mã hóa của gen CYP2C9 [57]. Tuy nhiên, có hơn 33 SNPs của gen đã được xác định có tác động tới các quá trình chuyển hóa của nhiều thuốc quan trọng khác nhau trên lâm sàng. Đặc biệt là các thuốc có giới hạn điều trị hẹp như acenocoumarol.

Bảng 1.2. Một số đa hình đơn nucleotid của gen *CYP2C9* [59]

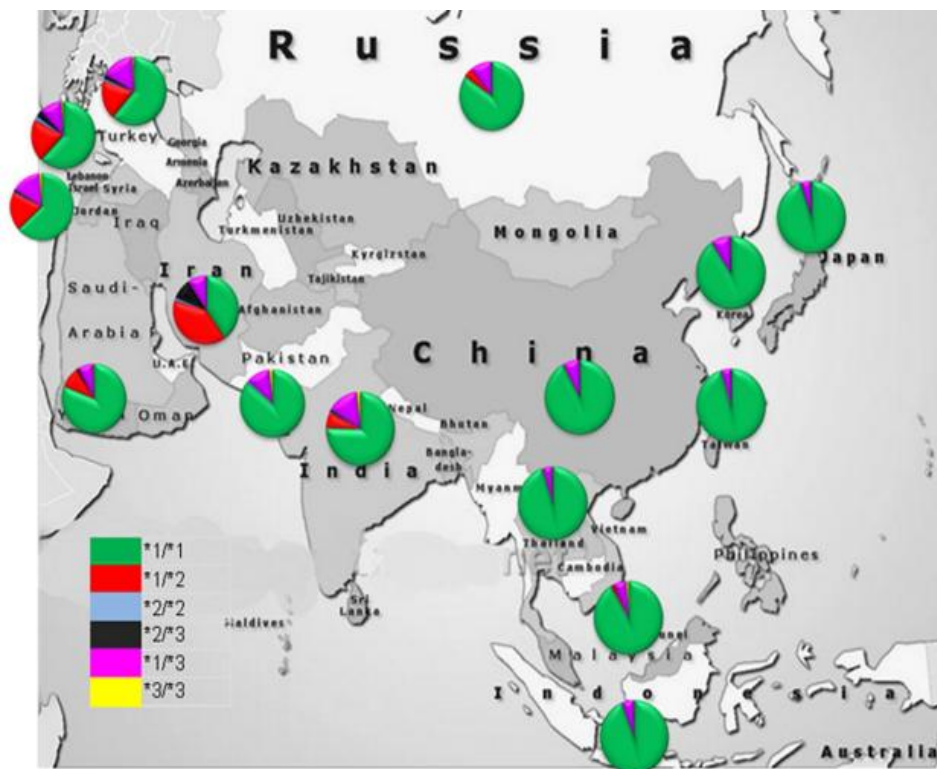
<i>CYP2C9</i>	Thay đổi nucleotid	Thay đổi acid amin	<i>CYP2C9</i>	Thay đổi nucleotid	Thay đổi acid amin
*1	Kiểu đại	Kiểu đại	*18	1075A>C; 1190A>C; 1425A>T	I359L; D397A
*2	430C>T	R144C	*19	1362G>C	Q454H
*3	1075A>C	I359L	*20	208G>C	G70R
*4	1076T>C	I359T	*21	89C>T	P30L
*5	1080C>G	D360E	*22	121A>G	N41D
*6	818 mất A	273 dịch khung	*23	226G>A	V76M
*7	55C>A	L19I	*24	1060G>A	E354K
*8	449G>A	R150H	*25	353_362 mất	118 dịch khung
*9	752A>G	H251R	*26	389C>G	T130R
*10	815A>G	E272G	*27	449G>T	R150L
*11	1003C>T	R335W	*28	641A>T	Q214L
*12	1465C>T	P489S	*29	835C>A	P279T
*13	269T>C	L90P	*30	1429G>A	A477T
*14	374G>A	R125H	*31	980T>C	I327T
*15	485C>A	S162X	*32	1468G>T	V490F
*16	895A>G	T299A	*33	395G>A	R132Q
*17	1144C>T	P382S	*34	1004G>A	R335Q

Trong số rất nhiều đa hình đơn nucleotid của gen *CYP2C9* đã được phát hiện, đa hình *2 (A144C) và *3 (I359L) được xác định là ảnh hưởng nhiều nhất tới biến liều thuốc chống đông acenocoumarol [64], [65], [66]. Các phân tích tổng quan có hệ thống cũng cho thấy bệnh nhân mang ít nhất một trong hai biến thể di truyền này có yêu cầu liều chống đông thấp hơn so với những người mang alen kiểu đại [18], [67].

Bảng 1.3. Tần số xuất hiện các đa hình gen CYP2C9 ở một số chủng tộc trên thế giới [68]

Dân tộc	n	I359 (*1)	L359 (*3)	n	A144 (*1)	C144 (*2)
Asian						
Việt Nam	157	0,978 (0,961–0,994)	0,022 (0,006–0,039)	157	1,000	0,000
Hàn Quốc	574	0,987 (0,981–0,993)	0,011 (0,007–0,019)	310	1,000	0,000
Nhật Bản	218	0,979 (0,967–0,992)	0,021 (0,008–0,034)	218	1,000	0,000
Trung Quốc	115	0,983 (0,956–0,993)	0,017 (0,007–0,044)	135	1,000	0,000
Da trắng						
Mỹ	100	0,940 (0,907–0,973)	0,060 (0,027–0,093)	100	0,920 (0,882–0,958)	0,080 (0,042–0,118)
Thổ Nhĩ Kỳ	499	0,900 (0,880–0,917)	0,100 (0,079–0,123)	499	0,894 (0,873–0,911)	0,106 (0,089–0,127)
Anh	100	0,915 (0,880–0,917)	0,085 (0,079–0,123)	100	0,875 (0,871–0,911)	0,125 (0,089–0,127)
Châu Phi						
Mỹ	100	0,95 (0,985–1,005)	0,005 (20,05–0,015)	100	0,998 (0,976–1,004)	0,010 (0,089–0,127)
Ethiopian	150	0,957 (0,905–0,961)	0,043 (0,020–0,066)	150	0,957 (0,905–0,961)	0,043 (0,020–0,066)

Tại Việt Nam, nghiên cứu về hai đa hình này trên 157 bệnh nhân dân tộc Kinh của Việt Nam cho thấy alen $CYP2C9^*3$ xuất hiện với tần số 2,2%, không có biến thể di truyền $CYP2C9^*2$ [68]. Một số nghiên cứu trên các dân tộc Châu Á như Trung Quốc, Hàn Quốc, Nhật Bản, hay một số nước Đông Nam Á cũng cho kết quả tương tự [66], [68]. Đây cũng là lý do trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ tiến hành xác định tần số alen, kiểu gen cũng như mối liên quan giữa đa hình gen $CYP2C9^*3$ với liều thuốc acenocoumarol.

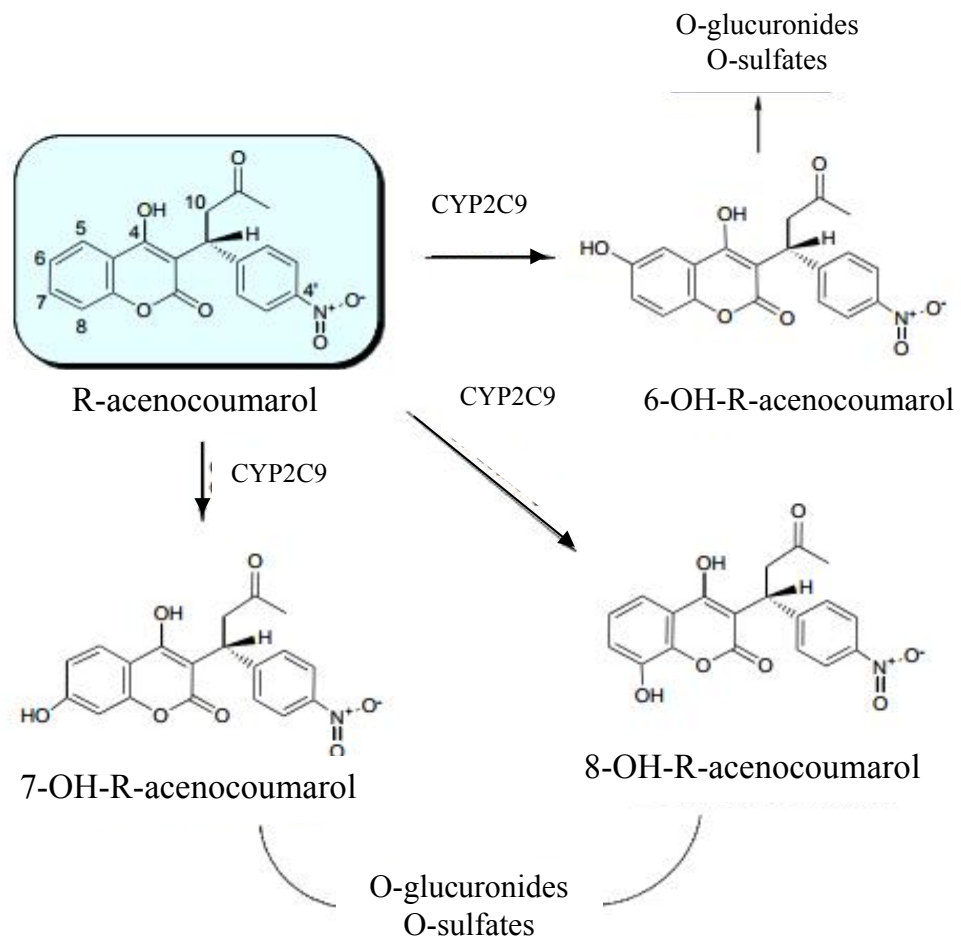


Hình 1.13. Phân bố kiểu gen $CYP2C9$ ở một số dân số châu Á [66]

(Ghi chú: Biểu đồ màu xanh thể hiện cá thể mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại $CYP2C9^*1^*1$ xuất hiện phổ biến ở các nước Châu Á)

Acenocoumarol có hai dạng đồng phân là S và R - acenocoumarol. Tuy nhiên độ thanh thải của S-acenocoumarol lớn với thời gian bán hủy là 2 giờ, do đó tác dụng dược lý gần như ở dạng đồng phân R - acenocoumarol. Enzym $CYP2C9$ xúc tác cho quá trình hydroxyl hóa acenocoumarol thành 6 và 7 - OH - R - acenocoumarol không hoạt động và đào thải ra khỏi cơ thể qua nước tiểu, trong khi tạo 8 - OH - R - acenocoumarol chiếm tỷ lệ rất nhỏ [63].

Khi có sự xuất hiện của một số biến thể di truyền gen *CYP2C9* sẽ làm giảm hoạt động của enzym *CYP2C9* dẫn đến làm giảm độ thanh thải của thuốc [22], [69], [70]. Trong đó, alen *2 (R144C) và alen *3 (I359L) làm giảm 30% và 80% hoạt động của enzyme [71]. Do vậy, những người mang các biến thể di truyền này cần một liều thuốc thấp hơn so với bình thường đã đạt được hiệu quả điều trị, nếu những người mang biến thể di truyền này dùng liều thuốc bằng những người không mang alen biến thể sẽ gây hậu quả xuất huyết [59].



Hình 1.14. Chuyển hóa thuốc acenocoumarol [59]

(Ghi chú: Enzym *CYP2C9* xúc tác cho quá trình hydroxyl hóa acenocoumarol thành 6 và 7 - OH - R - acenocoumarol không hoạt động và đào thải ra khỏi cơ thể).

Một số nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh sự ảnh hưởng của các biến thể di truyền gen *CYP2C9* đến biến liều thuốc acenocoumarol [6], [21],

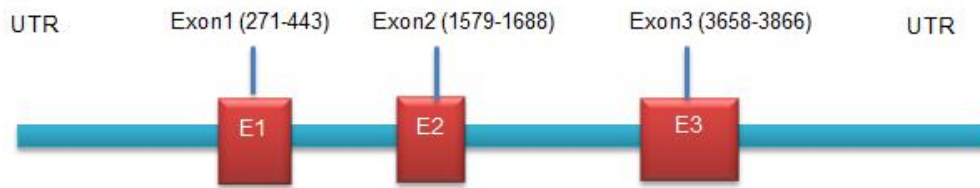
[72]. Trong đó, đa hình đơn *CYP2C9**2 và *3 tác động đến khoảng 10-30% biến liều acenocoumarol và đa hình *3 đã được xác định là đóng vai trò quan trọng hơn. Nghiên cứu tại Ý trên 220 bệnh nhân cho thấy *CYP2C9**3 được xác định có liên quan đến việc giảm liều 25% và tăng nguy cơ chống đông máu quá mức (INR>6) ở bệnh nhân sử dụng acenocoumarol [73]. Nghiên cứu của Kalpana và cộng sự mới được công bố tại miền Nam Ấn Độ năm 2016 trên 205 bệnh nhân cho thấy yêu cầu liều acenocoumarol giảm 17% ở những bệnh nhân mang alen biến thể *3 của gen *CYP2C9* so với bệnh nhân mang alen kiểu dại *1 (0,82 mg/ngày với 1,07 mg/ngày, $p<0,05$) [6]. Một nghiên cứu khác cũng chỉ ra bệnh nhân mang một alen *CYP2C9* biến thể (*1*2 hoặc *1*3) có yêu cầu liều thấp hơn 23,95% và bệnh nhân có hai alen biến thể (*2*2, *2*3) liều thấp hơn 33,61% so với bệnh nhân không mang alen biến thể nào (*1*1). Những kết quả này tương tự với những phát hiện trước đây cho rằng yêu cầu liều acenocoumarol ít hơn khoảng 19-29% ở các bệnh nhân mang một hoặc hai alen biến thể gen *CYP2C9* so với alen kiểu dại [65].

1.4.3. Gen *VKORC1* và mối liên quan với liều thuốc acenocoumarol

1.4.3.1. Cấu trúc gen và enzym *VKORC1*

❖ Cấu trúc gen *VKORC1*

Gen *VKORC1* nằm trên nhiễm sắc thể 16 (16p11.2) gồm 3 exon với chiều dài là 5126 bp [74]. Gen *VKORC1* mã hóa cho enzym *VKORC1*, đây là enzym đóng vai trò quan trọng trong quá trình xúc tác vitamin K từ dạng oxy hóa thành vitamin K dạng khử giúp hoạt hóa các yếu tố đông máu II, VII, IX, X và protein S, C từ dạng chưa hoạt động thành dạng hoạt động tham gia vào quá trình đông máu. Kể từ khi gen *VKORC1* được nhân bản vào năm 2004, nhiều SNPs mới của gen được phát hiện, đến nay có khoảng 28 SNPs đã được xác định là nguyên nhân dẫn đến sự thay đổi liều điều trị của các thuốc chống đông máu kháng vitamin K như acenocoumarol và warfarin [75].



Hình 1.15. Hình ảnh cấu trúc gen *VKORC1* [58]

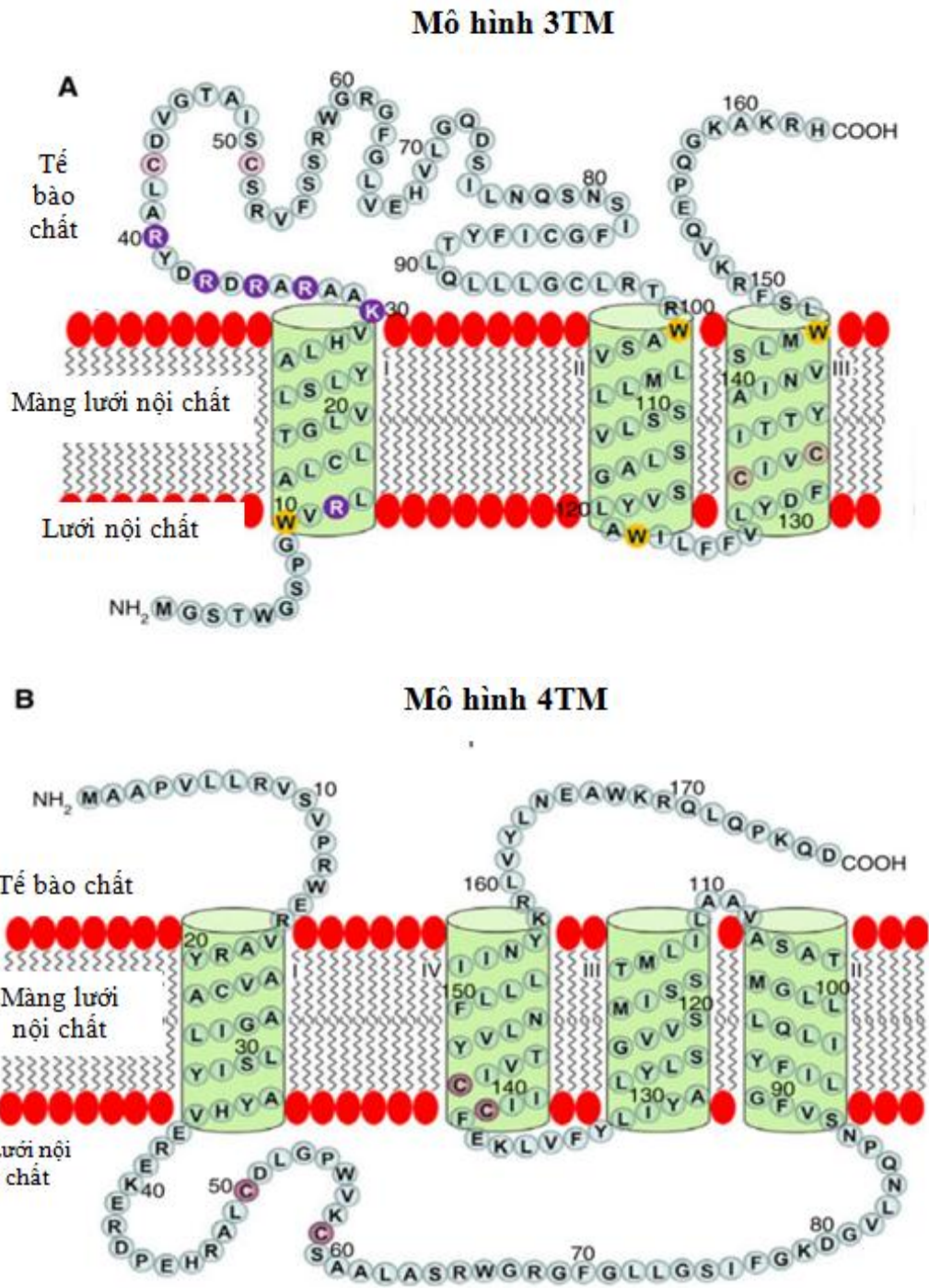
(Ghi chú: Vùng màu đỏ là vùng mã hóa exon, vùng màu xanh là vùng không mã hóa intron).

❖ Enzym Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 (*VKORC1*)

Enzym *VKORC1* được phát hiện năm 1970, đây là một protein xuyên màng hỗ trợ hoạt động của các protein phụ thuộc vitamin K, tham gia vào một loạt các quá trình sinh lý bao gồm đông máu, khoáng hóa xương, cân bằng nội môi canxi, dẫn truyền tín hiệu, tăng trưởng tế bào và hiện tượng apoptosis [76]. Đồng thời, *VKORC1* là enzym đích của thuốc chống đông máu acenocoumrol được sử dụng phổ biến trong dự phòng và điều trị huyết khối tĩnh mạch sâu, tắc mạch phổi, đột quỵ, nhồi máu cơ tim và sau thay van tim sinh học cũng như cơ học.

Enzym *VKORC1* cấu tạo gồm 163 acid amin và trọng lượng phân tử là 18KDa. Cấu trúc của enzym *VKORC1* còn nhiều tranh cãi, có hai mô hình cấu trúc của *VKORC1* được đưa ra là mô hình 3TM (transmembrane helices) và 4TM [77]. Cả hai mô hình có đặc điểm chung là đều mô tả cấu trúc enzym gồm 3 phần, phần nằm trong tế bào chất, phần nằm trong màng lưới nội chất và phần nằm trong lưới nội chất.

Mô hình 3TM: Đầu N - tận nằm trong lưới nội chất, trong màng lưới nội chất có 3 vòng xoắn xuyên màng là TM1,2,3, đầu C - tận nằm trong tế bào chất. Như vậy mô hình 3TM cho thấy TM2 của 4TM được cấu tạo từ các acid amin 75 - 97 không xuyên màng mà tạo vòng xoắn nằm trong lưới nội chất. Mô hình 4TM: Đầu N - tận và C - tận đều nằm trong tế bào chất, trong màng lưới nội chất enzym có 4 vòng xoắn xuyên màng là TM1,2,3,4 [75], [77].



Hình 1.16. Hình ảnh cấu trúc enzym Vitamin K epoxide reductase complex subunit 1 [78]

(Ghi chú: Hình a: Mô hình 3 TM, hình b: Mô hình 4 TM)

1.4.3.2. Tính đa hình của gen *VKORC1* và mối liên quan với liều thuốc acenocoumarol

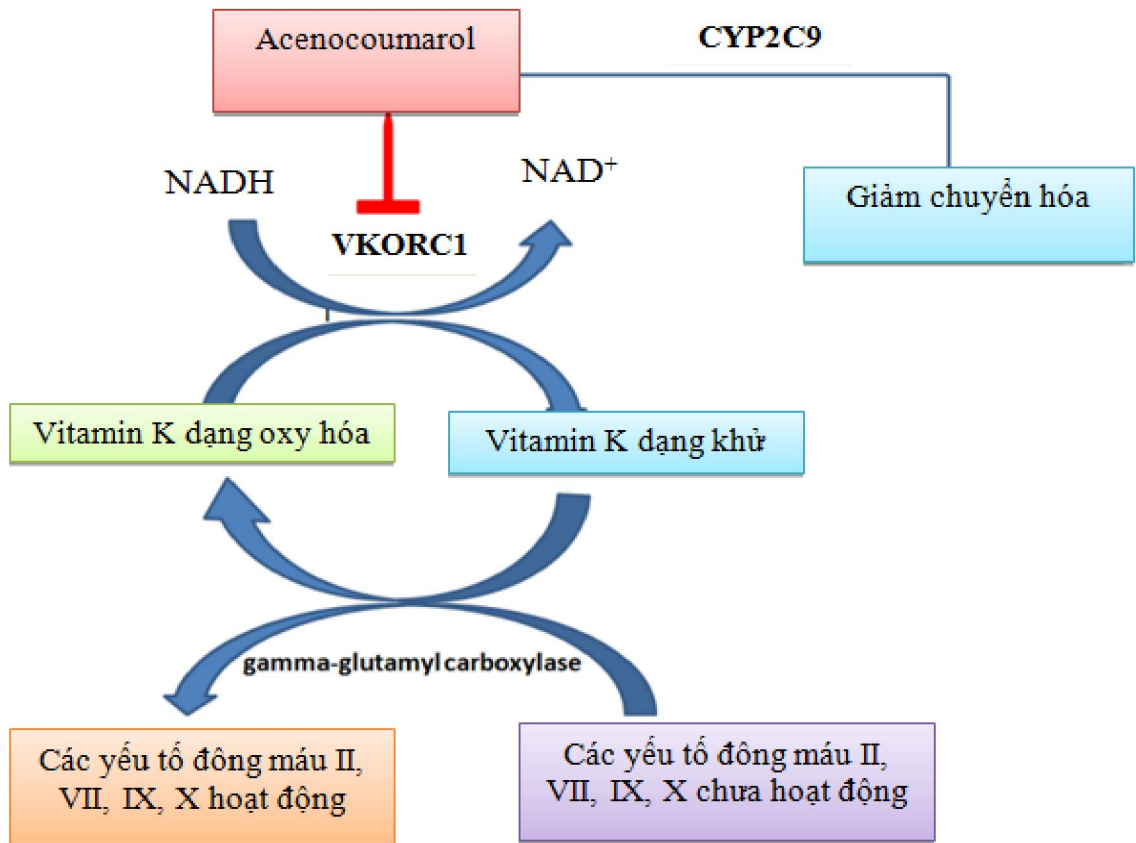
Hiện nay có khoảng 28 biến thể di truyền của gen *VKORC1* đã được phát hiện [58]. Tuy nhiên hai SNPs được cho là ảnh hưởng nhiều nhất tới biến liều thuốc chống đông acenocoumarol là *VKORC1-1639G>A* nằm trên vùng promoter và *VKORC1 1173C>T* nằm trên intron 1 của gen *VKORC1* [6], [79]. Tần số xuất hiện các đa hình này khác nhau ở mỗi chủng tộc. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng biến thể di truyền của hai đa hình này xuất hiện với tần số cao (khoảng >90%) tại các quốc gia ở Châu Á đặc biệt là một số nước Đông Nam Á như Việt Nam, Thái Lan, Malaysia...[57].

Bảng 1.4. Tần số xuất hiện các biến thể di truyền gen *VKORC1 -1639G>A* và *1173C>T* ở một số quốc gia [81]

Quốc gia	<i>VKORC1-1639G>A</i>			<i>VKORC1 1173C>T</i>		
	GG	GA	AA	CC	CT	TT
Pakistan	16,7	70,2	13,1	22,3	55,2	22,5
Nhật Bản	0-0,8	15-16	83-86,6	0-1,2	13,8-15,5	83,7-85
Trung Quốc	0-1,3	11,5-15,7	80,7-88	1-6	14-25	69-85
Ấn Độ	64-81	17-34	0-2,1	75,9-82,4	16,7-22,9	1-1,6
Malaysian	1,6	26,4	72	1,7	32,3	66

Một số nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh mối liên quan mật thiết giữa các biến thể di truyền gen *VKORC1* và liều lượng thuốc chống đông kháng vitamin K như acenocoumarol, các báo cáo đã chỉ ra khoảng 25% -

50% sự thay đổi liều của thuốc phụ thuộc vào biến thể di truyền gen *VKORC1* [82]. Gen *VKORC1* mã hóa enzym là *VKORC1*, đây là một enzym chủ chốt trong quá trình tổng hợp và thoái hóa của vitamin K, xúc tác chuyển vitamin K dạng oxy hóa thành vitamin K dạng khử giúp hoạt hóa các yếu tố đông máu II, VII, IX, X tham gia vào quá trình đông máu [83].



Hình 1.17. Ảnh hưởng của đa hình gen *VKORC1* và *CYP2C9* lên liều thuốc acenocoumarol [84]

(Ghi chú: Gen *CYP2C9* mã hóa enzym *CYP2C9* tác động đến chuyển hóa của acenocoumarol tại gan, gen *VKORC1* mã hóa enzym *VKORC1* là enzym đích của acenocoumarol)

Nhiều nghiên cứu đã liên tục chỉ ra rằng kiểu gen *VKORC1* dường như là yếu tố dự đoán lớn nhất của liều chống đông kháng vitamin K [85]. Mặc dù

nhiều đa hình gen *VKORC1* đã được tìm ra và nghiên cứu về mức độ ảnh hưởng đến liều thuốc chống đông, tuy nhiên hai đa hình gen được đánh giá ảnh hưởng nhiều nhất là *VKORC1-1639G>A* nằm trên vùng promoter và *VKORC1 1173C>T* nằm ở intron 1 của gen *VKORC1* [6], [84], [86].

Đa hình đơn nucleotide *VKORC1 -1639G* nằm ở vị trí nucleotide thứ hai của hộp E (E-Box) thuộc vùng promoter gen *VKORC1* có trình tự là CANNTG (N là nucleotid bất kỳ), đây là vị trí gắn với các yếu tố phiên mã để bắt đầu quá trình phiên mã. Sự xuất hiện biến thể di truyền tại đa hình gen này sẽ thay đổi trình tự đồng thuận của hộp E và dẫn đến những thay đổi trong hoạt động vùng promoter của gen *VKORC1* [87]. Ở cấp độ phiên mã, alen A của *VKORC1 -1639G>A* đã được tìm thấy có liên quan đến việc giảm tổng hợp 70% mRNA của gen *VKORC1* so với alen G, bằng cách xóa bỏ trình tự đồng thuận trong hộp E ở khu vực promoter [82]. Sự giảm tổng hợp mRNA dẫn đến giảm tổng hợp phân tử protein là enzym *VKORC1* [88]. Do vậy, những người mang biến thể di truyền gen *VKORC1 -1639A* có nồng độ enzym *VKORC1* giảm nên cần liều thuốc chống đông thấp hơn bình thường để đạt hiệu quả chống đông máu.

Theo nghiên cứu của tác giả Andrea G và cộng sự đa hình *VKORC1 1173C>T* được xác định không ảnh hưởng đến quá trình cắt nối mRNA của *VKORC1* thông qua thực nghiệm trên tế bào HELA. Giải thích sự ảnh hưởng của đa hình *VKORC1 1173C>T* tới liều thuốc chống đông, tác giả đưa ra giả thuyết rằng đa hình này ở trạng thái mất cân bằng liên kết với alen biến thể chưa biết đến điều chỉnh độ nhạy cảm của thuốc chống đông trị liệu [89]. Theo nghiên cứu của tác giả Kalpana và cộng sự cho thấy có sự mất cân bằng liên kết hoàn toàn giữa đa hình *VKORC1 1173C>T* và *-1639G>A* ($r^2=0,98$, $D'=1,0$, $LOD=74.02$) trên dân số Ấn Độ [6]. Tương tự như vậy tại Trung Quốc tác giả Yuan và cộng sự cũng đã tìm thấy sự mất cân bằng liên kết

mạnh mẽ giữa hai đa hình này trên quần thể nghiên cứu tại Trung Quốc [90]. Tuy nhiên, trên dân số Italia không tìm thấy sự mất cân bằng liên kết này, điều này được lý giải có thể do sự khác biệt về đặc điểm di truyền giữa các chủng tộc khác nhau [70].

1.5. Tình hình nghiên cứu trên thế giới

Nghiên cứu của tác giả Lê Thị Hương và cộng sự năm 2005 đã xác định sự phân bố của 2 alen biến thể *CYP2C9*2* và **3* ở dân tộc Kinh, Việt Nam. DNA của 157 đối tượng Việt được khuếch đại bằng phản ứng PCR, sự hiện diện của alen biến thể *CYP2C9*2* và *CYP2C9*3* được xác định bằng kỹ thuật giải trình tự gen. Kết quả cho thấy, trong số 157 đối tượng Việt, không có sự xuất hiện của alen biến thể *CYP2C9*2*, nhưng có 7 đối tượng là mang kiểu gen dị hợp tử *CYP2C9*1*3* với tần số là 2,2%. Tuy nhiên, nghiên cứu này chưa tìm hiểu mối liên quan giữa biến thể di truyền gen *CYP2C9*3* với hiệu quả điều trị thuốc chống đông máu [68].

Tại Ấn Độ, nghiên cứu trên 205 bệnh nhân đang sử dụng acenocoumarol điều trị với INR ổn định trong ít nhất 3 tháng. Các gen phân tích là *CYP2C9*2*, **3*, *VKORC1 -1639G>A* và *1173C>T*. Kết quả ghi nhận kiểu gen *CYP2C9*1*1* chiếm 78,5%, **1*3* chiếm 14,1%, **1*2* chiếm 6,3%, **2*2* chiếm 0,5%, **2*3* chiếm 0,5% và không phát hiện có **3*3*. Liều sử dụng acenocoumarol hàng ngày giảm 17% ở bệnh nhân mang alen biến thể (**3*) so với alen kiểu dại (**1*). Đối với các đa hình gen *VKORC1 -1639G>A* và *1173C>T* liều sử dụng acenocoumarol hàng ngày giảm 18% ở thể đồng hợp tử (AA/TT) và 14% ở thể dị hợp tử (GA/CT) [6].

Tác giả Anupriya và cộng sự năm 2013 nghiên cứu các đa hình gen *CYP2C9*2*, **3* và *VKORC1 -1639G>A* ở 111 bệnh nhân sau thay van tim nhân tạo đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol, kết quả ghi nhận những người mang alen *CYP2C9*3* có yêu cầu liều thấp nhất. Phân tích hai

nhóm với liều acenocoumarol là ≤ 20 mg/tuần và >20 mg/tuần, cho thấy có đến 69,2% số bệnh nhân mang theo bất kỳ một trong 2 alen biến thể cần một liều điều trị ổn định ≤ 20 mg/tuần, chỉ có 41,2% những người mang alen kiểu dại cần một liều thấp. Do đó, sự có mặt của bất kỳ một alen biến thể nào đều cần liều điều trị thấp hơn, nếu bắt đầu với liều tiêu chuẩn có thể gây nguy cơ xuất huyết cho bệnh nhân [21].

Tại Hy Lạp, để xác định tần số của đa hình *CYP2C9*2*, *CYP2C9*3* và *VKORC1 -1639 G>A* tác giả Markatos và cộng sự đã nghiên cứu trên 98 bệnh nhân điều trị bằng acenocoumarol. Kết quả cho thấy sự xuất hiện của alen *CYP2C9*3* làm giảm rõ rệt liều lượng thuốc acenocoumarol ($p < 0,0001$). Ngược lại, alen *CYP2C9*2* đóng một vai trò nhỏ ($p = 0,3$). Biến thể di truyền *VKORC1-1639 (A)* chỉ cần khoảng một phần ba liều so với thể hoang dại (G) để đạt được INR mục tiêu ($p < 0,0001$). Trong mô hình hồi quy đa biến, kiểu gen *CYP2C9*, *VKORC1* và tuổi giải thích 55% biến liều của acenocoumarol. Nghiên cứu cũng chỉ ra thông số di truyền và lâm sàng phải được kết hợp trong một thuật toán liều cá nhân để đạt được hiệu quả chống đông an toàn hơn cho bệnh nhân [23].

Nghiên cứu của tác giả Ohno và cộng sự trên 125 bệnh nhân người Nhật Bản điều trị bằng wafarin cho thấy sự hiện diện của đa hình di truyền *CYP2C9*3* và *VKORC1 -1639G>A* có tác động đáng kể đến liều duy trì trung bình của warfarin. Trong mô hình hồi quy đa biến, sự kết hợp của tuổi tác, diện tích bề mặt cơ thể và kiểu gen của *CYP2C9*3* và *VKORC1 -1639G>A* đã giải thích 54,8% sự thay đổi liều warfarin. Điều đặc biệt hơn nữa tác giả đã đưa ra công thức dự đoán liều thuốc chống đông wafarin dựa trên những dữ liệu lâm sàng và cận lâm sàng. Việc đưa ra công thức tính liều thuốc dựa trên các thông tin di truyền đóng vai trò vô cùng quan trọng giúp cho các bác sĩ

lâm sàng điều trị bệnh hiệu quả đồng thời giảm thiểu tối đa các nguy cơ cho bệnh nhân. Cụ thể liều thuốc được tính như sau:

$$\text{Liều thuốc (mg/ngày)} = 4,248.(VKORC1-1639GG) + 1,067.(VKORC1-1639GA) - 2,416.(CYP2C9*3*3) - 0,864.(CYP2C9*1*3) + 1,308.(BSA) - 0,025.(Tuổi) + 2,263 \text{ với } p < 0.001, R^2 = 0,548 [73].$$

Ngoài ra, nghiên cứu của Krishna Kumar và cộng sự trên 170 bệnh nhân ở miền Nam Ấn Độ đang dùng thuốc acenocoumarol, tác giả cũng đưa ra công thức tính liều thuốc cho bệnh nhân dựa trên thông tin di truyền như sau: $\text{Liều thuốc (mg/ngày)} = 0,399 - 0,005.(Tuổi) + 0,012.(BMI) - 0,171(CYP2C9*2) - 0,072.(CYP2C9*3) - 0,144.(VKORC1G>A)$. Với kết quả phân tích gen *VKORC1 -1639G>A*: Kiểu gen GG nhận giá trị bằng 0, GA nhận giá trị 1 và AA nhận giá trị 2. Với gen *CYP2C9*: Kiểu gen *1 nhận giá trị 0, *2 nhận giá trị 1 và *3 nhận giá trị 2 [65]. Tác giả Pop và cộng sự đưa ra công thức tính liều thuốc acenocoumarol/tuần trên dân số miền Đông Nam Châu Âu: $\text{Liều thuốc} = 1,402 - 0,005.Tuổi + 0,009.BMI - 0,094(CYP2C9*2) - 0,099(CYP2C9*3) - 0.135(VKORC1-1639GA) - 0.285(VKORC1-1639AA)$ [93].

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Bệnh nhân thay van tim cơ học đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol đạt đích điều trị với INR từ 2,0 đến 3,5 trong 3 tháng liên tiếp [6]. Đồng thời không có biến chứng xuất huyết, huyết khối trong thời gian tham gia nghiên cứu được quản lý tại Bệnh viện Tim Hà Nội và tình nguyện tham gia nghiên cứu.

2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân suy thận, suy gan, HIV, viêm gan B, C, đái tháo đường, nghiện rượu, đang dùng thuốc điều trị bệnh lý dạ dày, bệnh nhân không đạt đích điều trị, có biến chứng xuất huyết, huyết khối trong thời gian tham gia nghiên cứu, bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Cỡ mẫu nghiên cứu

Số lượng bệnh nhân tối thiểu cần cho nghiên cứu được xác định bằng công thức:

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

Trong đó:

n: Số bệnh nhân tối thiểu cần đạt được.

$$Z_{1-\alpha/2} = 1,96$$

p: tỷ lệ phát hiện ra alen biến dị của gen VKORC1 là $p = 0,24$ [6]

d: Hệ số ảnh hưởng 0,05

Thay vào ta có tổng cỡ mẫu $n = 280,3$. Trong nghiên cứu này chúng tôi thu thập được 284 bệnh nhân thay van tim nhân tạo đang sử dụng thuốc chống đông acenocoumarol đủ tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu.

Hai gen *VKORC1* và *CYP2C9* được đưa vào phân tích, chúng tôi không sử dụng tần số xuất hiện alen biến dị *CYP2C9* để xác định cỡ mẫu nghiên cứu vì các theo nghiên cứu trước đây đã công bố, ở các nước Châu Á, đặc biệt là Đông Nam Á trong đó có Việt Nam, alen biến dị *CYP2C9*3* xuất hiện với tần số rất thấp khoảng 2,2% ($p = 0,002$). Do vậy chúng tôi lựa chọn tần số xuất hiện alen biến dị của gen *VKORC1* là 24% ($p = 0,24$) để tính cỡ mẫu nghiên cứu. Hơn nữa, các đa hình gen có thể khác nhau giữa các chủng tộc nên trong nghiên cứu này chúng tôi lựa chọn bệnh nhân dân tộc Kinh để tham gia nghiên cứu.

2.2.2. Các chỉ số, biến số nghiên cứu

2.2.2.1. Thông tin chung về đối tượng nghiên cứu

Chỉ tiêu	Đánh giá
Tuổi (năm)	Tuổi = Năm lấy mẫu - Năm sinh bệnh nhân
Giới	
Huyết áp	Tăng huyết áp khi huyết áp tối đa ≥ 140 mmHg, và/hoặc huyết áp tối thiểu ≥ 90 mmHg
Hút thuốc lá	Trên 2 điếu/1 ngày
BMI (kg/m^2) (Body Mass Index)	Phân loại theo Hiệp hội đái tháo đường các nước Châu Á (International Diabetes Institute & Regional Office for the Western Pacific - IDI & WPRO) dành cho người Châu Á như sau: Cân nặng thấp $< 18,5$ kg/m^2 , cân nặng bình thường là từ 18,5 đến 22,9 kg/m^2 , tiền béo phì là từ 23 đến 24,9 kg/m^2 , béo phì độ I là từ 25 đến 29,9 kg/m^2 , béo phì độ II là từ 30 đến 34,9 kg/m^2 , béo phì độ III ≥ 35 kg/m^2

2.2.2.2. Đặc điểm lâm sàng

Chỉ tiêu	Đánh giá
Nguyên nhân, vị trí thay van tim	Dựa vào khai thác bệnh án ngoại trú
Thời gian phẫu thuật	Tính từ thời điểm phẫu thuật đến khi tham gia nghiên cứu
Tiền sử huyết khối	Qua khai thác thông tin và bệnh án ngoại trú, bao gồm tắc mạch chi, não, kẹt van tim được điều trị tại bệnh viện
Tiền sử xuất huyết	Qua khai thác thông tin và bệnh án ngoại trú, bao gồm bầm tím trên da, chảy máu chân răng, tiểu máu, phân có máu, xuất huyết não
Liều thuốc acenocoumarol	Tính tổng liều trong 1 tuần (do có sự thay đổi liều giữa các ngày điều trị)
Thuốc khác kèm theo	Ngoại trừ các thuốc là vitamin, coenzym

2.2.2.3. Đặc điểm cận lâm sàng

Chỉ tiêu	Đánh giá
Xét nghiệm đông máu	PT (%), PT (s), INR Máy xét nghiệm đông máu CS 1600 (Nhật Bản), sử dụng hóa chất của Sysmex (Nhật Bản)
Sinh hóa máu	Glucose (mmo/L), ure (mmo/L), creatinin (μ mo/L), cholesterol (mmo/L), triglycerid (mmo/L), HDL-C (mmo/L), LDL-C (mmo/L), AST (U/L), ALT (U/L), Na ⁺ (mmo/L), K ⁺ (mmo/L), Cl ⁻ (mmo/L). Máy xét nghiệm Cobas 6000 (Nhật Bản), sử dụng hóa chất của Roche (Đức).

Công thức máu	Các chỉ số công thức máu. Máy công thức máu XN-10 (Nhật Bản), sử dụng hóa chất của Sysmex (Nhật Bản).
Điện tim	Rung nhĩ, nhịp xoang Máy điện tim Nihon Kohden Cardiofax (Nhật Bản).
Siêu âm tim	Chênh áp qua van tim (Tăng khi van hai lá >8 mmHg, van ĐMC >25mmHg), đường kính nhĩ trái (Tăng khi >40mm), áp lực động mạch phổi (Tăng khi >35 mmHg), tổn thương van tim khác (hẹp, hở các van tim khác). Máy siêu âm Nemio 30 (Toshiba –Nhật Bản)

2.2.2.4. Kết quả phân tích gen

Gen nghiên cứu: *CYP2C9**3 rs1057910 (1075A>C), *VKORC1* rs9923231 (-1639G>A); rs9934438 (1173C>T), phân tích gen được thực hiện tại Phòng nghiên cứu di truyền phân tử thuộc Bộ môn Y Dược học cơ sở, Khoa Y Dược Đại học Quốc Gia Hà Nội.

2.2.3. Hóa chất và trang thiết bị nghiên cứu

❖ Hóa chất

- Cặp môi được đặt tổng hợp từ hãng IDT- Mỹ.
- Lambda DNA/HindIII Marker, code: SM0103, hãng: Fermentas.
- 6 X DNA loading dye, code: R0611, hãng: Thermo Scientific.
- GeneRuler: Marker 100-4 kb Plus DNA (Lonza).
- dNTPs 2 mM each, code: R0241, hãng: Thermo Scientific.
- Ethylene diamine tetra acetic acid (EDTA) code:15701500GM, Affymetrix.
- Nước khử ion (DDW), code: 16500100, hãng: Invitrogen.

- Tris base, code: TB0196, hãng: Bio basic.
- Acid acetic, code: 100056, hãng: Merck.
- Phusion DNA polymerase, hãng: Neb (New England Biolabs).
- E.Z.N.A blood DNA Mini kit, code : D3392, hãng: Omega-Biotek.
- GeneJET PCR Kit, hãng: Thermo Fisher Scientific.

❖ Thiết bị

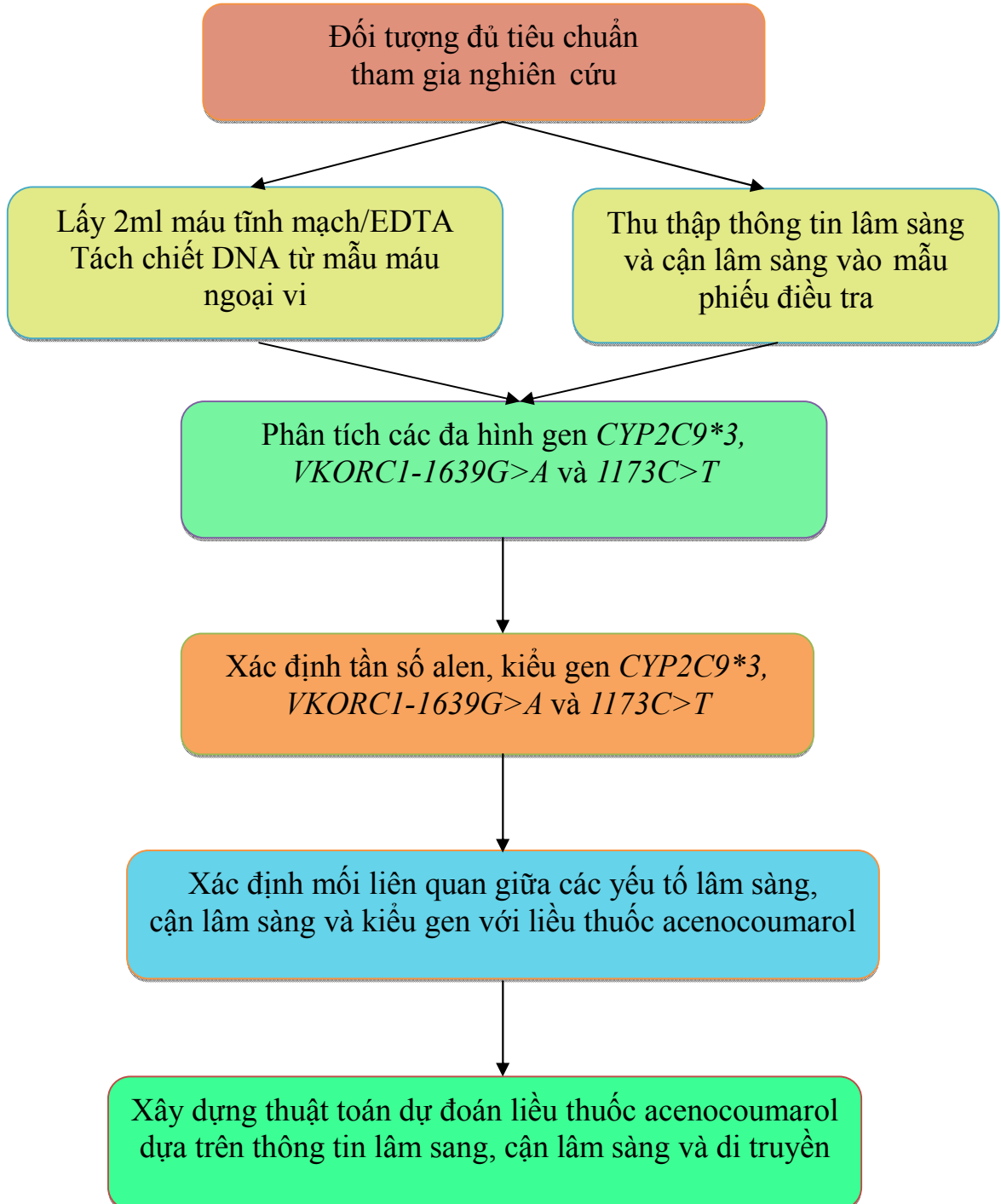
- Máy PCR Prime Thermal Cycler (code: 5PRIME/02, Anh).
- Máy khuếch đại DNA có gradient nhiệt, Mastercycler pro S, Eppendorf, Đức.
- Máy ly tâm EBA 21 Hettich Zentrifugen, Code: D78532, Đức.
- Tủ an toàn sinh học cấp II, Model: AC2-4E8, ESCO 2016-113443, Indonesia.
- Máy quang phổ thể tích nano, Nano Photometer-implen NP80, Đức.
- Máy giải trình tự 3500 Genetic Analyzer applied Biosystems, Mỹ.
- Tủ ấm (Lab.Incubator, Digisystem Laboratory Instruments Inc.), Đài Loan.
- Hệ thống điện di MultiSub Choice, Cleaver Scientific, Bỉ.
- Máy chụp ảnh gel và xử lý hình ảnh điện di có màn hình, GelDoc-it2-UVP, Mỹ.
- Tủ lạnh lưu mẫu sinh phẩm -300C, MDF-U334, Nhật.
- Máy cô DNA, Model: CVE2200, Nhật Bản.

❖ Dụng cụ

- Pipet eppendoft từ 2,5 - 1000 μ l.
- Đầu côn sử dụng cho các pipet.
- Ống fancel 15 ml.
- Ống eppendoft loại 1,5 ml và 2 ml.
- Ống PCR 0,2 ml.

2.2.4. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu được xây dựng theo sơ đồ gồm các bước như sau:



Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

Bước 1: Lựa chọn đối tượng nghiên cứu, thu thập mẫu:

Đối tượng đủ tiêu chuẩn và đồng ý tham gia nghiên cứu sẽ được khai thác thông tin theo bệnh án nghiên cứu mẫu (*Phụ lục 1*). Đồng thời tiến hành thu thập 2ml máu tĩnh mạch ngoại vi đựng trong ống chứa chất chống đông EDTA. Mẫu máu được bảo quản ở tủ âm sâu (-80°C) cho đến khi phân tích mẫu.

Bước 2: Tách chiết DNA từ mẫu máu ngoại vi

Tách chiết DNA từ mẫu máu toàn phần bằng kit E.Z.N.A blood DNA Mini Kit (*Phụ lục 2*). Đo nồng độ và kiểm tra độ tinh sạch của DNA bằng phương pháp đo độ hấp thụ quang (OD: Optical Density) tại bước sóng A260/A280 trên máy Nano Photometer-implen NP80. Kết quả OD của mẫu DNA được coi là đạt khi nồng độ từ 20 ng/ μl trở lên. Với những mẫu có nồng độ quá cao >300 ng/ μl sẽ được pha loãng để đưa nồng độ <100 ng/ μl . Độ tinh sạch DNA được đo bằng tỷ số A260/A280 và mẫu DNA tinh sạch khi tỷ số này từ 1,8-2,0. Để kiểm tra sự toàn vẹn của DNA điện di DNA trên gel Agarose 1,5% (*Phụ lục 3*).

Bước 3: Phân tích các đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T*.

Để xác định tần số các alen, kiểu gen của *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T*, chúng tôi sử dụng kỹ thuật PCR và giải trình tự theo phương pháp Sanger. Trình tự các cặp môi được tham chiếu trên ngân hàng gen NCBI và đặt tổng hợp từ hãng IDT-Mỹ. Trình tự môi xuôi và ngược được thiết kế như sau:

Bảng 2.1. Trình tự môi khuếch đại đoạn gen chứa các alen

Đa hình gen	Môi	Trình tự	Kích thước (bp)
<i>CYP2C9*3</i> (rs1057910)	F	GCATCTGTAACCATCCTCTC	719
	R	GTGTCAAGATTCAGTTCTTTCC	
<i>VKORC1-1639G>A</i> (rs9923231)	F	TACAACCTCCCATCATGCCTG	771
	R	GACCATCGTCAATCTCTACC	
<i>VKORC1 1173C>T</i> (rs9934438)	F	GGTGCCTTAATCCCAGCTACTC	714
	R	AAAGACTCCTGTTAGTTACCTCC	

Khuếch đại đoạn gen chứa SNPs *CYP2C9*3* và *VKORC1-1639G>A*, *VKORC1 1173C>T* trên gen *VKORC1* bằng kỹ thuật PCR với cặp môi đặc hiệu (*Phụ lục 4*).

Thành phần phản ứng PCR (Thể tích 30 μ l): 100ng/ μ l DNA, 0,2mM dNTP, 5X HF buffer, 0,5 μ M môi xuôi và môi ngược, 0,02 u/ μ l Phusion pol, DDW. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR đối với các SNP *CYP2C9*3* và *VKORC1-1639G>A*: 98⁰C/3 phút, 35 chu kỳ 95⁰C/10 giây, 63⁰C/30 giây, 72⁰C/30 giây), 72⁰C/2 phút. Chu trình nhiệt của phản ứng PCR đối với SNP *VKORC1 1173C>T*: 98⁰C/3 phút, 35 chu kỳ 95⁰C/10 giây, 71⁰C/30 giây, 72⁰C/30 giây), 72⁰C/2 phút. Bảo quản mẫu ở 15⁰C.

Kiểm tra chất lượng sản phẩm PCR bằng phương pháp điện di trên gel agarose 1,5% (*Phụ lục 3*). Mẫu PCR có chất lượng tốt sẽ được tinh sạch bằng sử dụng kit Promega Wizard SV gel clean-up system (Promega, USA) (*Phụ lục 5*). Kiểm tra độ tinh sạch bằng cách đo OD sử dụng máy quang phổ thể tích nano, Nano Photometer-implen NP88. Xác định kiểu gen của SNP *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* bằng phương pháp giải trình tự gen theo phương pháp Sanger (*Phụ lục 6*).

Thành phần phản ứng giải trình tự: 2µl DNA đích đã được tinh sạch, 2µl BigDye Terminator v3.0, 3,2µl môi xuôi (hoặc môi ngược) 1 µM, 4µl BigDye seq. buffer 5X, 8,8µl nước cất.

Chu trình nhiệt của phản ứng: 5 phút đầu tiên ở 98⁰C, tiếp theo sau 15 giây ở 98⁰C, sau đó 10 giây ở 60⁰C, 2 phút ở 60⁰C trong 30 chu kỳ. Sau khi kết thúc phản ứng sản phẩm sẽ được tinh sạch bằng Wizard PCR Clean-up System (Promega). Sau đó tiến hành phân tích trên hệ thống ABI Prism 310 (Applied Biosystems): Cho vào mỗi giếng 5 µl DNA và 15 µl formandehide. Đặt các giếng vào máy giải trình tự và chạy chương trình. Để đảm bảo độ chính xác của kỹ thuật, kết quả phân tích gen được kiểm tra bởi hãng First Base (Malaysia).

Kết quả giải trình tự được đọc bằng phần mềm BioEdit version 7.1.9. Các nucleotid trên gen sẽ được biểu hiện bằng các đỉnh (peak) với 4 màu tương đương với 4 loại nucleotid A,T,G,C. Trình tự gen thu được sau khi giải trình tự sẽ được so sánh với trình tự trên Genbank. Đọc và phân tích các đa hình gen được thực hiện tại Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội.

Bước 4: Xử lý số liệu, xác định tần số alen, kiểu gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* ở quần thể nghiên cứu.

Sử dụng phần mềm thống kê SPSS 20.0 để tính toán tần số alen và các kiểu gen ở quần thể nghiên cứu.

Bước 5: Xác định mối liên quan giữa các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kiểu gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* với liều thuốc chống đông acenocoumarol.

Dựa vào kết quả giải trình tự các đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* và các thông tin lâm sàng, cận lâm sàng thu thập được, phân tích mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kiểu gen với

liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học. Từ đó đánh giá vai trò, tác động của các yếu tố này lên liều thuốc acenocoumarol.

2.3. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

2.3.1. Địa điểm nghiên cứu

❖ Địa điểm lấy mẫu: Bệnh viện Tim Hà Nội.

❖ Địa điểm nghiên cứu:

Bộ môn Hóa sinh Trường Đại học Y Hà Nội

Bệnh viện Tim Hà Nội

Bộ môn Y Dược học cơ sở, Khoa Y Dược, Đại học Quốc Gia Hà Nội

2.3.2. Thời gian nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu: Từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019. Trong đó, thời gian thu thập mẫu từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 10 năm 2019, thời gian phân tích mẫu từ tháng 7 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019.

2.4. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0, excel 2010. Sử dụng các thuật toán thống kê: tính trị số trung bình, trung vị, T- test, χ^2 , ANOVA test, Chisquare-test, Fisher tes, hồi quy logistic... để xác định tần số alen, kiểu gen, mối liên quan giữa các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và các kiểu gen với liều thuốc acenocoumarol.

2.5. Các loại sai số và cách khắc phục

2.5.1. Sai số mắc phải

Sai số trong quá trình lựa chọn bệnh nhân.

Sai số trong quá trình tiến hành xét nghiệm: sai số hệ thống do máy móc hoặc do các loại test, kit. Sai số do người làm xét nghiệm, do ảnh hưởng của môi trường tác động lên kết quả xét nghiệm.

Sai số trong quá trình thu thập số liệu: Có thể gặp trong quá trình thăm khám bệnh nhân, phát hiện và ghi chép các biểu hiện lâm sàng. Sai số trong quá trình nhập liệu và phân tích số liệu.

2.5.2. Cách khắc phục sai số

Đối với sai số khi lựa chọn bệnh nhân: Khắc phục bằng việc lấy mẫu ngẫu nhiên đảm bảo khách quan, lấy trong khoảng thời gian xác định.

Đối với sai số trong quá trình xét nghiệm: Khắc phục bằng việc chuẩn hóa quy trình xét nghiệm, các bộ test, kit trước khi thực hiện. Đào tạo tập huấn cán bộ phòng xét nghiệm làm thành thạo các quy trình, chuẩn hóa các loại máy móc, trang thiết bị ngay trước khi thực hiện.

Đối với sai số trong quá trình thu thập số liệu: Làm sạch số liệu trước khi nhập, phiếu thu thập thông tin và bệnh án thống nhất.

Nghiên cứu sinh trực tiếp thu thập thông tin nên hạn chế sai số này.

2.6. Vấn đề đạo đức trong nghiên cứu y sinh

Việc thực hiện nghiên cứu này đã được thông qua bởi Hội Đồng Đạo Đức theo Quyết định số 142/HĐĐDDHYN, ngày 06/12/2017 của Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học, Trường Đại học Y Hà Nội. Bệnh nhân trước khi tham gia nghiên cứu được thông báo đầy đủ về mục đích, lợi ích cũng như những ảnh hưởng bất lợi của nghiên cứu tới bệnh nhân. Bệnh nhân có quyền rút khỏi nghiên cứu bất kỳ lúc nào và vì bất cứ lý do gì. Các thông tin của bệnh nhân được đảm bảo bí mật tuyệt đối và chỉ được sử dụng cho mục đích nghiên cứu. Bệnh nhân tham gia nghiên cứu là những người đã đạt đích điều trị do vậy kết quả nghiên cứu không làm ảnh hưởng đến điều trị của bệnh nhân, kết quả phân tích gen được thông báo đến bệnh nhân và bác sĩ điều trị. Nghiên cứu mang lại lợi ích cho cộng đồng, đặc biệt những bệnh nhân bắt đầu điều trị bằng thuốc acenocoumarol.

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu được thực hiện trên 284 bệnh nhân thay van tim cơ học đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol đạt đích điều trị INR từ 2,0 đến 3,5 trong ít nhất 3 tháng liên tiếp được theo dõi và quản lý tại Bệnh viện Tim Hà Nội từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019 thu được một số kết quả như sau:

3.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tính đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* ở bệnh nhân thay van tim cơ học

3.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng ở nhóm nghiên cứu

3.1.1.1. Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm nghiên cứu

Bảng 3.1. Đặc điểm về tuổi và giới của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	X±SD	Min	Max
Tuổi (năm)	20-39	36	12,7	50,84±9,17	20	69
	40-59	205	72,2			
	60-69	43	15,1			
Giới	Nam	117	41,2	Nữ/nam: 1,43/1		
	Nữ	167	58,8			

Nhận xét:

Nghiên cứu trên 284 bệnh nhân thay van tim cơ học cho thấy độ tuổi trung bình là 50,84. Trong đó, bệnh nhân trẻ tuổi nhất được ghi nhận là 20 tuổi và lớn nhất là 69 tuổi.

Biến độ tuổi của nhóm nghiên cứu tuân theo quy luật chuẩn Gauss với độ tuổi thường gặp là từ 40 đến 59 chiếm 72,2%, độ tuổi ít gặp nhất là từ 20 đến 39 tuổi chiếm 12,7%, còn lại độ tuổi từ 60 đến 69 chiếm 15,1% trong nhóm nghiên cứu.

Bệnh nhân nữ chiếm đa số trong nghiên cứu với 167 bệnh nhân chiếm 58,8%, nam giới là 117 bệnh nhân chiếm 41,2%. Tỷ lệ nữ/nam là 1,43/1.

3.1.1.2. Đặc điểm về chỉ số BMI của nhóm nghiên cứu

Bảng 3.2. Đặc điểm về chỉ số BMI của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ	Min	Max
BMI (kg/m²)	(n)	(%)		
Thấp cân: <18,5	36	12,7	14,5	29,4
Bình thường: 18,5-22,9	178	62,7		
Tiền béo phì: 23-24,9	41	14,4		
Béo phì độ I: 25-29,9	29	10,2		
X±SD	21,39±2,71			

Nhận xét:

Chỉ số BMI trung bình của nhóm nghiên cứu là 21,39 kg/m², trong đó chỉ số BMI thấp nhất được ghi nhận là 14,5 kg/m², cao nhất là 29,4 kg/m². Mặc dù chỉ số BMI trung bình trong giới hạn bình thường, tuy nhiên để đánh giá chính xác sự phân bố của BMI trong nhóm nghiên cứu, chúng tôi đã phân loại BMI theo tiêu chuẩn của IDI & WPRO, kết quả cho thấy bệnh nhân thừa cân (tiền béo phì) chiếm 14,4%, béo phì độ I chiếm 10,2% và 12,7% bệnh nhân có cân nặng thấp, không có bệnh nhân nào béo phì độ II và III.

3.1.1.3. Một số yếu tố nguy cơ, nguyên nhân và vị trí thay van tim ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.3. Một số yếu tố nguy cơ, nguyên nhân và vị trí thay van tim ở nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Tăng huyết áp	49	17,3
Hút thuốc	33	11,6
Thay van do thấp tim	220	77,5
Thay van hai lá	160	56,3
Thay van động mạch chủ	60	21,1
Thay van kép	64	22,5

Nhận xét:

Qua khai thác thông tin bằng bệnh án nghiên cứu ở 284 bệnh nhân sau thay van tim cơ học chúng tôi ghi nhận có 17,3% bệnh nhân bị tăng huyết áp và 11,6% bệnh nhân thường xuyên hút thuốc lá.

Trong số các nguyên nhân dẫn đến thay van tim cơ học thì có tới 77,5% bệnh nhân mang tổn thương van do thấp tim, thay van tim do các nguyên nhân khác như viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn, bẩm sinh, hoặc không rõ nguyên nhân chiếm 23,5%.

Đồng thời, ở nhóm nghiên cứu thay van hai lá cơ học chiếm đa số với 56,3%, tỷ lệ bệnh nhân thay van động mạch chủ và van kép chiếm lần lượt là 21,1% và 22,5%.

3.1.1.4. Đặc điểm về thời gian sau thay van cơ học ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.4. Đặc điểm về thời gian sau thay van cơ học

Thời gian phẫu thuật	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	X±SD
<1 năm	49	17,3	1,94±1,50
1-2 năm	135	47,5	
2-3 năm	65	22,9	
>3 năm	35	12,3	

Nhận xét:

Thời gian sau thay van cơ học trung bình của nhóm nghiên cứu là 1,94 năm. Bệnh nhân có thời gian phẫu thuật từ 1 đến 2 năm chiếm đa số trong nghiên cứu với 47,5%, bệnh nhân trên 3 năm chiếm tỷ lệ thấp nhất với 12,3%.

3.1.1.5. Đặc điểm về tiền sử biến chứng xuất huyết ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.5. Đặc điểm về tiền sử biến chứng xuất huyết

Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Không	56	19,7
Xuất huyết dưới da	139	48,9
Xuất huyết niêm mạc	18	6,3
Chảy máu chân răng	52	18,3
Xuất huyết tiết niệu	4	1,4
Xuất huyết tiêu hóa	5	1,8
Tụ máu trong cơ	2	0,7
Xuất huyết não	1	0,4

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy có 228/284 bệnh nhân tiền sử bị xuất huyết chiếm đa số trong nghiên cứu với 80,3%. Trong đó, có 139 bệnh nhân xuất huyết dưới da, 52 bệnh nhân chảy máu chân răng, 18 bệnh nhân xuất huyết niêm mạc và 2 bệnh nhân tụ máu trong cơ. Đặc biệt trong nhóm nghiên cứu có 10 bệnh nhân xuất huyết nặng ở nội tạng hoặc não. Cụ thể, có 5 bệnh nhân xuất huyết tiêu hóa, 4 bệnh nhân xuất huyết tiết niệu và 1 bệnh nhân xuất huyết não.

3.1.1.6. Đặc điểm về tiền sử huyết khối ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.6. Đặc điểm về tiền sử huyết khối ở nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Không	273	96,1
Tắc mạch chi	1	0,4
Tắc mạch não	6	2,1
Kẹt van	3	1,1
Kẹt van và tắc mạch não	1	0,4

Nhận xét:

Biến chứng huyết khối là một trong những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có 11/284 bệnh nhân có tiền sử bị biến chứng huyết khối chiếm 3,9%. Trong đó, 6 bệnh nhân bị tắc mạch não, 1 bệnh nhân tắc mạch chi, 3 bệnh nhân kẹt van tim phải phẫu thuật lại và 1 bệnh nhân kẹt van kèm tắc mạch não.

3.1.1.7. Một số thuốc dùng phối hợp ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.7. Một số thuốc dùng phối hợp ở nhóm nghiên cứu

Thuốc phối hợp	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Furosemid	38	13,38
Digoxin	19	6,69
Beta-bloker	224	78,87
Chẹn kênh calci	12	4,23
Ức chế enzym chuyển angiotensin	117	41,20
Statin	10	3,52
Aspirin	6	2,11
Clodolpigrel	3	1,06
Amiodazon	1	0,35

Nhận xét:

Việc sử dụng các thuốc khác bên cạnh acenocoumarol đôi khi là bắt buộc do bệnh nhân bị các bệnh lý khác kèm theo như tăng huyết áp, suy tim, rối loạn lipid máu... Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy thuốc beta-bloker được dùng phổ biến nhất với 78,87%, tiếp theo là thuốc ức chế enzym chuyển angiotensin (thuốc ức chế ACE) chiếm 41,20%, furosemid là 13,38%, các thuốc khác như digoxin, chẹn kênh calci, statin, aspirin, clodolpigrel và amiodazon chiếm lần lượt là 6,69%, 4,23%, 3,52%, 2,11%, 1,06% và 0,35%.

3.1.2. Một số đặc điểm cận lâm sàng ở nhóm nghiên cứu

3.1.2.1. Một số chỉ số xét nghiệm hóa sinh ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.8. Một số chỉ số xét nghiệm hóa sinh ở nhóm nghiên cứu

Chỉ số	Số lượng (n)	X±SD
Glucose (mmol/L)	210	5,40±0,71
Ure (mmol/L)	230	5,44±1,65
Creatinin (μmol/L)	250	70,83±16,01
Cholesterol (mmol/L)	187	4,66±1,02
Triglycerid (mmol/L)	187	2,05±1,64
HDL-C (mmol/L)	187	1,20±0,31
LDL-C (mmol/L)	187	2,59±0,86
ALT (U/L/37 ⁰ C)	243	21,13±9,79
AST (U/L/37 ⁰ C)	243	29,91±7,51
Na ⁺ (mmol/L)	250	139,31±2,99
K ⁺ (mmol/L)	250	4,19±2,49
Cl ⁻ (mmol/L)	250	104,34±57,22

Nhận xét:

Do tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân của nhóm nghiên cứu là những người không mắc các bệnh lý như suy gan, suy thận, nhiễm trùng cấp tính... Do vậy, kết quả về một số chỉ số hóa sinh máu như glucose, ure, creatinin, ALT, AST, Na⁺, K⁺, Cl⁻ ở nhóm nghiên cứu đều trong giới hạn bình thường.

3.1.2.2. Một số chỉ số huyết học của nhóm nghiên cứu

Bảng 3.9. Một số chỉ số huyết học của nhóm nghiên cứu

Chỉ số	Số lượng (n)	X±SD
RBC (10 ¹² /L)	240	4,63±0,52
Hb (g/L)	240	130,53±14,78
Hct (L/L)	240	0,39±0,06
WBC (10 ⁹ /L)	240	7,37±2,03
PLT (10 ⁹ /L)	240	229,84±71,10
MPV (fL)	240	9,84±0,99
PCT (%)	240	0,23±0,07
PDW (fL)	240	10,92±2,02
P-LCR (%)	240	25,02±18,50

Nhận xét:

Tương tự xét nghiệm hóa sinh máu, do tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân nên một số chỉ số huyết học như RBC, Hb, Hct, WBC, đặc biệt là các thành phần của tiểu cầu như PLT, MPV, PCT, PDW, P-LCR ở bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu đều nằm trong giới hạn bình thường.

3.1.2.3. Một số chỉ số đông máu ở nhóm nghiên cứu

Bảng 3.10. Một số chỉ số đông máu ở nhóm nghiên cứu

Chỉ số (n=284)	Tháng 1 (X±SD)	Tháng 2 (X±SD)	Tháng 3 (X±SD)
INR	2,65±0,44	2,68±0,43	2,72±1,19
PT(s)	31,04±18,14	31,89±21,17	29,64±5,02
PT(%)	24,93±18,63	23,44±5,51	25,08±16,75

Nhận xét:

Một số chỉ số đông máu trung bình ở nhóm nghiên cứu như chỉ số INR, PT(s), PT(%) trong 03 tháng liên tiếp đều nằm trong tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu, đặc biệt chỉ số INR trong 03 tháng liên tiếp nằm trong khoảng từ 2,0 đến 3,5.

*3.1.2.4. Đặc điểm về điện tim và siêu âm tim ở nhóm nghiên cứu***Bảng 3.11. Đặc điểm về điện tim và siêu âm tim ở nhóm nghiên cứu**

Đặc điểm		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Điện tim (n=272)	Rung nhĩ	184	67,6
	Nhịp xoang	88	32,4
Siêu âm tim (n=187)	Chênh áp qua van tăng	19	10,16
	Tổn thương van khác kèm theo	112	59,89
	Tăng áp động mạch phổi	33	17,65
	Nhĩ trái giãn	130	69,52
	Giảm chức năng tâm thu thất trái	17	9,09

Nhận xét:

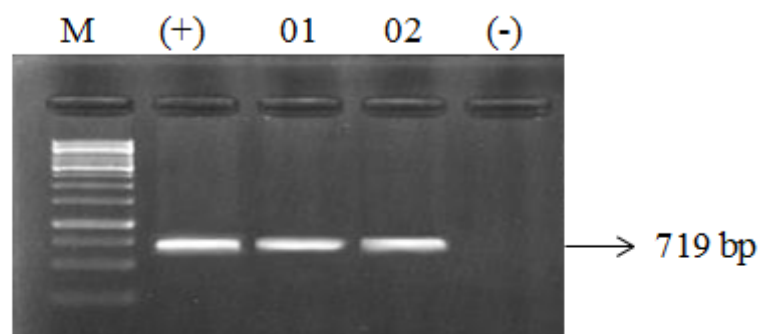
Kết quả nghiên cứu về đặc điểm điện tim ở nhóm nghiên cứu cho thấy có 184/272 bệnh nhân rung nhĩ chiếm đa số trong nghiên cứu với 67,6%.

Kết quả nghiên cứu về một số đặc điểm trên siêu âm tim ghi nhận trong tổng số 187 bệnh nhân có 130 bệnh nhân nhĩ trái giãn chiếm 69,52%, 112 bệnh nhân có các tổn thương van khác kèm theo chiếm 59,89%, 19 bệnh nhân có chênh áp qua van cơ học tăng chiếm 10,16% và 17 bệnh nhân giảm chức năng tâm thu thất trái chiếm 9,09% .

3.1.3. Tính đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* ở nhóm nghiên cứu

3.1.3.1. Tần số alen, kiểu gen *CYP2C9*3* ở nhóm nghiên cứu

SNP *CYP2C9*3* nằm trên exon 7 của gen *CYP2C9* được khuếch đại bằng phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu, sản phẩm được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%.



Hình 3.1. Hình ảnh điện di sản phẩm phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa SNP *CYP2C9*3*

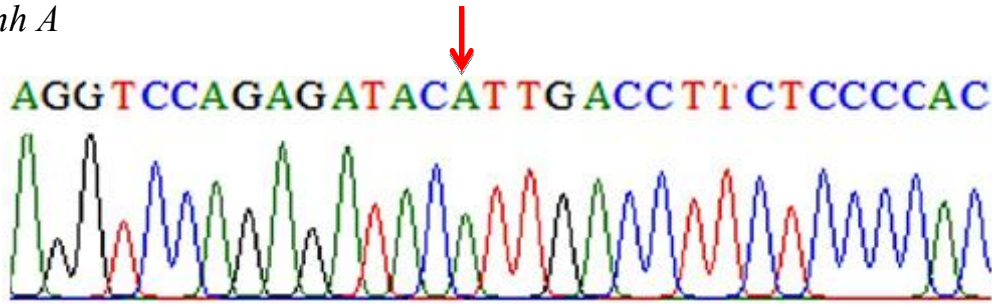
Ghi chú: Làn (M): Marker 250 - 10.000 bp. Làn 01, 02: Sản phẩm phản ứng khuếch đại của bệnh nhân nghiên cứu. Làn (+): Mẫu biết trước kích thước 719bp làm đối chứng dương. Làn (-): Nước cất làm đối chứng âm.

Nhận xét:

Trên gel điện di các mẫu DNA tạo thành một băng duy nhất, rõ nét, không có băng phụ, không bị đứt gãy có kích thước là 719 bp.

Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch, giải trình tự và được phân tích bằng phần mềm BioEdit version 7.1.9, kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự chuẩn của gen *CYP2C9* trên GeneBank.

Hình A



Hình B



Hình 3.2. Hình ảnh giải trình tự giải trình exon 7 xác định SNP CYP2C9*3 của gen CYP2C9

Hình A. Kiểu gen AA (Bệnh nhân Nguyễn Văn D), Hình B. Kiểu gen AC (Bệnh nhân Đỗ thị M)

Nhận xét:

Sản phẩm giải trình tự rõ nét, các đỉnh màu tương ứng với các nucleotid rõ ràng và không có tín hiệu nhiễu. Khi so sánh với trình tự gen CYP2C9 trên GeneBank cho thấy kiểu gen CYP2C9*1*1 có một đỉnh nucleotid A duy nhất tại vị trí nucleotid thứ 2 của codon 359 (Hình A). Kiểu gen CYP2C9*1*3 có hai đỉnh nucleotid A và nucleotid C (Hình B).

Từ kết quả giải trình tự đa hình đơn nucleotid CYP2C9*3 trên 284 bệnh nhân sau thay van tim cơ học đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol, chúng tôi thu được kết quả về tần số alen, kiểu gen của đa hình trên như sau:

Bảng 3.12. Tần số alen và kiểu gen *CYP2C93 ở nhóm nghiên cứu**

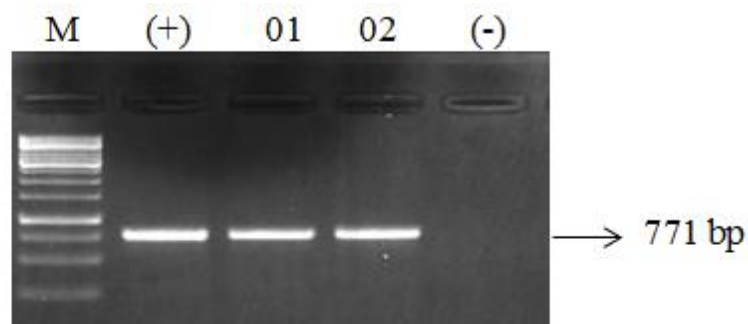
Kiểu gen <i>CYP2C9</i> *3	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Alen *1	Alen *3
<i>CYP2C9</i> *1*1	270	95,1	0,975	0,025
<i>CYP2C9</i> *1*3	14	4,9		
<i>CYP2C9</i> *3*3	0	0		

Nhận xét:

Kết quả phân tích đa hình gen *CYP2C9**3 cho thấy alen biến dị *CYP2C9**3 là khá hiếm trong nhóm nghiên cứu (0,025), kiểu gen dị hợp *CYP2C9* *1*3 chỉ chiếm 4,9%, đặc biệt không có bệnh nhân nào mang kiểu gen đồng hợp biến dị *CYP2C9**3*3. Như vậy, alen và kiểu gen nguyên thủy vẫn chiếm đa số trong nghiên cứu.

3.1.3.2. Tần số alen và kiểu gen *VKORC1*-1639G>A ở nhóm nghiên cứu

Để xác định tần số alen, kiểu gen của *VKORC1*-1639G>A nằm trên vùng promoter của gen *VKORC1*, phản ứng PCR được thực hiện với cặp mồi đặc hiệu. Sản phẩm khuếch đại gen được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%.



Hình 3.3. Điện di sản phẩm phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa SNP *VKORC1*-1639G>A

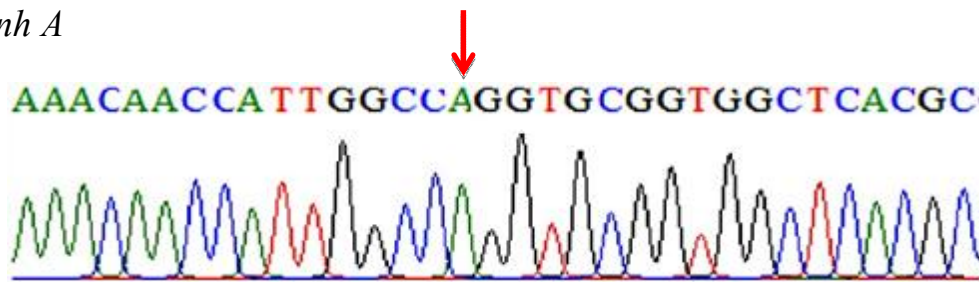
(Ghi chú: Làn (M): Marker 250 - 10.000 bp. Làn 01, 02: Sản phẩm phản ứng khuếch đại của bệnh nhân nghiên cứu. Làn (+): Mẫu biết trước kích thước 771bp làm đối chứng dương. Làn (-): Nước cất làm đối chứng âm)

Nhận xét:

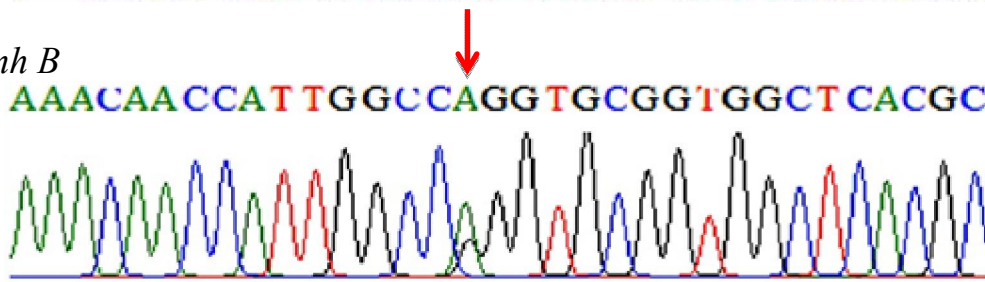
Trên gel điện di, các mẫu DNA tạo thành một băng duy nhất, rõ nét, không có băng phụ, không bị đứt gãy có kích thước 771bp.

Sản phẩm PCR được tinh sạch, giải trình tự và phân tích bằng phần mềm BioEdit version 7.1.9, kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự chuẩn của gen *VKORC1* trên GeneBank.

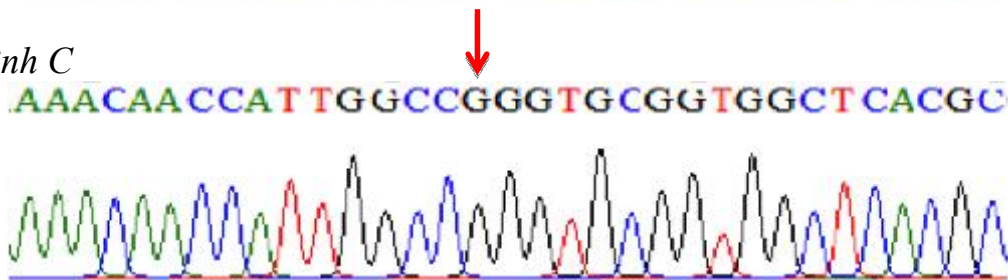
Hình A



Hình B



Hình C



Hình 3.4. Hình ảnh giải trình tự vùng promoter xác định SNP *VKORC1*-1639G>A của gen *VKORC1*

Ghi chú: Hình A. Kiểu gen AA (Bệnh nhân Lê Minh H), Hình B. Kiểu gen AG (Bệnh nhân Bùi Thị H), Hình C. Kiểu gen GG (Bệnh nhân Trần Hữu T)
Nhận xét:

Sản phẩm giải trình tự rõ nét, không có tín hiệu nhiễu, các đỉnh màu tương ứng với các nucleotid rõ ràng. Khi so sánh với trình tự gen *VKORC1*

trên GeneBank cho thấy kiểu gen *VKORC1-1639AA* có một đỉnh nucleotid A duy nhất tại vùng promoter (Hình A). Kiểu gen *VKORC1-1639GA* có hai đỉnh nucleotid G và nucleotid A (Hình B). Kiểu gen *VKORC1-1639GG* có một đỉnh nucleotid G duy nhất (Hình C).

Từ kết quả giải trình tự xác định đa hình gen *VKORC1-1639G>A* trên 284 bệnh nhân sau thay van tim cơ học đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol, chúng tôi thu được kết quả về tần số alen, kiểu gen của đa hình trên như sau:

Bảng 3.13. Tần số alen và kiểu gen *VKORC1-1639G>A*

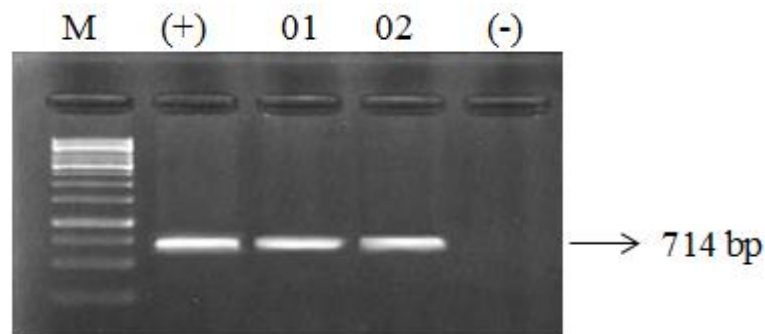
Kiểu gen <i>VKORC1-1639G>A</i>	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Alen G	Alen A
<i>VKORC1-1639GG</i>	3	1,1	0,137	0,863
<i>VKORC1-1639GA</i>	72	25,4		
<i>VKORC1-1639AA</i>	209	73,6		

Nhận xét:

Kết quả phân tích đa hình gen *VKORC1-1639G>A* trên tổng số 284 bệnh nhân sau thay van tim cơ học cho thấy tần số xuất hiện alen biến dị (A) cao hơn alen kiểu dại (G) (0,863 và 0,137). Bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị (AA) chiếm đa số trong nghiên cứu với 73,6%, kiểu gen dị hợp (GA) là 25,4% và đặc biệt kiểu gen đồng hợp kiểu dại (GG) chiếm rất ít trong nghiên cứu với 1,1%.

3.1.3.3. Tần số alen và kiểu gen *VKORC1* 1173C>T ở nhóm nghiên cứu

Phản ứng PCR với cặp mồi đặc hiệu được thực hiện nhằm khuếch đại đoạn gen chứa SNP *VKORC1* 1173C>T nằm trên intron 1 của gen *VKORC1*. Sản phẩm PCR được kiểm tra bằng điện di trên gel agarose 1,5%.



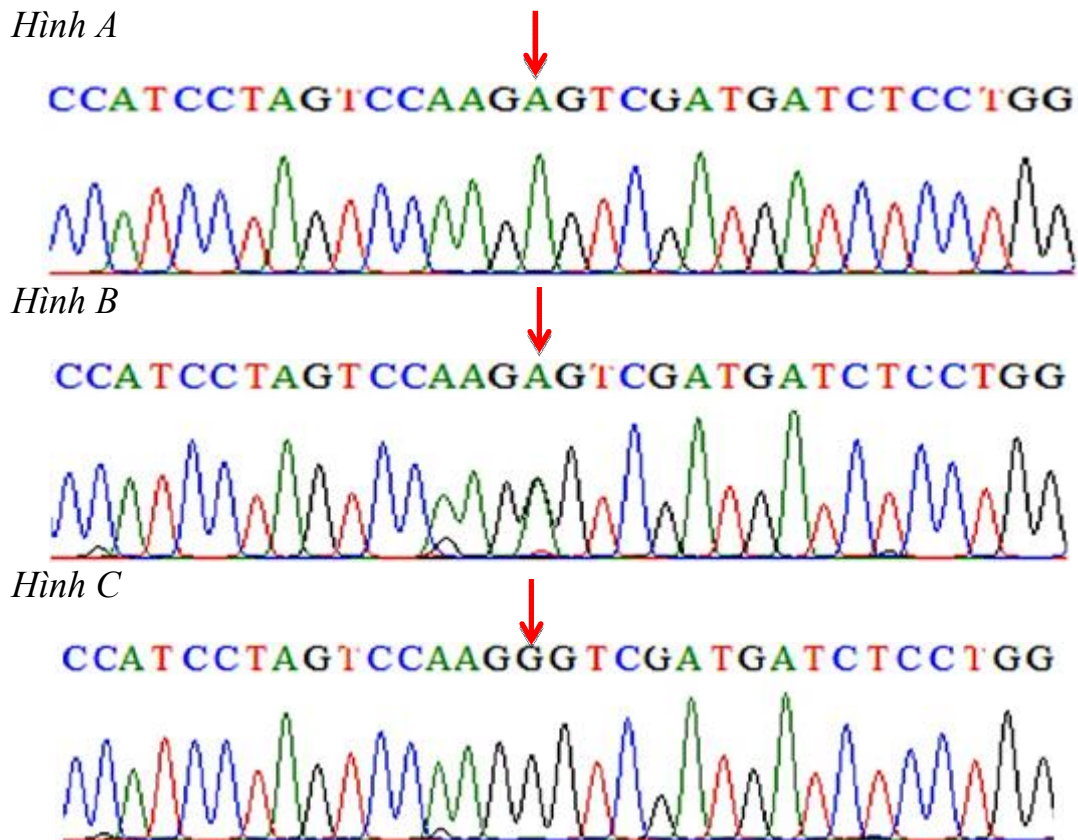
Hình 3.5. Điện di sản phẩm phản ứng khuếch đại đoạn gen chứa SNP *VKORC1* 1173C>T

(Ghi chú: Làn (M): Marker 250 - 10.000 bp. Làn 01, 02: Sản phẩm phản ứng khuếch đại của bệnh nhân nghiên cứu. Làn (+): Mẫu biết trước kích thước 714bp làm đối chứng dương. Làn (-): Nước cất làm đối chứng âm)

Nhận xét:

Kết quả điện di trên gel agarose cho thấy các mẫu DNA tạo thành một băng duy nhất, rõ nét, không có băng phụ, không bị đứt gãy. Sản phẩm khuếch đại đoạn gen chứa SNP *VKORC1* 1173C>T cho băng điện di duy nhất có kích thước 714 bp.

Sản phẩm PCR sau đó được tinh sạch, giải trình tự và được phân tích bằng phần mềm BioEdit version 7.1.9. Kết quả giải trình tự được so sánh với trình tự chuẩn trên GeneBank của gen *VKORC1*:



Hình 3.6. Hình ảnh giải trình tự đại diện các kiểu gen của SNP *VKORC1* 1173C>T (rs9934438)

Ghi chú: Hình A. Kiểu gen AA/TT (Bệnh nhân Nghiêm Thị H), Hình B. Kiểu gen AG/TC (Bệnh nhân Nguyễn Văn Q), Hình C. Kiểu gen GG/CC (Bệnh nhân Chu Văn D)

Nhận xét:

Sản phẩm giải trình tự rõ nét, không có tín hiệu nhiễu, các đỉnh màu tương ứng với các nucleotid rõ ràng. Khi so sánh với trình tự gen *VKORC1* trên GeneBank cho thấy kiểu gen *VKORC1* 1173TT có một đỉnh nucleotid A/T duy nhất tại vùng intron của gen *VKORC1* (Hình A). Kiểu gen *VKORC1* 1173CT có hai đỉnh nucleotid C/G và nucleotid T/A (Hình B), kiểu gen *VKORC1* 1173CC có một đỉnh nucleotid C/G duy nhất (Hình C).

Từ kết quả giải trình tự xác định SNP *VKORC1 1173C>T* trên 284 bệnh nhân sau thay van tim cơ học đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol, chúng tôi thu được kết quả về tần số alen, kiểu gen của các đa hình trên như sau:

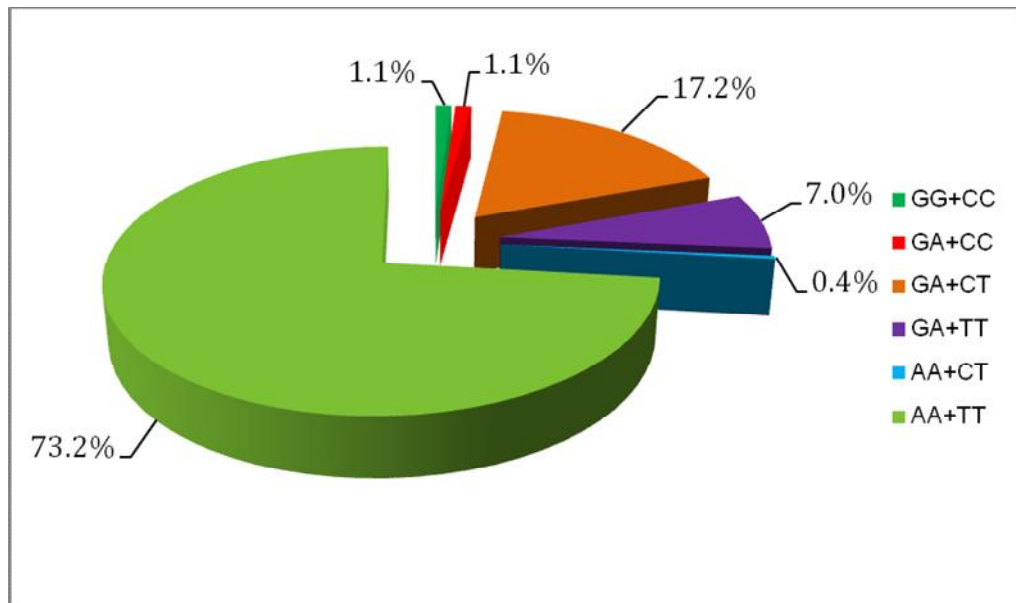
Bảng 3.14. Tần số alen và kiểu gen *VKORC1 1173C>T* ở nhóm nghiên cứu

Kiểu gen <i>VKORC1 1173C>T</i>	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Alen C	Alen T
<i>VKORC1 1173CC</i>	6	2,1	0,109	0,891
<i>VKORC1 1173CT</i>	50	17,6		
<i>VKORC1 1173TT</i>	228	80,3		

Nhận xét:

Khi phân tích đa hình gen *VKORC1 1173C>T*, chúng tôi ghi nhận alen biến dị (T) xuất hiện với tần số khá cao (0,891), ngược lại alen kiểu dại (C) lại khá ít trong nhóm nghiên cứu (0,109). Về tỷ lệ phân bố các kiểu gen của *VKORC1 1173C>T* cho thấy, kiểu gen *VKORC1 1173TT* là chủ yếu trong nghiên cứu chiếm 80,3%, kiểu gen dị hợp thấp hơn với 17,6%, đồng hợp kiểu dại chiếm ít nhất với 2,1%.

3.1.3.4. Tần số kiểu gen phối hợp của gen *VKORC1* -1639G>A, 1173C>T ở nhóm nghiên cứu



Hình 3.7. Tần số kiểu gen phối hợp của *VKORC1* -1639G>A và *VKORC1* 1173C>T ở nhóm nghiên cứu

Nhận xét:

Trong tổng số 284 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, tỷ lệ bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị ở cả hai SNP *VKORC1* -1639G>A và *VKORC1* 1173C>T là AA+TT chiếm đa số trong nghiên cứu với 73,2%, kiểu gen dị hợp (GA+CT) chiếm 17,3%, đồng hợp kiểu dại (GG+CC) chiếm 1,1%, các kiểu gen khác như (GA+TT), (GA+CC) và (AA+CT) chiếm lần lượt là 7%, 1,1% và 0,4%. Đặc biệt, không xuất hiện kiểu gen AA+CC, GG+CT, GG+TT trong quần thể nghiên cứu.

3.2. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* với liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học

3.2.1. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol

3.2.1.1. Mối liên quan giữa tuổi với liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.15. Mối liên quan giữa tuổi với liều thuốc acenocoumarol

Tuổi	Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	Min	Max	p
Nhóm 1: 20-39 (n=36)		14,19±5,53	5	28	<p>p1-2=0,113</p> <p>p1-3=0,001</p> <p>p2-3=0,007</p>
Nhóm 2: 40-59 (n=205)		12,52±4,61	4	34	
Nhóm 3: 60-79 (n=43)		10,17±3,72	5,5	20	
Liều thuốc trung bình (mg/tuần)		12,38±4,72	4	34	

Nhận xét:

Liều thuốc chống đông acenocoumarol trung bình của nhóm nghiên cứu là 12,38 mg/tuần, liều thuốc thấp nhất được ghi nhận là 4 mg/tuần, cao nhất là 34 mg/tuần. Liều thuốc acenocoumarol giảm dần theo tuổi, thấp nhất ở bệnh nhân trong độ tuổi từ 60 đến 69 (10,17 mg/tuần), tiếp đến là nhóm tuổi từ 40 đến 59 (10,17 mg/tuần), nhóm bệnh nhân từ 20 đến 39 có liều thuốc cao nhất (14,19 mg/tuần). Như vậy, có sự khác biệt đáng kể về liều thuốc acenocoumarol theo các nhóm tuổi ($p < 0,05$).

3.2.1.2. Mối liên quan giữa giới với liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.16. Mối liên quan giữa giới với liều thuốc acenocoumarol

Giới \ Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	Min	Max	p
Nữ (n=167)	12,28±4,63	4,5	28	p=0,682
Nam (n=117)	12,52±4,87	4	34	

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu về mối liên quan giữa giới tính với liều thuốc acenocoumarol cho thấy liều thuốc acenocoumarol trung bình của bệnh nhân nữ là 12,28 mg/tuần, nam là 12,52 mg/tuần. Như vậy, không có sự khác biệt về liều thuốc giữa nam và nữ trong nhóm nghiên cứu, $p > 0,05$.

3.2.1.3. Mối liên quan giữa chỉ số BMI với liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.17. Mối liên quan giữa chỉ số BMI với liều thuốc acenocoumarol

BMI (kg/m ²) \ Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	Min	Max	p
Nhóm 1: <18,5 (n=36)	11,29±5,05	5,5	26	p1-2=0,287
Nhóm 2: 18,5-22,9 (n=178)	12,21±4,48	4	28	p1-3=0,085 p1-4=0,042
Nhóm 3: 23-24,9 (n=41)	13,15±4,55	5	23	p2-3=0,250 p2-4=0,117
Nhóm 4: 25-29,9 (n=29)	13,69±5,70	6	34	p3-4=0,634

Nhận xét:

Khi xét về mối liên quan giữa liều thuốc acenocoumarol với chỉ số BMI, chúng tôi ghi nhận liều thuốc trung bình của nhóm nghiên cứu tăng dần theo chỉ số BMI. Đặc biệt bệnh nhân béo phì độ I có liều thuốc chống đông cao nhất (13,69 mg/tuần), bệnh nhân thiếu cân có liều thuốc thấp nhất (11,29 mg/tuần), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tuy nhiên không có sự khác biệt về liều thuốc acenocoumarol giữa các nhóm chỉ số BMI còn lại.

3.2.1.4. Mối liên quan giữa một số yếu tố nguy cơ với liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.18. Mối liên quan giữa một số yếu tố nguy cơ với liều thuốc acenocoumarol

Yếu tố		Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	Min	Max	p
Tăng huyết áp	Không (n=235)		12,39±4,84	4	34	p=0,911
	Có (n=49)		12,32±4,16	5,5	23	
Hút thuốc	Không (n=251)		12,27±4,8	4	34	p=0,218
	Có (n=33)		13,24±4,11	5,5	21	

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu về mối liên quan giữa liều thuốc acenocoumarol với một số yếu tố như tăng huyết áp và hút thuốc ghi nhận không có sự khác biệt về liều thuốc chống đông trung bình giữa nhóm bệnh nhân tăng huyết áp với không tăng huyết áp, giữa nhóm bệnh nhân hút thuốc với không hút thuốc, $p > 0,05$.

3.2.1.5. *Mối liên quan giữa nguyên nhân thay van tim với liều thuốc acenocoumarol*

Bảng 3.19. *Mối liên quan giữa nguyên nhân thay van tim với liều thuốc acenocoumarol*

Liều thuốc (mg/tuần) Nguyên nhân	X±SD	Min	Max	p
Thấp tim (n=220)	12,06±4,52	4,0	34	p=0,67
Nguyên nhân khác (n=64)	12,99±4,03	6,0	21	

Nhận xét:

Khi xét về mối liên quan giữa liều thuốc chống đông với nguyên nhân dẫn đến thay van tim như thấp tim hay một số nguyên nhân khác chúng tôi ghi nhận không có sự khác biệt về liều thuốc acenocoumarol giữa các nhóm nguyên nhân bệnh lý ở van tim dẫn đến thay van tim cơ học ($p > 0,05$).

3.2.1.6. *Mối liên quan giữa vị trí thay van tim với liều thuốc acenocoumarol*

Bảng 3.20. *Mối liên quan giữa vị trí thay van tim với liều thuốc acenocoumarol*

Liều thuốc (mg/tuần) Vị trí	X±SD	Min	Max	p
Nhóm 1: Van hai lá (n=160)	12,28±4,77	4	34	p1-2=0,111 p1-3=0,381 p2-3=0,016
Nhóm 2: Van động mạch chủ (n=60)	13,71±5,03	4,5	28	
Nhóm 3: Van kép (n=64)	11,37±4,03	5	25	

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu về mối liên quan giữa vị trí thay van và liều thuốc acenocoumarol cho thấy nhóm bệnh nhân thay van kép có liều thuốc acenocoumarol (11,37 mg/tuần) thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân thay van động mạch chủ (13,71 mg/tuần), $p < 0,05$. Không có sự khác biệt về liều giữa nhóm bệnh nhân thay van hai lá và van động mạch chủ, hay van hai lá với van kép, $p > 0,05$.

3.2.1.7. *Mối liên quan giữa thời gian sau thay van tim cơ học với liều thuốc acenocoumarol*

Bảng 3.21. Mối liên quan giữa thời gian sau thay van với liều thuốc acenocoumarol

Thời gian \ Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	Min	Max	p
Nhóm 1: <1 năm (n=49)	11,61±4,94	5	25	p1-2=0,551 p1-3=0,962 p1-4=0,538 p2-3=0,831 p2-4=0,987 p3-4=0,762
Nhóm 2: 1-2 năm (n=135)	12,65±4,61	5	34	
Nhóm 3: 2-3 năm (n=65)	12,05±4,87	4	28	
Nhóm 4: >3 năm (n=35)	13,01±4,60	6	26	

Nhận xét:

Các bệnh nhân sau thay van tim cơ học đều bắt buộc phải dùng thuốc chống đông để ngăn ngừa huyết khối, thông thường được chỉ định dùng ngay sau phẫu thuật. Chính vì vậy chúng tôi tìm hiểu mối liên quan giữa thời gian sau thay van tim với liều dùng thuốc acenocoumarol ở nhóm nghiên cứu, kết quả cho thấy không có sự khác biệt về liều theo thời gian sau thay van tim cơ học, $p > 0,05$.

3.2.1.8. *Mối liên quan giữa một số loại thuốc được dùng phối hợp với acenocoumarol*

Bảng 3.22. *Mối liên quan giữa một số loại thuốc được dùng phối hợp với acenocoumarol*

Liều thuốc (mg/tuần)		X±SD	p
Thuốc phối hợp			
Furosemid	Không (n=246)	12,58±4,74	p=0,743
	Có (n=38)	11,97±4,55	
Digoxin	Không (n=265)	12,39±4,74	p=0,85
	Có (n=19)	12,78±4,56	
Beta-bloker	Không (n=60)	13,58±5,26	p=0,047
	Có (n=224)	12,01±4,51	
Chẹn kênh calci	Không (n=272)	12,39±4,77	p=0,673
	Có (n=12)	12,00±2,39	
Statin	Không (n=274)	12,36±4,69	p=0,736
	Có (n=10)	13,00±5,79	
Ức chế enzym chuyển angiotension	Không (n=167)	12,46±4,65	p=0,746
	Có (n=117)	12,27±4,84	
Aspirin	Không (n=278)	12,32±4,73	p=0,164
	Có (n=6)	15,00±4,00	
Amiodazone	Không (n=283)	12,40±4,72	p=0,255
	Có (n=1)	7,00	
Clopidogrel	Không (n=281)	12,40±4,74	p=0,286
	Có (n=3)	10,5±2,29	

Nhận xét:

Hầu hết các bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu phải dùng một số loại thuốc khác bên cạnh acenocoumarol có thể do bệnh nhân bị tăng huyết áp, rối loạn mỡ máu hay có tiền sử biến chứng huyết khối trong quá khứ. Chính vì vậy chúng tôi đã tìm hiểu sự ảnh hưởng của một số loại thuốc này đến liều

acenocoumarol ở nhóm nghiên cứu. Kết quả ghi nhận nhóm bệnh nhân dùng Beta-bloker có liều thuốc acenocoumarol trung bình (12,01 mg/tuần) thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân không dùng Beta-bloker (13,58 mg/tuần), $p < 0,05$. Ngoài ra, không có sự khác biệt về liều thuốc acenocoumarol ở các nhóm bệnh nhân sử dụng một số thuốc khác như furosemid, digoxin, chẹn kênh calci, statin, ức chế enzym chuyển angiotension, aspirin, amiodazone, clopidogrel, $p > 0,05$.

3.2.2. *Mối liên quan giữa đặc điểm cận lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol*

3.2.2.1. *Mối liên quan giữa đặc điểm về điện tim với liều thuốc acenocoumarol*

Bảng 3.23. *Mối liên quan giữa đặc điểm về điện tim với liều thuốc acenocoumarol*

Đặc điểm	Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	Min	Max	p
Nhịp xoang (n=88)		12,89±4,84	5	28	p=0,188
Rung nhĩ (n=184)		12,09±4,56	4	34	

Nhận xét:

Rung nhĩ là một trong các yếu tố làm tăng nguy cơ hình thành huyết khối, chính vì vậy chúng tôi đã tìm hiểu về mối liên quan giữa đặc điểm này với liều thuốc acenocoumarol, kết quả ghi nhận liều thuốc chống đông trung bình của nhóm bệnh nhân nhịp xoang (12,89 mg/tuần) cao hơn so với nhóm bệnh nhân rung nhĩ (12,09 mg/tuần), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

3.2.2.2. *Mối liên quan giữa đặc điểm siêu âm tim với liều thuốc acenocoumarol*

Bảng 3.24. *Mối liên quan giữa một số đặc điểm về siêu âm tim với liều thuốc acenocoumarol*

Đặc điểm (n=187)		Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	p
Chênh áp qua van	Bình thường (n=168)		12,49±4,49	p=0,624
	Tăng (n=19)		12,03±3,82	
Tổn thương van kèm theo	Không (n=75)		12,39±3,94	p=0,595
	Có (n=112)		12,81±5,12	
Tăng áp ĐMP	Không (n=154)		12,49±4,45	p=0,784
	Có (n=33)		12,26±4,31	
Nhĩ trái giãn	Không (n=57)		13,41±4,55	p=0,054
	Có (n=130)		12,02±4,30	
Giảm chức năng tâm thu thất trái	Không (n=170)		12,42±4,43	p=0,820
	Có (n=17)		12,68±4,31	

Nhận xét:

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về mối liên quan giữa một số đặc điểm trên siêu âm tim với liều thuốc acenocoumarol cho thấy không có sự khác biệt về liều thuốc giữa các nhóm bệnh nhân theo một số chỉ số trên siêu âm như chênh áp qua van, tổn thương khác kèm theo tại tim, tăng áp động mạch phổi, giảm chức năng tâm thu thất trái, với $p > 0,05$. Một điều đặc biệt nhĩ trái giãn trên siêu âm có mối liên quan với liều thuốc chống đông ở mức ý nghĩa thống kê tiệm cận ($p=0,054$).

3.2.3. Mối liên quan giữa kiểu gen *CYP2C9**3, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* với liều thuốc acenocoumarol

Từ sự phân bố của các alen và kiểu gen của *CYP2C9**3, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* trong nhóm nghiên cứu, chúng tôi đã tiến hành tìm hiểu mối liên quan giữa các đa hình này với liều thuốc chống đông acenocoumarol, kết quả thu được như sau:

3.2.3.1. Mối liên quan giữa kiểu gen *CYP2C9**3 với liều thuốc acenocoumarol

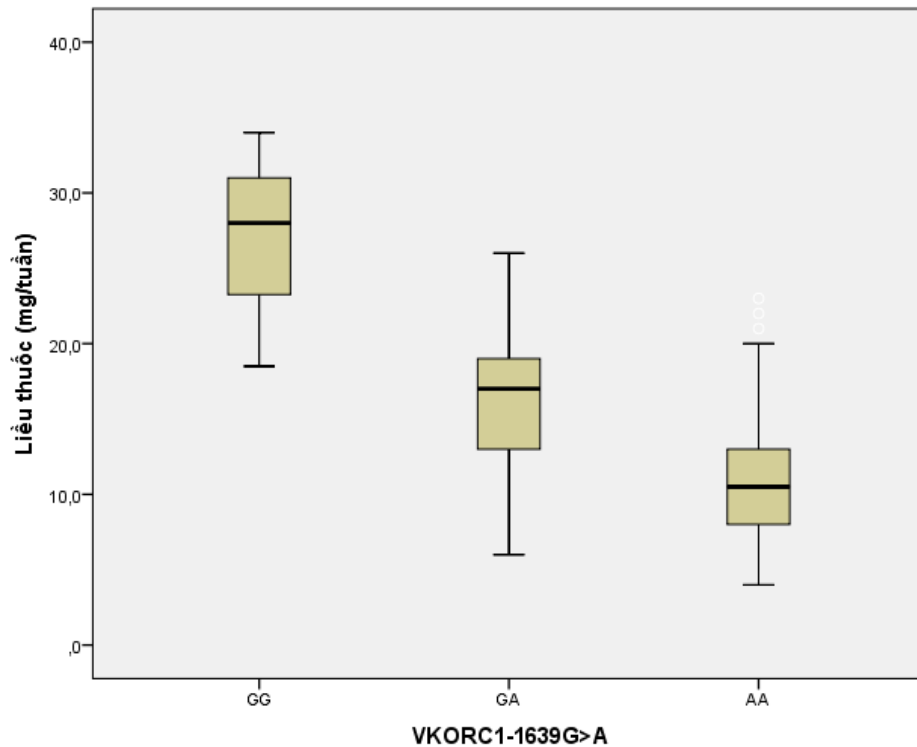
Bảng 3.25. Mối liên quan giữa kiểu gen *CYP2C93 với liều thuốc acenocoumarol**

Liều thuốc (mg/tuần)	X±SD	p
Kiểu gen <i>CYP2C9</i>*3		
<i>CYP2C9</i> *1*1 (n=270)	12,46±4,72	p=0,217
<i>CYP2C9</i> *1*3 (n=14)	10,86±4,62	

Nhận xét:

Kết quả phân tích về mối liên quan giữa các kiểu gen của đa hình gen *CYP2C9**3 với liều thuốc acenocoumarol cho thấy nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại *1*1 có liều thuốc chống đông trung bình (12,46 mg/tuần) cao hơn so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp *1*3 (10,86 mg/tuần), tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$.

3.2.3.2. *Mối liên quan giữa kiểu gen VKORC1-1639G>A với liều thuốc acenocoumarol*

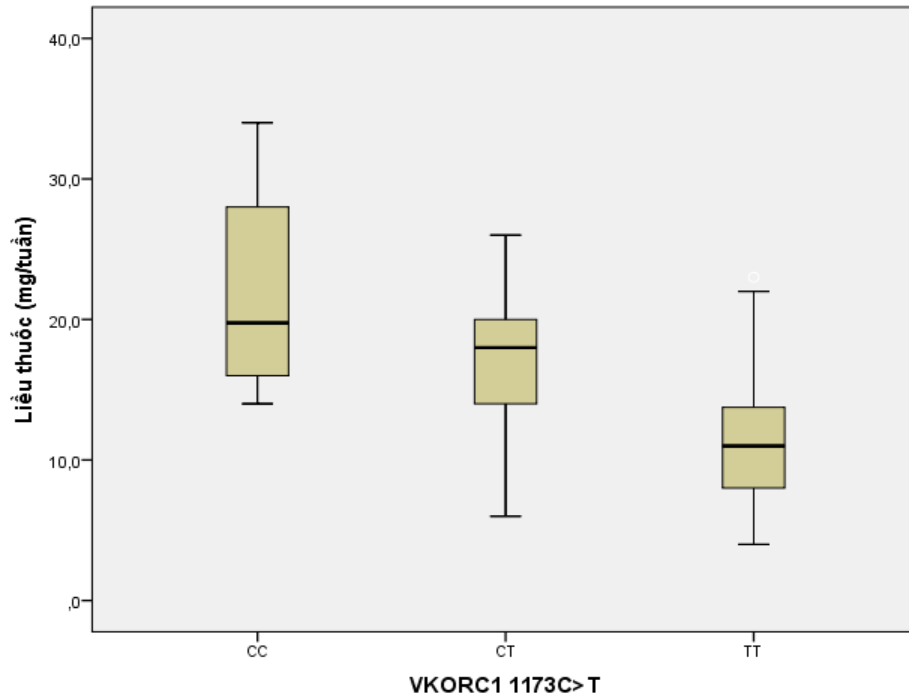


Hình 3.8. *Mối liên quan giữa kiểu gen VKORC1-1639G>A với liều thuốc acenocoumarol*

Nhận xét:

Khi xét về mối liên quan giữa các kiểu gen của đa hình gen *VKORC1-1639G>A* với liều thuốc acenocoumarol, kết quả cho thấy liều thuốc chống đông trung bình của nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại (GG) là 26,83 mg/tuần, dị hợp (GA) là 16,36 mg/tuần, đồng hợp biến dị (AA) là 10,8 mg/tuần. Như vậy, liều thuốc acenocoumarol trung bình của bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp và đồng hợp kiểu dại với $p < 0,01$.

3.2.3.3. *Mối liên quan giữa kiểu gen VKORC1 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol*



Hình 3.9. *Mối liên quan giữa kiểu gen VKORC1 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol*

Nhận xét:

Kết quả phân tích về mối liên quan giữa các kiểu gen của đa hình gen *VKORC1 1173C>T* với liều thuốc acenocoumarol ghi nhận nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị có liều thuốc chống đông (11,10 mg/tuần) thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại (21,92 mg/tuần) và dị hợp (17,08 mg/tuần), với $p=0,001$. Đồng thời nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp có yêu cầu liều thuốc chống đông thấp hơn so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại, $p<0,01$.

3.2.3.4. *Mối liên quan giữa kiểu gen phối hợp VKORC1-1639G>A và 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol*

Bảng 3.26. *Mối liên quan giữa kiểu gen phối hợp VKORC1-1639G>A và 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol*

Liều thuốc (mg/tuần)		X±SD	Min	Max	p
Kiểu gen phối hợp					
GG	Nhóm 1: CC (n=3)	26,83±7,82	18,5	34	p₁₋₂=0,012
GA	Nhóm 2: CC (n=3)	17,0±3,60	14	21	p₁₋₃=0,001
	Nhóm 3: CT (n=49)	17,22±4,64	6	26	p₁₋₄=0,001
	Nhóm 4: TT (n=20)	14,15±3,71	7	21	p₁₋₆=0,001
AA	Nhóm 5: CT(n=1)	10	10	10	p₂₋₆=0,037
	Nhóm 6: TT (n=208)	10,8±3,4	4	23	p₃₋₄=0,018 p₃₋₆=0,001 p₄₋₆=0,002

Nhận xét:

Hai đa hình *VKORC1-1639G>A* và *VKORC1 1173C>T* cùng nằm trên gen *VKORC1*, chính vì vậy chúng tôi muốn tìm hiểu mối liên quan giữa các đa hình này với liều thuốc acenocoumarol. Kết quả ghi nhận liều thuốc chống đông trung bình của bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại ở cả hai SNPs (GG+CC) là cao nhất 26,83 mg/tuần, của nhóm bệnh nhân đồng hợp biến dị (AA+TT) là thấp nhất 10,8 mg/tuần. Đồng thời, bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị (AA+TT) hoặc dị hợp ở một trong hai (GA+CC), (GA+TT) hoặc cả hai SNP (GA+CT) có liều thuốc chống đông thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại (GG+CC) với $p < 0,05$. Bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị (AA+TT) có liều thuốc thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp ở một trong hai (GA+CC), (GA+TT) hoặc cả hai SNP (GA+CT) với $p < 0,05$.

3.2.4. Phân tích hồi quy tuyến tính các yếu tố ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Liều acenocoumarol trung bình hàng tuần đã được chuyển đổi thành một liều logarit và được sử dụng như một biến phụ thuộc trong phân tích đơn biến và đa biến theo các yếu tố lâm sàng và di truyền. Sau đó, chúng tôi phân tích sự ảnh hưởng của các yếu tố này lên liều thuốc chống đông, kết quả thu được như sau:

3.2.4.1. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến các chỉ số nhân trắc ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.27. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến các chỉ số nhân trắc ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Thành phần mô hình	Hệ số không đạt chuẩn		Hệ số đạt chuẩn	p	95% CI đối với hệ số B		Tóm tắt mô hình		
	B	SE	Beta		Giới hạn dưới	Giới hạn trên	R	R ²	R ² hiệu chỉnh
Hằng số	1,262	0,053		0,000	1,157	1,367			
Tuổi	-0,004	0,001	-0,220	0,000	-0,006	-0,002	0,22	0,049	0,045
Hằng số	0,811	0,076		0,000	0,662	0,960			
BMI	0,012	0,004	0,195	0,001	0,005	0,019	0,195	0,038	0,035
Hằng số	0,993	0,084		0,000	0,828	1,159			
Tuổi	-0,005	0,001	-0,254	0,000	-0,007	-0,003	0,318	0,101	0,095
BMI	0,014	0,003	0,232	0,000	0,007	0,021			

Nhận xét:

Trong mô hình hồi quy đơn biến xác định sự ảnh hưởng của các chỉ số nhân trắc như tuổi, BMI ảnh hưởng đến sự thay đổi liều thuốc acenocoumarol lần lượt là 4,9% và 3,8%. Tác động cộng gộp của hai yếu tố này ảnh hưởng đến 10,1% biến liều thuốc acenocoumarol ($p < 0,05$).

3.2.4.2. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến các yếu tố di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.28. Phân tích hồi quy đơn biến và đa biến các yếu tố di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Thành phần mô hình	Hệ số không đạt chuẩn		Hệ số đạt chuẩn	P	95% CI đối với hệ số B		Tóm tắt mô hình		
	B	SE	Beta		Giới hạn dưới	Giới hạn trên	R	R ²	R ² hiệu chỉnh
Hằng số	1,384	0,031			1,323	1,446			
<i>VKORC1</i> 1639G>A	-0,187	0,017	-0,537	0,000	-0,221	-0,152	0,537	0,289	0,286
Hằng số	1,376	0,034			1,310	1,442			
<i>VKORC1</i> 1173C>T	-0,176	0,018	-0,498	0,000	-0,212	-0,140	0,498	0,248	0,245
Hằng số	1,065	0,010			1,046	1,085			
<i>CYP2C9*3</i>	-0,063	0,045	-0,084	0,160	-0,151	0,025	0,084	0,007	0,003
Hằng số	1,421	0,033		0,000	1,355	1,486			
<i>VKORC1</i> 1639G>A	-0,138	0,029	-0,398	0,000	-0,196	-0,080	0,562	0,315	0,308
<i>VKORC1</i> 1173C>T	-0,065	0,030	-0,183	0,032	-0,124	-0,006			
<i>CYP2C9*3</i>	-0,095	0,037	-0,126	0,012	-0,168	-0,021			

Nhận xét:

Trong mô hình hồi quy đơn biến xác định sự ảnh hưởng của các yếu tố di truyền bao gồm đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* và *CYP2C9*3*

lên liều thuốc acenocoumarol, kết quả ghi nhận đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *VKORC1 1173C>T* và *CYP2C9*3* ảnh hưởng đến 28,9%, 24,8% và 0,7% biến liều thuốc chống đông. Trong mô hình hồi quy đa biến xác định sự tác động cộng gộp của các yếu tố này ảnh hưởng đến 31,5% biến liều thuốc chống đông acenocoumarol ($p < 0,05$).

3.2.4.3. Phân tích hồi quy đa biến các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.29. Phân tích hồi quy đa biến các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Thành phần mô hình	Hệ số không đạt chuẩn		Hệ số đạt chuẩn	p	95% CI đôi với hệ số B		Tóm tắt mô hình		
	B	SE	Beta		Giới hạn dưới	Giới hạn trên	R	R ²	R ² hiệu chỉnh
Hằng số	-3,762	13,837		0,786	-31,082	23,56			
<i>VKORC1-1639G>A</i>	-0,135	0,032	-0,401	0,000	-0,199	-0,071	0,67	0,449	0,382
<i>VKORC1 1173C>T</i>	-0,066	0,034	-0,189	0,05	-0,133	0,000			
<i>CYP2C9*3</i>	-0,126	0,047	-0,161	0,008	-0,219	-0,033			
Tuổi	-0,004	0,001	-0,201	0,002	-0,006	-0,001			
BMI	0,009	0,004	0,151	0,014	0,002	0,016			
Huyết áp	0,005	0,029	0,013	0,861	-0,052	0,063			
Hút thuốc	-0,009	0,030	-0,018	0,769	-0,069	0,051			

Nguyên nhân thay van	0,012	0,019	0,041	0,517	-0,025	0,050			
Vị trí thay van	-0,020	0,012	-0,102	0,103	-0,043	0,004			
Thời gian phẫu thuật	0,003	0,007	0,023	0,706	-0,011	0,016			
Xuất huyết	0,004	0,005	0,044	0,477	-0,007	0,015			
Huyết khối	0,014	0,016	0,061	0,353	-0,016	0,045			
Runh nhĩ	-0,027	0,025	-0,082	0,279	-0,022	0,077			
Nhĩ trái giãn	-0,072	0,027	-0,212	0,009	-0,125	-0,019			
Chênh áp qua van tăng	-0,032	0,031	-0,062	0,310	-0,093	0,030			
Beta-bloker	-0,024	0,023	-0,064	0,293	-0,069	0,021			
Aspirin	0,017	0,081	0,016	0,829	-0,142	0,177			
Clodopigrel	-0,004	0,078	-0,003	0,960	-0,157	0,149			
ACE	-0,026	0,022	-0,077	0,255	-0,070	0,019			
Statin	-0,001	0,066	-0,001	0,985	-0,132	0,129			

Nhận xét:

Trong mô hình hồi quy đa biến xác định sự ảnh hưởng của các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền lên liều thuốc acenocoumarol, kết quả cho thấy chỉ một số yếu tố như tuổi, BMI, nhĩ trái giãn và các đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* ảnh hưởng đến biến liều thuốc chống đông ($p < 0,05$).

3.2.4.4. Phân tích hồi quy đa biến các chỉ số nhân trắc và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Bảng 3.30. Phân tích hồi quy đa biến các chỉ số nhân trắc và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Thành phần mô hình	Hệ số không đạt chuẩn		Hệ số đạt chuẩn	p	95% CI đối với hệ số B		Tóm tắt mô hình		
	B	SE			Beta	Giới hạn dưới	Giới hạn trên	R	R ²
Hằng số	1,315	0,078		0,000	1,163	1,468			
<i>VKORC1</i> <i>-1639G>A</i>	-0,138	0,028	-0,397	0,000	-0,194	-0,082	0,608	0,369	0,358
<i>VKORC1</i> <i>1173C>T</i>	-0,051	0,029	-0,145	0,082	-0,108	0,006			
<i>CYP2C9*3</i>	-0,091	0,036	-0,121	0,012	-0,162	-0,020			
Tuổi	-0,003	0,001	-0,175	0,000	-0,005	-0,001			
BMI	0,011	0,003	0,182	0,000	0,005	0,017			
Hằng số	1,431	0,094		0,000	1,246	1,617			
<i>VKORC1</i> <i>-1639G>A</i>	-0,136	0,031	-0,406	0,000	-0,197	-0,074	0,636	0,405	0,385
<i>VKORC1</i> <i>1173C>T</i>	-0,062	0,032	-0,177	0,058	-0,125	0,002			
<i>CYP2C9*3</i>	-0,124	0,045	-0,162	0,006	-0,213	-0,036			
Tuổi	-0,003	0,001	-0,180	0,002	-0,005	-0,001			
BMI	0,009	0,003	0,148	0,012	0,002	0,015			
Nhĩ trái giãn	-0,053	0,020	-0,158	0,007	-0,092	-0,014			

Nhận xét:

Trong mô hình hồi quy đa biến xác định sự ảnh hưởng của các chỉ số nhân trắc và các yếu tố di truyền như đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* và *CYP2C9*3* lên liều thuốc acenocoumarol cho thấy rằng sự tác động cộng gộp của các yếu tố này ảnh hưởng đến 36,9% biến liều thuốc ($p<0,05$). Khi có thêm yếu tố nhĩ trái giãn trên siêu âm thì tác động cộng gộp của các yếu tố này ảnh hưởng đến 40,5% biến liều thuốc chống đông acenocoumarol ($p<0,05$).

Dựa trên kết quả phân tích mô hình hồi quy tuyến tính đa biến sự ảnh hưởng của các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền lên liều thuốc chống đông. Chúng tôi đã xây dựng thuật toán để dự đoán liều thuốc acenocoumarol hàng tuần cho bệnh nhân như sau:

Mô hình 1: $\text{Log (Liều thuốc mg/tuần)} = 1,315 - 0,138 (VKORC1-1639G>A) - 0,051 (VKORC1 1173C>T) - 0,091 (CYP2C9*3) - 0,003 (\text{Tuổi}) + 0,011 (\text{BMI})$.

Mô hình 2: $\text{Log (Liều thuốc mg/tuần)} = 1,431 - 0,136 (VKORC1-1639G>A) - 0,062 (VKORC1 1173C>T) - 0,124 (CYP2C9*3) - 0,003 (\text{Tuổi}) + 0,009 (\text{BMI}) - 0,053 (\text{Nếu nhĩ trái giãn})$.

Trong đó đối với đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, kiểu gen GG nhận giá trị 1, kiểu gen GA nhận giá trị 2 và kiểu gen AA nhận giá trị 3. Đối với đa hình gen *VKORC1 1173C>T*, kiểu gen CC nhận giá trị 1, kiểu gen CT nhận giá trị 2 và kiểu gen TT nhận giá trị 3. Đối với đa hình gen *CYP2C9*3*, kiểu gen *1*1 nhận giá trị 1 và kiểu gen *1*3 nhận giá trị 2.

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

Sau thay van tim cơ học việc dùng thuốc chống đông là yêu cầu bắt buộc và phải dùng kéo dài suốt đời nhằm ngăn chặn nguy cơ huyết khối. Các thuốc chống đông được sử dụng trên lâm sàng hết sức phong phú, tuy nhiên, tại Việt Nam acenocoumarol vẫn là thuốc chống đông kháng vitamin K được sử dụng phổ biến nhất. Mỗi bệnh nhân cần liều điều trị acenocoumarol khác nhau nhằm duy trì INR mục tiêu. Hiện nay, điều trị chống đông chủ yếu là dò liều, phụ thuộc vào kinh nghiệm của các bác sĩ lâm sàng nên tỷ lệ đạt đích điều trị còn thấp, nhiều bệnh nhân không hiểu được tầm quan trọng của việc theo dõi cũng như những yếu tố ảnh hưởng đến kết quả điều trị. Y học cá thể hóa là một mô hình mới với sự kết hợp thông tin di truyền của người bệnh với các yếu tố về lâm sàng giúp bác sĩ đưa ra một phác đồ điều trị phù hợp với đặc điểm di truyền của mỗi cá thể người bệnh mang lại hiệu quả điều trị cao. Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện từ tháng 5 năm 2017 đến tháng 12 năm 2019 trên 284 bệnh nhân thay van tim cơ học đang dùng thuốc chống đông acenocoumarol đạt đích điều trị INR trong 3 tháng liên tiếp từ 2,0 đến 3,5 tại Bệnh viện Tim Hà Nội. Chúng tôi đã xác định được các đặc điểm về lâm sàng, cận lâm sàng của nhóm nghiên cứu đặc biệt là tần số alen, kiểu gen của các SNP *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* cũng như mối liên quan giữa các đa hình gen này với liều thuốc acenocoumarol.

4.1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tính đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* ở bệnh nhân thay van tim cơ học

4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng ở nhóm nghiên cứu

Đặc điểm về tuổi và giới: Nhóm nghiên cứu bao gồm 284 bệnh nhân có độ tuổi trung bình là 50,84 năm. Kết quả này tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới như Natarajan và cộng sự năm 2013 trên 103 bệnh nhân Ấn Độ cho thấy độ tuổi trung bình là 52 tuổi. Tuy nhiên tuổi trung bình nhóm nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của tác giả Kalpana và cộng sự năm 2016 nghiên cứu trên 205 bệnh nhân thay van tim cơ học tại Ấn Độ đang dùng thuốc acenocoumarol cho thấy tuổi trung bình là 39,9 tuổi [6]. Sự khác biệt này được lý giải có thể do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là lựa chọn ngẫu nhiên từ những bệnh sau thay van tim cơ học, không chọn lựa về tuổi ở đối tượng nghiên cứu.

Khi phân chia đối tượng nghiên cứu thành các nhóm tuổi từ 20 đến 39 tuổi, 40 đến 59 tuổi và 60 đến 69 tuổi. Chúng tôi ghi nhận độ tuổi từ 40 đến 59 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất trong nhóm nghiên cứu với 72,2%, các độ tuổi còn lại chiếm 28,8%. Trong đó, độ tuổi từ 60 đến 69 chiếm 15,1% và độ tuổi từ 20 đến 39 chiếm ít nhất với 12,7%. Kết quả về các độ tuổi trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi khác biệt với nghiên cứu của tác giả Wattanachai và cộng sự năm 2017 trên 250 bệnh nhân Thái Lan cho thấy độ tuổi từ 60 đến 79 chiếm tỷ lệ cao nhất 53,2%, chiếm tỷ lệ thấp nhất là độ tuổi từ 80 đến 99 với 5,6%, từ 40 đến 59 tuổi chiếm 6% và từ 20 đến 39 tuổi chiếm 35,2% [94]. Có sự khác biệt như vậy là vì nghiên cứu của chúng tôi tiến hành trên đối tượng là bệnh nhân sau thay van tim cơ học, theo khuyến cáo những bệnh nhân dưới 65 tuổi khi thay van tim sẽ được thay van cơ học, trên 65 tuổi sẽ thay van sinh học do độ bền của van sinh học kém hơn van cơ học.

Đặc điểm về giới: Trong tổng số 284 bệnh nhân tham gia nghiên cứu thì nữ giới là chủ yếu với 167 bệnh nhân chiếm 58,8%, bệnh nhân nam là 117 bệnh nhân chiếm 41,2%. Tỷ lệ bệnh nhân nữ/nam là 1,43/1. Kết quả này của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của tác giả Elkhazraji và cộng sự năm 2018 trên 205 bệnh nhân Maroc dùng thuốc acenocoumarol cho thấy có 111 bệnh nhân nữ chiếm 51,15%, bệnh nhân nam là 106 chiếm 48,84%, tỷ lệ nữ/nam là 1,05/1 [64]. Hay theo nghiên cứu của tác giả Buzoianu và cộng sự năm 2012 trên 301 bệnh nhân Romani cho thấy có 146 bệnh nhân nam chiếm 48,5% và 155 bệnh nhân nữ chiếm 51,5%, tỷ lệ nữ/nam là 1,06/1 [22]. Sự khác biệt này có thể do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là bệnh nhân sau thay van tim cơ học mà có nguyên nhân tổn thương van tim chủ yếu do thấp tim, tại Việt Nam và các nước đang phát triển thấp tim thường gặp ở nữ giới.

Đặc điểm về chỉ số BMI: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận chỉ số BMI trung bình là 21,39 kg/m², trong đó bệnh nhân có chỉ số BMI thấp nhất là 14,5 kg/m², cao nhất là 29,4 kg/m². Kết quả về chỉ số BMI của chúng tôi thấp hơn so với nghiên cứu của một số tác giả tại các nước Châu Á khác như nghiên cứu của Kalpana và cộng sự trên dân số Ấn Độ có chỉ số BMI trung bình là 22,9 kg/m² [6]. Nghiên cứu Sangviroon trên dân tộc Thái Lan là 22,04 kg/m² [95]. Nghiên cứu của tác giả Jia trên dân số Trung Quốc là 24,1 kg/m² [96]. Sự khác biệt này có thể được lý giải là do đặc điểm của cơ thể người Việt Nam thấp và bé hơn một số nước trong khu vực và trên thế giới.

Chỉ số BMI trong nghiên cứu của chúng tôi được phân loại theo IDI & WPRO. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ bệnh nhân thừa cân (tiền béo phì) là 14,4%, béo phì độ I là 10,2%, 12,7% bệnh nhân có cân nặng thấp và 62,7% bệnh nhân có cân nặng bình thường. Trong nghiên cứu của chúng tôi không có bệnh nhân nào bị béo phì độ II và III. Theo nghiên cứu của tác giả Wattanachai trên dân số Thái Lan ghi nhận tỷ lệ bệnh nhân có cân

nặng bình thường chiếm đa số với 52,4%, thấp cân là 10,4%, thừa cân là 27,6%, có 8% bệnh nhân béo phì độ I và II, 1,6% bệnh nhân béo phì độ III [94]. Tại Việt Nam mặc dù tỷ lệ béo phì đang gia tăng nhanh chóng, tuy nhiên so với các nước trong khu vực và trên thế giới thì tỷ lệ béo phì vẫn còn ở mức thấp và rất ít trường hợp béo phì độ II, III.

Yếu tố nguy cơ, nguyên nhân và vị trí thay van tim: Kết quả của chúng tôi ghi nhận có 17,3% bệnh nhân bị tăng huyết áp trong nhóm nghiên cứu, cao hơn công bố của tác giả Kalpana trên dân số Ấn Độ với tỷ lệ tăng huyết áp là 3,3% [97], hay của tác giả Boxia Li trên dân số Trung Quốc là 16,3% [98]. Tại Việt Nam, tỷ lệ bệnh nhân bị tăng huyết áp đang gia tăng một cách nhanh chóng, đây là một trong những yếu tố ảnh hưởng đến hiệu quả điều trị chống đông acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học cũng như làm tăng chi phí điều trị. Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ bệnh nhân hút thuốc lá là 11,6%, gặp nam giới. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của tác giả Jia với tỷ lệ bệnh nhân hút thuốc lá là 34,3%, uống rượu là 13,7% [96], nghiên cứu của Boxia Li với tỷ lệ hút thuốc lá là 29,1% [98]. Tuy nhiên kết quả nghiên cứu của chúng tôi lại cao hơn nghiên cứu của Kalpana và cộng sự năm 2019 tại Ấn Độ ghi nhận tỷ lệ hút thuốc và uống rượu là 4,39% gặp hoàn toàn ở nam giới [97]. Sự khác biệt này có thể do tiêu chuẩn loại trừ của chúng tôi là bệnh nhân nghiện rượu, chính vì vậy không có bệnh nhân nghiện rượu trong nhóm nghiên cứu.

Nguyên nhân thay van tim: Một số bệnh lý như viêm cơ tim, thoái hóa van, đặc biệt là thấp tim gây tình trạng tổn thương van tim không hồi phục dẫn đến phải thay thế van tim bằng một van nhân tạo. Trong đó, thấp tim là nguyên nhân phổ biến làm cho van tim bị dày dính, co kéo vôi hóa hay khít hẹp lâu ngày dẫn đến đóng không kín gây tình trạng hẹp - hở van, thường gặp nhất là van hai lá và van động mạch chủ. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi

ghi nhận có tới 77,5% trường hợp thay van tim là do hậu quả của thấp tim, các nguyên nhân khác như viêm nội tâm mạc do nhiễm khuẩn, bẩm sinh, thoái hóa van tim hoặc không rõ nguyên nhân (là những bệnh nhân không rõ nguyên nhân thay van, có tổn thương hẹp hoặc hở van nặng nề dẫn đến phải thay van tim) chiếm 23,5%. Điều này hoàn toàn phù hợp với công bố của một số nghiên cứu trước đây khi cho rằng nguyên nhân thay van tim ở các nước đang phát triển trong đó có Việt Nam chủ yếu là hậu quả của thấp tim. Theo tác giả Hung Dung Van nghiên cứu trên 1377 bệnh nhân thay van tim cơ học từ năm 1998 đến năm 2008 tại Viện Tim Thành Phố Hồ Chí Minh cho thấy nguyên nhân thay van do thấp chiếm 89,8% [99]. Theo tác giả Đoàn Quốc Hưng, tại miền Bắc Việt Nam tỷ lệ thay van tim do thấp vẫn chiếm đa số trong các bệnh van tim [27]. Một nghiên cứu khác tại Ấn Độ cho thấy tỷ lệ mắc thấp tim là 0,12 đến 7,42 trên 1000 dân và đây là nguyên nhân chủ yếu của các trường hợp thay van tim cơ học [6].

Vị trí thay van tim: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận bệnh nhân thay van hai lá cơ học chiếm đa số trong nghiên cứu với 56,3%, tỷ lệ bệnh nhân thay van động mạch chủ và van kép lần lượt là 21,1% và 22,5%. Kết quả này tương đồng với công bố của một số tác giả trong nước như Tạ Mạnh Cường năm 2011 nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai cho thấy tỷ lệ thay van hai lá là 40%, thay van động mạch chủ là 21,8% và thay cả hai van trên là 38,2% [48]. Một nghiên cứu khác tại Bệnh viện Tim Thành phố Hồ Chí Minh cho thấy tỷ lệ thay van hai lá là 54%, van động mạch chủ là 18% và thay cả hai van là 26% [99]. Trên thế giới, nghiên cứu của tác giả Kalpana và cộng sự ở bệnh nhân thay van tim nhân tạo tại Ấn Độ năm 2013 trên 136 bệnh nhân thay van tim cơ học thì có đến 58,1% bệnh nhân thay van hai lá, 19,9% thay van động mạch chủ và 22,1% thay van cả van hai lá và van động mạch chủ [97]. Hay nghiên cứu của tác giả Kaur cho thấy trên tổng số 110 bệnh

nhân thay van tim nhân tạo thì tỷ lệ thay van hai lá là chủ yếu với 67,6%, van động mạch chủ là 22,5% và có 9% thay cả hai van [21]. Sự tương đồng này có thể do nguyên nhân thay van tim cơ học tại Việt Nam cũng như một số nước đang phát triển trên thế giới như Ấn Độ hay một số nước ở Đông Nam Á chủ yếu là do thấp tim, đây được xác định là nguyên nhân hay gặp gây tổn thương van hai lá [27].

Thời gian sau thay van tim cơ học: Mặc dù phẫu thuật thay van tim giúp giảm các triệu chứng và kéo dài tuổi thọ cho bệnh nhân tuy nhiên không chữa khỏi hoàn toàn hẹp hay hở van. Để duy trì kết quả sau thay van tim, bệnh nhân phải theo dõi định kỳ và dùng thuốc chống đông đều đặn theo chỉ định của bác sỹ. Tái hẹp hở van sau phẫu thuật vẫn có thể xuất hiện do huyết khối, nhiễm khuẩn, thoái hóa hoặc vôi hóa van. Thời gian sau phẫu thuật càng dài thì các nguy cơ biến chứng trên càng cao. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận thời gian phẫu thuật trung bình là 1,94 năm. Bệnh nhân có thời gian phẫu thuật từ 1 đến 2 năm chiếm đa số trong nghiên cứu với 47,5%, bệnh nhân thay van tim trên 3 năm chiếm tỷ lệ thấp nhất với 12,3%. Tỷ lệ bệnh nhân thay van tim dưới 1 năm và từ 2 đến 3 năm lần lượt là 17,3% và 22,9%. Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi thời gian từ khi phẫu thuật đến khi tham gia nghiên cứu không có sự phân bố quá lớn, điều này có thể do những bệnh nhân sau thay van tim có chỉ số đông máu, liều thuốc chống đông ổn định sẽ được chuyển về tiếp tục theo dõi và điều trị tại các bệnh viện tuyến tỉnh. Trong nghiên cứu của chúng tôi hầu hết các bệnh nhân bắt đầu dùng thuốc chống đông acenocoumarol từ sau phẫu thuật thay van tim, chỉ một số ít bệnh nhân dùng thuốc chống đông trước phẫu thuật, thường ở những bệnh nhân có tiền sử nong van tim hoặc bệnh van tim có rung nhĩ.

Tiền sử xuất huyết: Ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học có nguy cơ cao hình thành huyết khối chính vì vậy bệnh nhân bắt buộc phải dùng thuốc

chống đông suốt đời. Tuy nhiên, khi dùng thuốc bệnh nhân lại phải đối diện với nguy cơ xuất huyết nguy hiểm nhất là xuất huyết nội tạng hoặc xuất huyết não. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận bệnh nhân xuất huyết dưới da chiếm tới 48,9%, 2 bệnh nhân bị tụ máu trong cơ, 01 bệnh nhân xuất huyết não, 5 bệnh nhân xuất huyết đường tiêu hóa, 4 bệnh nhân xuất huyết đường tiết niệu, 52 bệnh nhân chảy máu chân răng và 18 bệnh nhân xuất huyết niêm mạc mắt. Sự xuất hiện biến chứng xuất huyết sau thay van tim cơ học cũng được mô tả trong nghiên cứu của tác giả Hung Dung Van và cộng sự ghi nhận xuất huyết liên quan đến thuốc chống đông máu được quan sát thấy ở 239 bệnh nhân. Trong đó, 192 bệnh nhân xuất huyết từ nhẹ đến trung bình khi bị chảy máu da niêm mạc, chảy máu nướu, 47 bệnh nhân xuất huyết nặng như xuất huyết đường tiêu hóa hoặc xuất huyết não [99]. Nguyên nhân xuất huyết ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học chủ yếu là do việc dùng thuốc chống đông quá liều dẫn đến hậu quả xuất huyết, đặc biệt ở những bệnh nhân có nguy cơ cao như tăng huyết áp, viêm loét dạ dày, dùng thuốc không theo chỉ định, không khám định kỳ....

Tiền sử huyết khối: Huyết khối van tim là một biến chứng nghiêm trọng ở bệnh nhân sau thay van tim [100]. Sự xuất hiện của huyết khối van tim phụ thuộc vào khả năng gây huyết khối của van giả, huyết động qua van và việc sử dụng thuốc chống đông máu không hiệu quả [3]. Tỷ lệ huyết khối kẹt van cơ học dao động trong khoảng 0,3 đến 1,3% [37]. Hiện nay, mặc dù có những cải tiến đáng kể trong thiết kế van giả cũng như sự ra đời của nhiều loại thuốc chống đông máu, tuy nhiên tỷ lệ mắc huyết khối van cơ học đã được báo cáo vẫn khá cao khoảng 0,5% đến 8% ở van hai lá và van động mạch chủ là từ 1% đến 2% [101]. Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trong tổng số 284 bệnh nhân, có 3 bệnh nhân kẹt van tim phải mổ lại, 1 bệnh nhân kẹt van kèm tắc mạch não, 6 bệnh nhân tắc mạch não, 1 bệnh nhân bị tắc

mạch chi. Theo nghiên cứu của tác giả Nguyễn Quốc Kính và cộng sự đánh giá hiệu quả chống đông trên 200 bệnh nhân thay van tim cơ học tại Bệnh viện Bạch Mai năm 2011 cho thấy tỷ lệ bệnh nhân bị huyết khối là 5-7,5%, trong đó có 5 bệnh nhân tử vong và 8 bệnh nhân kẹt van tim cơ học [48]. Nghiên cứu của tác giả Kalpana và cộng sự tại Ấn Độ trên 205 bệnh nhân thay van tim cơ học năm 2016 ghi nhận 2 bệnh nhân (0,9%) bị huyết khối gây kẹt van tim [6]. Như vậy, mặc dù bệnh nhân sau thay van tim cơ học đều dùng thuốc chống đông để ngăn ngừa biến chứng huyết khối, tuy nhiên tỷ lệ bệnh nhân xuất hiện biến chứng này vẫn khá cao, điều này chứng tỏ việc kiểm soát đông máu vẫn là một thách thức đối với các bác sĩ lâm sàng và bệnh nhân.

Một số thuốc dùng phối hợp ở nhóm nghiên cứu: Việc phải sử dụng các thuốc kèm theo ở bệnh nhân đang dùng acenocoumarol là một thách thức rất lớn đối với bác sĩ lâm sàng do có thể gây tình trạng tương tác thuốc làm tăng hoặc giảm tác dụng của acenocoumarol dẫn đến không đạt hiệu quả chống đông máu thậm chí còn có thể gây biến chứng của quá liều hoặc dưới liều thuốc. Tuy nhiên, đôi khi việc sử dụng các thuốc khác là bắt buộc do bệnh nhân mắc các bệnh lý kèm theo như tăng huyết áp, suy tim hay thậm chí là dùng acenocoumarol không đạt được hiệu quả chống đông phải dùng phối hợp các thuốc chống đông máu khác. Nhóm thuốc beta-blocker hay thuốc chẹn beta giao cảm có tác dụng giãn mạch được sử dụng trong điều trị bệnh lý về tim mạch và cao huyết áp. Một số biệt dược được sử dụng trên lâm sàng như: bisoprolol, nebivolol, propranolol, metoprolol.... Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận nhóm thuốc beta-bloker được sử dụng nhiều nhất chiếm 78,87%. Kết quả này của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của tác giả Anil Pathare trên 214 bệnh nhân Rumani với tỷ lệ dùng phối hợp beta bloker là 25,2% [102]. Sự khác biệt này có thể được lý giải do trong nhóm nghiên cứu

của chúng tôi tỷ lệ bệnh nhân tăng huyết áp và suy tim là khá cao, do vậy việc dung phối hợp thuốc nhóm beta-bloker là hết sức cần thiết.

Nhóm thuốc được sử dụng phổ biến trên quần thể nghiên cứu của tác giả Anil Pathare là furosemid với 39,9%, tiếp theo là digoxin với 29,7% [102], tuy nhiên trong nghiên cứu của chúng tôi furosemid chỉ chiếm 13,38%, digoxin chiếm 6,69%. Kết quả này của chúng tôi cũng thấp hơn nghiên cứu của tác giả Kalpana khi tỷ lệ dùng digoxin là 16%, furosemid là 5,8% [6]. Aspirin và clopidogrel là thuốc chống ngưng tập tiểu cầu thường sử dụng trong các trường hợp bệnh nhân có can thiệp mạch vành, đây là hai loại thuốc có tác dụng đến quá trình đông máu thông qua tác động lên tiểu cầu. Trong nghiên cứu của chúng tôi hai loại thuốc này được sử dụng phối hợp với acenocoumarol với tỷ lệ lần lượt là 2,11% và 1,06%. Kết quả này của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới như Anil Pathare với tỷ lệ dùng phối hợp aspirin là 5,6%, tác giả không đưa ra thống kê về sử dụng clopidogel [102]. Hay nghiên cứu của tác giả Kalpana ghi nhận tỷ lệ dùng phối hợp acenocoumarol với aspirin lên tới 32,7% [6].

Thuốc ức chế ACE hay ức chế enzym chuyển angiotensin có tác dụng làm giảm huyết áp, giảm gánh nặng cho tim giúp tim dễ dàng hơn trong việc co bóp tổng máu đi nuôi cơ thể khi tim bị suy. Do đó, thuốc có thể làm chậm tiến triển suy tim. Các thuốc ức chế enzym chuyển angiotensin được sử dụng phổ biến hiện nay bao gồm captopril, enalapril, lisinopril, ramipril, moexipril, perindopril,... Trong nghiên cứu của chúng tôi nhóm thuốc này được sử dụng với tỷ lệ khá cao (41,20%), cao hơn công bố của tác giả Anil Pathare khi chỉ chiếm 8,4% [102]. Ngoài ra, các thuốc khác được sử dụng ở nhóm nghiên cứu của chúng tôi như: chẹn kênh calci, statin và amiodazon chiếm lần lượt là, 4,23%, 3,52% và 0,35%. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Anil Pathare cho thấy nhóm chẹn kênh calci chiếm 5,05%, statin chiếm 21,9% [102]. Tác

giả không đưa ra con số thống kê về việc sử dụng amiodazon trên quần thể nghiên cứu Rumani, tuy nhiên một số tác giả khác trên thế giới như Kalpana đã ghi nhận 1,5% số trường hợp sử dụng phối hợp acenocoumarol và amiodazon trên dân số Ấn Độ. Sự khác nhau về tỷ lệ phối hợp các thuốc khác với acenocoumarol giữa các quần thể nghiên cứu được lý giải do đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là bệnh nhân sau thay van tim cơ học, hơn nữa tùy thuộc vào loại bệnh lý kèm theo cũng như mức độ bệnh mà việc sử dụng các thuốc khác ngoài thuốc chống đông là bắt buộc.

4.1.2. Một số đặc điểm cận lâm sàng ở nhóm nghiên cứu

Một số chỉ số sinh hóa, huyết học và đông máu: Ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học đang sử dụng thuốc chống đông acenocoumarol việc theo dõi các chỉ số đông máu, sinh hóa, huyết học là một yêu cầu bắt buộc. Thông thường những bệnh nhân này hàng tháng đều được định kỳ làm các xét nghiệm đông máu đặc biệt là chỉ số INR để đánh giá hiệu quả chống đông máu và điều chỉnh liều thuốc acenocoumarol nếu INR không đạt mục tiêu. Trong nghiên cứu của chúng tôi lựa chọn đối tượng nghiên cứu có chỉ số INR trong 3 tháng liên tiếp là từ 2,0 đến 3,5, thời gian trong khoảng điều trị TTr >60% [6], do vậy giá trị INR trung bình trong 3 tháng của nhóm nghiên cứu lần lượt là 2,65, 2,68 và 2,72. Đồng thời do tiêu chuẩn lựa chọn nhóm nghiên cứu là các bệnh nhân không mắc các bệnh lý suy gan, suy thận, nhiễm trùng cấp, chính vì vậy mà một số chỉ số hóa sinh máu như glucose, ure, creatinin, ALT, AST, Na⁺, K⁺, Cl⁻ và chỉ số huyết học như RBC, Hb, Hct, WBC, PLT, MPV, PCT, PDW, P-LCR đều nằm trong giới hạn bình thường.

Một số đặc điểm về điện tim và siêu âm tim: Ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học việc theo dõi các chỉ số trên điện tim và siêu âm tim là hết sức cần thiết để đánh giá hoạt động của tim đặc biệt là van tim sau thay thế. Rung nhĩ là hậu quả của việc giãn và phì đại nhĩ trái kéo dài do tổn thương van tim và

thường là biểu hiện giai đoạn muộn của bệnh. Theo khuyến cáo của AHA/ACC và ESC thì rung nhĩ là một trong số các yếu tố nguy cơ hình thành huyết khối, do vậy những bệnh nhân này cần duy trì INR cao hơn những người không mang các yếu tố nguy cơ nhằm tránh biến chứng huyết khối [45], [103]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận có 67,6% bệnh nhân có rung nhĩ, 32,4% bệnh nhân nhịp xoang. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với một số công bố trước đây cho thấy tỷ lệ rung nhĩ ở nhóm bệnh nhân thay van tim dao động từ 14% đến 62% [104]. Sự tương đồng này có thể được giải thích là do kể cả sau thay van tim nhân tạo bệnh nhân cũng không thể khỏi hoàn toàn tình trạng suy tim cũng như rung nhĩ.

Siêu âm tim là thăm dò không xâm lấn được sử dụng để đánh giá hoạt động của van nhân tạo, cũng như theo dõi lâu dài ở bệnh nhân mang van tim nhân tạo. Siêu âm cho phép quan sát cấu trúc cũng như vận động của van nhân tạo. Siêu âm Doppler còn cung cấp các thông tin về huyết động của van nhân tạo như chênh áp qua van, diện tích lỗ hở hiệu dụng, các dòng hở van. Hơn nữa, còn giúp đánh giá các cấu trúc giải phẫu khác của tim, kích thước và chức năng tim, cũng như ước tính áp lực động mạch phổi [105], [106]. Kết quả trên siêu âm tim cho thấy đa số bệnh nhân trong nhóm nghiên cứu có nhĩ trái giãn chiếm 69,52%, 59,89% bệnh nhân có các tổn thương van khác kèm theo như hẹp và/hoặc hở van ba lá, hở chủ... 10,25% có chênh áp qua van cơ học tăng và 9,09% có giảm chức năng tâm thu thất trái.

4.1.3. Tính đa hình gen *CYP2C93, *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* ở nhóm nghiên cứu**

***CYP2C9**3:** Gen *CYP2C9* nằm trên nhiễm sắc thể 10q24.2 mã hóa cho enzym *CYP2C9* là một trong những enzym quan trọng nhất của hệ thống enzym Cytochrom P450 ở gan chịu trách nhiệm chuyển hóa nhiều nhóm thuốc trên lâm sàng trong đó có nhóm coumarin như acenocoumarol và wafarin [97]. Nhiều nghiên cứu đã chỉ ra rằng tại gen *CYP2C9* có hai đa hình là *CYP2C9**2 và *CYP2C9**3 ảnh hưởng nhiều nhất đến biến liều thuốc chống đông acenocoumarol, tuy nhiên tại một số quốc gia Châu Á trong đó có Việt Nam không thấy xuất hiện biến thể *CYP2C9**2 [107], chính vì vậy trong nghiên cứu này chúng tôi chỉ tiến hành xác định đa hình gen *CYP2C9**3. Sự xuất hiện biến thể di truyền *CYP2C9**3 làm thay đổi acid amin tại codon 359 từ Isoleucine thành Leucine (I359L), do vậy làm giảm hoạt động của enzym *CYP2C9* dẫn đến làm chậm sự thanh thải của acenocoumarol ra khỏi cơ thể. Chính vì vậy những người mang biến thể di truyền này có yêu cầu liều thuốc thấp hơn bình thường đã đạt hiệu quả điều trị.

Để xác định đa hình di truyền gen *CYP2C9**3 chúng tôi tiến hành kỹ thuật giải trình tự gen bằng phương pháp Sanger thu được kết quả như sau: Tỷ lệ alen biến dị *CYP2C9**3 là 2,5%, alen kiểu dại là 97,5%. Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả ở các dân tộc Châu Á và thấp hơn ở một số dân tộc Châu Âu. Tại Châu Á, tỷ lệ xuất hiện alen biến dị *CYP2C9**3 ở Nhật Bản là 2,4% (n=828) [108], Hàn Quốc là 1,1% (n=574) [109], Trung Quốc là 3,0% (n=280) [110], Việt Nam là 2,2% (n=157) [68], Malaysia là 2,4% (n=202) [111]. Điều này được lý giải là do đa hình đơn nucleotid mang tính đặc trưng cho từng chủng tộc.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ kiểu gen đồng hợp kiểu dại *CYP2C9**1*1 chiếm đa số trong nghiên cứu với 95,1%, kiểu gen dị

hợp *CYP2C9* *1*3 là 4,9%, không có bệnh nhân nào mang kiểu gen đồng hợp biến dị *CYP2C9**3*3. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với công bố của một số tác giả trên thế giới khi cho rằng ở một số dân tộc Châu Á, đặc biệt là tại các nước Đông Nam Á đa hình gen *CYP2C9**3 chủ yếu là đồng hợp kiểu dại xuất hiện với tần số khá cao, không có kiểu gen đồng hợp biến dị. Bảng dưới đây là tần số alen và kiểu gen *CYP2C9**3 ở một số quốc gia trên thế giới.

Bảng 4.1. Tần số alen và kiểu gen *CYP2C93 ở một số quốc gia trên thế giới**

Quốc gia	Cỡ mẫu	<i>CYP2C9</i> *3 (%)		
		*1*1	*1*3	*3*3
Việt Nam [68]	157	95,5	4,5	0
Ấn Độ [6]	205	78,5	14,1	0
Trung Quốc [112]	101	95	5	0
Nhật Bản [113]	259	95,8	4,2	0
Anh [114]	120	70	14,2	0
Italia [115]	157	65	14,5	0,8
Argentina [116]	101	57	5	0
Oman [102]	214	73,6	11,2	0,4
Ai Cập [117]	207	62,5	11,7	1

VKORC1-1639G>A: Gen *VKORC1* nằm trên nhiễm sắc thể 16p12.21q được cấu tạo gồm 3 exon và 4 intron, nhiều SNPs của gen này đã được phát hiện trong đó SNP *VKORC1-1639G>A* nằm trên vùng promoter của gen *VKORC1*. Một số nghiên cứu trên thế giới đã chứng minh đa hình này có ảnh hưởng tới biến liều thuốc chống đông do làm giảm hoạt động của enzym

vitamin K epoxid reductase, đây là enzym đích của thuốc acenocoumarol. Để xác định tần số alen và kiểu gen của SNP *VKORC1* ở quần thể nghiên cứu chúng tôi tiến hành giải trình tự đoạn gen có chứa SNP *VKORC1-1639G>A*. Kết quả cho thấy tần số xuất hiện alen biến dị *VKORC1-1639 (A)* là 86,3%, alen kiểu dại *VKORC1-1639 (G)* là 13,7%. Tỷ lệ bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị chiếm đa số trong nghiên cứu với 73,6%, kiểu gen dị hợp GA là 25,4%, đồng hợp kiểu dại chiếm ít nhất với 1,1%. Kết quả này phù hợp với một số công bố của các tác giả trước đây trên thế giới khi cho rằng ở các nước Đông Nam Á trong đó có Việt Nam alen biến dị chiếm đa số dao động khoảng trên 70% [80], trái ngược với các nước Châu Á khi alen này xuất hiện với tần số khoảng 30-50%. Theo tác giả Takashi Tamura nghiên cứu trên 436 bệnh nhân Nhật Bản cho thấy tỷ lệ kiểu gen đồng hợp kiểu dại là 0,5%, dị hợp là 16% và đồng hợp biến dị là 83,5%, tần số alen kiểu dại là 0,085, alen biến dị là 0,915 [118].

Bảng 4.2. Tần số alen và kiểu gen *VKORC1-1639G>A* ở một số quốc gia/dân tộc trên thế giới

Quốc gia/Dân tộc	<i>VKORC1-1639G>A</i>				
	Tần số kiểu gen			Tần số alen	
	AA	AG	GG	A	G
Hán, Trung Quốc [119]	0,83	0,15	0,02	0,93	0,07
Người da trắng [120]	0,14	0,47	0,39	0,38	0,72
Trung Quốc [121]	0,33	0,58	0,09	0,62	0,38
Anh [122]	0,25	0,56	0,19	0,47	0,53
Pháp [123]	0,43	0,35	0,22	0,42	0,58

VKORC1 1173C>T: Đa hình gen *VKORC1 1173C>T* nằm trên intron 1 của gen *VKORC1* của nhiễm sắc thể 16, để xác định tần số alen, kiểu gen của đa hình này chúng tôi đã tiến hành giải trình tự đoạn gen chứa SNP *VKORC1 1173C>T*. Kết quả ghi nhận alen biến dị T chiếm đa số trong nghiên cứu với 89,1%, alen đại C chiếm 10,9%. Kiểu gen đồng hợp biến dị *VKORC1 1173TT* là chủ yếu với 80,3%, tỷ lệ bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp là 17,6%, đồng hợp kiểu đại chiếm ít nhất với 2,1%. Kết quả này của chúng tôi ghi nhận tần số alen biến dị xuất hiện khá cao trong quần thể nghiên cứu tương tự với công bố của một số tác giả ở Châu Á như dân tộc Hán Trung Quốc và cao hơn so với một số dân tộc ở Châu Âu như người Mỹ.

Bảng 4.3. Tần số alen và kiểu gen *VKORC1 1173C>T* ở một số quốc gia trên thế giới

Quốc gia	<i>VKORC1 1173C>T</i>				
	Tần số kiểu gen			Tần số alen	
	TT	TC	CC	T	C
Hán Trung Quốc [124]	0,85	0,14	0,01	0,92	0,08
Dân tộc da trắng [124]	0,17	0,49	0,34	0,58	0,42
Người Mỹ gốc Phi [125]	0,01	0,19	0,80	-	-
Người Mỹ gốc Âu [125]	0,12	0,50	0,38	-	-

Kiểu gen phối hợp *VKORC1 -1639G>A, 1173C>T*: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tỷ lệ bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị của hai SNPs (AA+TT) chiếm đa số trong nghiên cứu với 73,2%, dị hợp (GA+CT) là 17,3%, đồng hợp kiểu đại (GG+CC) là 1,1%, các kiểu gen khác như (GA+TT), (GA+CC) và (AA+CT) chiếm lần lượt là 7%, 1,1% và 0,4%.

Và đặc biệt không có sự xuất hiện của kiểu gen GG+CT, GG+TT và AA+CC trong quần thể nghiên cứu của chúng tôi. Một số tác giả trên thế giới đã đưa ra các con số thống kê về tỷ lệ kiểu gen phối hợp tại hai SNP này. Theo nghiên cứu của tác giả Abdelhak Elkhazraji năm 2018 trên 217 bệnh nhân Maroc cho thấy một số kiểu gen phối hợp được quan sát thấy: (GG+CC), (GG+CT), (GA+CC), (GA+CT), (GA+TT), (AA+CC), (AA+CT) và (AA+TT), như vậy không có sự xuất hiện của kiểu gen (GG+TT) trong quần thể nghiên cứu. Hơn nữa, khi đánh giá tần số xuất hiện các kiểu gen phối hợp này, tác giả thấy rằng tỷ lệ kiểu gen (GA+CT) là cao nhất với 41,94%, kiểu gen (AA+CC) là thấp nhất chiếm 0,46% với 1 bệnh nhân, các kiểu gen (GG+CC), (AA+TT), (GA+TT) và (GG+CT) chiếm tỷ lệ lần lượt là 23,04%, 11,98%, 7,37% và 3,24%. Kiểu gen (AA+CT) và (GA+CC) xuất hiện với cùng tỷ lệ 5,99% [64]. Trong nghiên cứu của chúng tôi kiểu gen GG+TT không xuất hiện trong quần thể nghiên cứu, tương đồng với công bố của một số tác giả trên thế giới, điều này có thể lý giải do hai đa hình gen *VKORC1* -1639G>A, 1173C>T có mối liên kết với nhau, sự xuất hiện alen biến thể ở SNP này liên kết với sự xuất hiện alen biến thể ở SNP kia.

4.2. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đa hình gen *CYP2C93, *VKORC1*-1639G>A, 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học**

4.2.1. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol

Tuổi: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận liều thuốc acenocoumarol trung bình của nhóm nghiên cứu là 12,38 mg/tuần, liều thuốc thấp nhất là 4 mg/tuần, cao nhất là 34 mg/tuần. Kết quả này thấp hơn nghiên cứu của Sehgal tại Ấn Độ năm 2015 với liều thuốc trung bình là 17,5 mg/tuần, sự khác biệt này do các yếu tố lâm sàng và di truyền ảnh hưởng tới

liều thuốc giữa các chủng tộc là khác nhau [16]. Chúng tôi phân loại nhóm nghiên cứu thành các nhóm tuổi từ 20 đến 39 tuổi, từ 40 đến 59 tuổi và từ 60 đến 79 tuổi nhằm đánh giá sự ảnh hưởng của yếu tố tuổi đến liều thuốc chống đông acenocoumarol. Kết quả cho thấy những bệnh nhân từ 60 đến 79 tuổi có liều thuốc chống đông trung bình ($10,17 \pm 3,72$ mg/tuần) thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân từ 20 đến 39 tuổi ($14,19 \pm 5,53$ mg/tuần) và bệnh nhân từ 40 đến 59 tuổi ($12,52 \pm 4,61$ mg/tuần), với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Tuy nhiên không có sự khác biệt về liều acenocoumarol giữa các nhóm bệnh nhân từ 20 đến 39 tuổi và từ 40 đến 59 tuổi. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận tuổi là một chỉ số nhân trắc ảnh hưởng tới sự thay đổi liều thuốc acenocoumarol giữa các cá thể người bệnh, kết quả này tương đồng với nghiên cứu của tác giả Abdelhak Elkhazraji và cộng sự năm 2018 tại Ấn Độ cho thấy bệnh nhân trên 65 tuổi có liều thuốc trung bình ($17,41 \pm 10,80$ mg/tuần) thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân dưới 65 tuổi ($25,25 \pm 11,76$ mg/tuần) [64]. Nghiên cứu của Nitsupa Wattanachai năm 2017 trên dân số Thái Lan cho thấy bệnh nhân từ 60 đến 79 tuổi có liều thuốc trung bình ($20,8 \pm 8,3$ mg/tuần) thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân từ 20 đến 39 tuổi ($28 \pm 12,4$ mg/tuần), với $p < 0,05$, nhóm bệnh nhân từ 80 đến 99 tuổi có liều thuốc trung bình thấp nhất trong nhóm nghiên cứu ($15 \pm 6,1$ mg/tuần), đồng thời không có sự khác biệt về liều thuốc giữa hai nhóm tuổi là từ 20 đến 39 và từ 40 đến 59 [94]. Nghiên cứu của Tanima De và cộng sự ghi nhận những bệnh nhân dưới 40 tuổi yêu cầu liều thuốc acenocoumarol cao gấp 3 lần bệnh nhân trên 40 tuổi [126]. Nghiên cứu của tác giả Pop và cộng sự năm 2013 đã tìm thấy mối tương quan nghịch giữa tuổi và liều thuốc chống đông acenocoumarol ($r = -0.339$, $p < 0,001$) [93]. Điều này hoàn toàn phù hợp về mặt sinh lý và sinh lý bệnh vì hoạt động của hệ thống enzym cytochrome (P450) giảm dần theo tuổi dẫn đến giảm chuyển hóa và đào thải thuốc ra khỏi

cơ thể, chính vì vậy bệnh nhân tuổi càng cao yêu cầu liều thuốc chống đông càng thấp.

Giới: Do đặc điểm giải phẫu, chức năng sinh lý và nội tiết của nam và nữ có nhiều điểm khác nhau, do vậy chúng tôi tìm hiểu mối liên quan giữa giới tính với liều thuốc chống đông acenocoumarol. Kết quả nghiên cứu ghi nhận không có sự khác biệt về liều thuốc acenocoumarol giữa nam ($12,52 \pm 4,87$ mg/tuần) và nữ ($12,28 \pm 4,63$ mg/tuần) trong nhóm nghiên cứu ($p > 0,05$). Kết quả của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của tác giả Buzoianu và cộng sự cũng không tìm thấy mối liên quan giữa giới tính với liều thuốc acenocoumarol trên dân số Romani [22], tương tự như vậy trên dân số Ấn Độ [6], Trung Quốc [127], Nhật Bản [91], Thái Lan [94] cũng không tìm thấy mối liên quan này.

BMI: Để xác định sự ảnh hưởng của chỉ số khối cơ thể (BMI) lên liều thuốc acenocoumarol chúng tôi đã tìm hiểu mối liên quan này, kết quả ghi nhận nhóm bệnh nhân béo phì độ I có liều thuốc chống đông ($13,69 \pm 5,70$ mg/tuần) cao hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân cân nặng thấp ($11,29 \pm 5,05$ mg/tuần) với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, $p < 0,05$. Kết quả của chúng tôi tương đồng với nhiều nghiên cứu trên thế giới khi cho rằng chỉ số BMI là một trong các yếu tố lâm sàng đóng vai trò quan trọng khi xác định liều điều trị cho bệnh nhân. Nghiên cứu của tác giả Kumar cho thấy chỉ số BMI ảnh hưởng tới sự thay đổi liều acenocoumarol trên dân số Ấn Độ ($r^2 = 0,097$, $p = 0,0001$). Theo nghiên cứu của Nitsupa Wattanachai và cộng sự trên dân số Thái Lan cho thấy bệnh nhân béo phì độ I và II có liều thuốc chống đông ($26,6 \pm 8,2$ mg/tuần) cao hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân có thể trạng trung bình ($21,3 \pm 8,7$ mg/tuần) [94]. Hiện nay, thực tế trên lâm sàng việc điều trị thuốc chống đông cho bệnh nhân chủ yếu vẫn dựa trên chỉ số

BMI và INR. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được sự ảnh hưởng của chỉ số BMI đến liều thuốc acenocoumarol.

Yếu tố nguy cơ: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận liều thuốc chống đông trung bình của nhóm bệnh nhân tăng huyết áp là $12,32 \pm 4,16$ mg/tuần, không tăng huyết áp là $12,39 \pm 4,84$ mg/tuần, như vậy không có sự khác biệt về liều thuốc chống đông trung bình giữa hai nhóm với $p > 0,05$. Tương tự như vậy, liều thuốc trung bình ở nhóm bệnh nhân hút thuốc là $13,24 \pm 4,11$ mg/tuần, cao hơn nhóm bệnh nhân không hút thuốc là $12,27 \pm 4,8$ mg/tuần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Kết quả của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới như Wypasek khi cho rằng không tìm thấy mối liên quan giữa liều thuốc chống đông với một số yếu tố như tăng huyết áp, hút thuốc [46].

Nguyên nhân và vị trí thay van tim: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận không có sự khác biệt về liều thuốc chống đông acenocoumarol giữa các nhóm nguyên nhân thay van tim. Theo AHA/ACC năm 2017 việc dùng thuốc chống đông và theo dõi chỉ số INR phụ thuộc khá lớn vào vị trí thay van tim. Theo khuyến cáo, ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học việc dùng thuốc chống đông là bắt buộc và suốt đời. Chỉ số INR cần được kiểm tra định kỳ hàng tháng nhằm đánh giá hiệu quả chống đông máu. INR mục tiêu ở bệnh nhân sau thay van hai lá là 2,5-3,5, sau thay van động mạch chủ là 2,0-3,0, sau thay cả hai van là 2,5-3,5 [103]. Sự chênh lệch về INR mục tiêu được giải thích là do tốc độ lưu lượng máu đến van động mạch chủ cao hơn lỗ van hai lá, dẫn đến nguy cơ huyết khối cao hơn ở bệnh nhân thay van hai lá so với van động mạch chủ cơ học [10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, không có sự khác biệt về liều thuốc chống đông ở hai nhóm bệnh nhân thay van hai lá và van động mạch chủ. Tuy nhiên, ở nhóm bệnh nhân thay cả hai

van tim có yêu cầu liều thuốc thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân thay van động mạch chủ với $p < 0,05$.

Thời gian sau thay van tim cơ học: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận liều thuốc chống đông trung bình của nhóm nghiên cứu tăng dần theo năm, cụ thể ở nhóm bệnh nhân < 1 năm, 1-2 năm, 2-3 năm và > 3 năm có liều thuốc chống đông trung bình lần lượt là $11,61 \pm 4,94$ mg/tuần, $12,65 \pm 4,61$ mg/tuần, $12,05 \pm 4,87$ mg/tuần và $13,01 \pm 4,60$ mg/tuần, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều này có thể do thời gian phẫu thuật trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi chưa có sự phân bố đủ rộng để có thể quan sát được sự khác biệt về liều thuốc acenocoumarol theo thời gian sau phẫu thuật.

Một số loại thuốc được dùng phối hợp với acenocoumarol: Khi tìm hiểu về sự tương tác giữa một số loại thuốc được sử dụng phối hợp với acenocoumarol chúng tôi thấy rằng có sự khác biệt đáng kể về liều chống đông giữa hai nhóm bệnh nhân dùng và không dùng beta-blocker. Bệnh nhân dùng beta-blocker có liều thuốc chống đông là $12,01 \pm 4,51$ mg/tuần, thấp hơn có ý nghĩa so với bệnh nhân không dùng beta-blocker là $13,58 \pm 5,26$ mg/tuần ($p < 0,05$). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với một số báo cáo trước đây khi cho rằng thuốc beta-blocker làm ức chế chuyển hóa của thuốc chống đông kháng vitamin K tại gan, do vậy làm chậm quá trình thanh thải của thuốc chống đông ra khỏi cơ thể [128]. Chính vì vậy những bệnh nhân dùng thuốc beta-blocker có yêu cầu liều thuốc chống đông thấp hơn những bệnh nhân không dùng beta-blocker đã đạt hiệu quả chống đông máu.

Trong nghiên cứu của chúng tôi nhóm bệnh nhân dùng aspirin có liều thuốc chống đông acenocoumarol cao hơn nhóm bệnh nhân không dùng aspirin, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Điều

này có thể do số bệnh nhân dùng aspirin trong quần thể nghiên cứu của chúng tôi khá thấp (6 bệnh nhân). Hơn nữa, trong 6 bệnh nhân đang dùng aspirin thì có tới 4 bệnh nhân có tiền sử bị huyết khối do không đạt hiệu quả chống đông máu trong quá khứ dẫn tới phải tăng liều acenocoumarol phối hợp với việc sử dụng thêm một loại thuốc chống đông máu tác dụng lên tiểu cầu là aspirin để đạt hiệu quả điều trị. Tương tự như vậy, số bệnh nhân dùng thuốc clopidogrel trong quần thể nghiên cứu chúng tôi là 3 bệnh nhân và trong tiền sử có 2/3 bệnh nhân bị tắc mạch não và kẹt van tim. Trong nghiên cứu này chúng tôi cũng chưa tìm thấy mối liên quan giữa liều dùng acenocoumarol với clopidogrel. Mặc dù amiodazone được một số nghiên cứu đề cập đến tương tác với acenocoumarol, trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi chỉ có 01 bệnh nhân sử dụng amiodazone với liều acenocoumarol là 7mg/tuần thấp hơn nhóm không dùng amiodazone là 12,40 mg/tuần.

Theo nghiên cứu của Ramo'n Montes khi đánh giá nguy cơ xuất huyết tiêu hóa ở bệnh nhân sử dụng acenocoumarol cho thấy những bệnh nhân có nguy cơ cao xuất huyết tiêu hóa khi mang ít nhất một trong các đa hình *VKORC1-1639G>A*, *CYP2C9*2*, **3* và liều thuốc trên 15mg OR (95%CI) = 4,19 (1,59-11,04), nếu sử dụng amiodazone OR (95%CI) = 9,97 (1,75-56,89), nếu dùng aspirin OR(%CI) = 8,97 (1,66-48,34), sử dụng statin có nguy cơ thấp hơn OR (%CI) = 0,50 (0,26-0,99) [129]. Tuy nhiên theo nghiên cứu của Casais trên 121 bệnh nhân thay van tim cơ học đang dùng acenocoumarol cho thấy không tìm thấy mối liên quan với nguy cơ chảy máu ở bệnh nhân dùng phối hợp cả acenocoumarol và aspirin. Theo tác giả Van Schie những bệnh nhân dùng amiodazone có liều thuốc acenocoumarol giảm 0,345 lần so với bệnh nhân không dùng amiodazone [130]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi không tìm thấy sự tương tác giữa acenocoumarol và một số loại thuốc khác như furosemid, digoxin, nhóm chẹn kênh calci, statin, nhóm ức chế ACE ($p>0,05$).

4.2.2. Mối liên quan giữa đặc điểm cận lâm sàng với liều thuốc acenocoumarol

Điện tim: Việc theo dõi trên điện tim ở bệnh nhân sau thay van cơ học đang dùng thuốc acenocoumarol là hết sức cần thiết nhằm phát hiện các trường hợp rung nhĩ có nguy cơ cao hình thành huyết khối. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận liều thuốc chống đông trung bình của nhóm bệnh nhân nhĩ xoang là $12,89 \pm 4,84$ mg/tuần, rung nhĩ là $12,09 \pm 4,56$ mg/tuần, tuy nhiên không có sự khác biệt về liều acenocoumarol giữa hai nhóm, với $p > 0,05$.

Siêu âm tim: Tương tự như điện tim, siêu âm tim cũng là thăm dò chức năng cần được làm định kỳ trên bệnh nhân thay van tim cơ học nhằm đánh giá hoạt động của van tim, tổn thương kèm theo tại tim...Nghiên cứu này đã tìm hiểu sự ảnh hưởng của một số thông số trên siêu âm tim như chênh áp qua van, tổn thương van kèm theo, áp lực động mạch phổi, chức năng tâm thu thất trái lên liều thuốc chống đông acenocoumarol. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt về liều thuốc giữa các nhóm bệnh nhân theo một số chỉ số trên siêu âm ($p > 0,05$). Trong nghiên cứu của chúng tôi bệnh nhân nhĩ trái giãn có yêu cầu liều thuốc acenocoumarol ($12,02 \pm 4,30$ mg/tuần) thấp hơn bệnh nhân không giãn nhĩ trái ($13,41 \pm 4,55$ mg/tuần) với mức ý nghĩa thống kê tiệm cận ($p = 0,054$).

4.2.3. Mối liên quan giữa kiểu gen CYP2C9*3, VKORC1-1639G>A và 1173C>T với liều thuốc acenocoumarol

CYP2C9*3: Đa hình đơn nucleotid CYP2C9*3 tại exon 7 của gen CYP2C9 làm thay đổi acid amin Isoleucin thành Leucin tại vị trí codon359 dẫn tới làm giảm 80% hoạt động của enzym CYP2C9 ở gan do vậy làm giảm sự chuyển hóa và đào thải của acenocoumarol qua thận ra ngoài nước tiểu. Chính vì vậy, những người mang biến thể di truyền này có yêu cầu liều thuốc

chống đông thấp hơn bình thường đã đạt được hiệu quả điều trị, nếu dùng liều bình thường có thể dẫn đến nguy cơ xuất huyết. Một số nghiên cứu trên thế giới đã chỉ ra mối liên quan giữa đa hình này với liều thuốc chống đông kháng vitamin K như acenocoumarol.

Kết quả nghiên cứu về mối liên quan giữa đa hình *CYP2C9**3 với liều thuốc acenocoumarol của chúng tôi cho thấy liều thuốc trung bình ở bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại *1*1 là $12,46 \pm 4,72$ mg/tuần cao hơn so với liều thuốc trung bình ở nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp *1*3 là $10,86 \pm 4,62$ mg/tuần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, $p > 0,05$. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trái ngược với công bố của một số nghiên cứu trên thế giới khi cho rằng đa hình *CYP2C9**3 ảnh hưởng đến 10-30% biến liều của thuốc chống đông. Theo tác giả Kalpana và cộng sự nghiên cứu sự ảnh hưởng của thuốc acenocoumarol trên bệnh nhân Ấn Độ thay van tim cơ học cho thấy yêu cầu liều acenocoumarol trung bình giảm 17% ở những bệnh nhân mang alen *CYP2C9* biến dị so với bệnh nhân mang alen kiểu dại ($2,24 \pm 0,82$ mg/ngày so với $2,70 \pm 1,07$ mg/ngày) [6].

Sự khác biệt này có thể do trong quần thể nghiên cứu của chúng tôi kiểu gen dị hợp *1*3 chiếm rất ít trong nghiên cứu, hơn nữa không có sự xuất hiện của kiểu gen đồng hợp biến dị *3*3 do vậy không thể hiện rõ được sự ảnh hưởng của đa hình này tới liều thuốc acenocoumarol ở quần thể nghiên cứu. Kết quả của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của tác giả Esmerian trên 231 bệnh nhân Leban cho thấy sự giảm liều ở những bệnh nhân mang alen biến dị của *CYP2C9**3, cụ thể người mang kiểu gen *1*1 và *1*3 có liều thuốc acenocoumarol lần lượt là 19 ± 13 mg/tuần và $16,0 \pm 1,0$ mg/tuần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê $p = 0,165$ [131]. Hay nghiên cứu của tác giả Elkhazraji trên bệnh nhân Maroc sử dụng acenocoumarol cho thấy bệnh nhân mang kiểu gen *1*1 có liều thuốc là $23,48 \pm 12,09$ mg/tuần cao hơn

nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp *1*3 là $19 \pm 10,89$ mg/tuần, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p=0,075$).

VKORC1-1639G>A: Gen *VKORC1* mã hóa cho enzym vitamin K epoxide reductase (*VKORC1*) chịu trách nhiệm chuyển đổi vitamin K dạng oxy hóa thành dạng khử, quá trình này cần thiết cho sự gamma-carboxyl hóa các yếu tố đông máu phụ thuộc vitamin K (yếu tố II, VII, IX, và X) tham gia vào quá trình đông máu. Cơ chế chống đông máu của acenocoumarol là ức chế enzym vitamin K epoxide reductase, làm giảm quá trình carboxyl của các yếu tố đông máu trên dẫn đến các yếu tố này không chuyển thành dạng hoạt động được do vậy quá trình đông máu bị ức chế. Đa hình đơn nucleotid *VKORC1-1639G>A* tại vùng promoter của gen *VKORC1* làm giảm tổng hợp tới 70% enzym vitamin K epoxide reductase. Chính vì vậy những người mang biến thể di truyền này có yêu cầu liều thuốc chống đông thấp hơn người bình thường đã đạt hiệu quả chống đông máu.

Nghiên cứu trên 284 bệnh nhân chúng tôi ghi nhận có sự giảm liều rõ rệt ở nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị và dị hợp so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại ($p<0,01$). Cụ thể liều thuốc chống đông trung bình của nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị là $10,8 \pm 3,4$ mg/tuần, dị hợp là $16,36 \pm 4,53$ mg/tuần và đồng hợp kiểu dại là $26,83 \pm 7,8$ mg/tuần. Như vậy, kết quả đã cho thấy để đạt được đích điều trị (INR trong 3 tháng liên tiếp từ 2,0-3,5) bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị có yêu cầu liều chống đông giảm 59,7% so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại và giảm 34% so với bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp. Bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp có yêu cầu liều giảm 39% so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu tác giả Markatos ghi nhận những bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị *VKORC1 -1639 AA* có yêu cầu liều thấp hơn 63% so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại *VKORC1-1639 GG* [23]. Các nghiên cứu khác cũng cho kết quả tương tự như nghiên cứu trên dân số Đức là 52% [132], Serbia là 62% [132] và dân số Liban là 50% [133].

VKORC1 1173C>T: Khi xác định mối liên quan giữa đa hình đơn nucleotid *VKORC1 1173C>T* với liều thuốc chống đông acenocoumarol trong quần thể nghiên cứu, kết quả của chúng tôi ghi nhận liều thuốc chống đông trung bình của nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại là $21,92 \pm 7,66$ mg/tuần, dị hợp là $17,08 \pm 4,70$ mg/tuần và đồng hợp biến dị là $11,10 \pm 2,58$ mg/tuần. Kết quả này cũng đồng nghĩa với việc bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị có yêu cầu liều thuốc chống đông giảm 49,4% so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại và giảm 35% so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp. Bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp có yêu cầu liều giảm 22,1% so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại. Như vậy, để đạt được đích điều trị với INR từ 2,0 đến 3,5 trong ít nhất 3 tháng liên tiếp những bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị có yêu cầu liều thuốc chống đông thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp và đồng hợp kiểu dại ($p < 0,01$). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của tác giả Reitsma trên dân số Hà Lan cho thấy bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị *VKORC1 1173TT* cần một liều chống đông ít hơn 47% so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại [134]. Điều này được lý giải là do sự xuất hiện biến thể di truyền *VKORC1 1173C>T* tại vùng intron của gen đã ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp enzym vitamin K epoxide reductase, đây là enzym đóng vai trò cốt lõi trong quá trình chuyển hóa của vitamin K đồng thời cũng là enzym đích của acenocoumarol.

Kiểu gen phối hợp *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T*: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy liều thuốc chống đông trung bình của bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại ở cả hai SNPs (GG+CC) là cao nhất $26,83 \pm 7,82$ mg/tuần, của nhóm bệnh nhân đồng hợp biến dị (AA+TT) là thấp nhất $10,8 \pm 3,4$ mg/tuần. Bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị tại cả hai SNPs này có yêu cầu liều giảm 59,7% so với những bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại, giảm liều 37,3% so với bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị tại cả hai SNPs, giảm liều 36,% so với bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp tại SNP *VKORC1-1639G>A* và đồng hợp kiểu dại tại SNP *VKORC1 1173C>T*, giảm liều 23,7% so với bệnh nhân mang kiểu gen dị hợp của SNP *VKORC1-1639G>A* phối hợp với đồng hợp biến dị tại SNP *VKORC1 1173C>T*.

Nghiên cứu trên 217 bệnh nhân Maroc năm 2018 của tác giả Elkhazraji cho thấy khi phối hợp hai SNP *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* thì liều thuốc trung bình ở bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp kiểu dại tại cả hai SNP (GG+CC) có liều thuốc cao nhất $34,12 \pm 11,49$ mg/tuần, bệnh nhân mang kiểu gen đồng hợp biến dị có liều thuốc thấp nhất $13,73 \pm 5,24$ mg/tuần. Các kiểu gen khác GG+CT, GA+CC, GA+CT, GA+TT, AA+CT có liều thuốc lần lượt là $16,86 \pm 9,28$ mg/tuần, $26,85 \pm 3,11$ mg/tuần, $20,55 \pm 6,71$ mg/tuần, $21,81 \pm 7,64$ mg/tuần và $14,92 \pm 8,74$ mg/tuần, có duy nhất một bệnh nhân mang kiểu gen AA+CC có liều thuốc là 35 mg/tuần. Như vậy bệnh nhân mang alen biến dị tại hai SNPs này có liều thuốc giảm rõ rệt so với bệnh nhân mang alen kiểu dại [84]. Điều này hoàn toàn phù hợp, do gen *VKORC1* mã hóa enzym đích (vitamin K epoxide reductase) của acenocoumarol trong quá trình chuyển hóa. Sự xuất hiện biến thể tại một trong hai hoặc cả hai đa hình *VKORC1-1639G>A* và *1173C>T* đã làm giảm rõ rệt quá trình tổng hợp enzym đích này. Do vậy, bệnh nhân mang ít nhất một trong hai biến thể di truyền này có yêu cầu liều thuốc thấp hơn so với những người không mang biến thể di truyền.

4.2.4. Phân tích hồi quy tuyến tính các yếu tố ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol

Thực tế cho thấy rằng biến đổi ở một gen khó có thể giải thích được sự thay đổi liều thuốc chống đông acenocoumarol ở bệnh nhân sau phẫu thuật thay van tim. Bởi các gen trong cơ thể thường tương tác, thúc đẩy, kìm hãm, điều hoà lẫn nhau trong các con đường tín hiệu nội bào. Hơn nữa một số chỉ số nhân trắc như tuổi, giới, BMI cũng có thể ảnh hưởng đến liều thuốc... Chính vì vậy, một nghiên cứu riêng lẻ từng yếu tố nguy cơ sẽ không cung cấp các số liệu sát thực. Như vậy, phân tích hồi quy logistic sẽ phản ánh chính xác sự ảnh hưởng cùng lúc của các yếu tố như lâm sàng và di truyền lên liều thuốc chống đông. Nhóm nghiên cứu đã áp dụng phương pháp phân tích này và thu được các kết quả đáng chú ý. Nhằm xác định mức độ ảnh hưởng của các yếu tố lâm sàng và di truyền lên liều thuốc acenocoumarol cũng như giúp xây dựng thuật toán dự đoán liều thuốc dựa trên các yếu tố này thì liều acenocoumarol trung bình hàng tuần đã được chuyển đổi thành một liều logarit và được sử dụng như một biến phụ thuộc trong phân tích đơn biến và đa biến theo các yếu tố lâm sàng và di truyền.

Mô hình hồi quy đơn biến và đa biến các chỉ số nhân trắc ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol: Nhiều yếu tố lâm sàng được xác định là ảnh hưởng đến liều thuốc chống đông acenocoumarol. Trong đó các yếu tố như lượng vitamin K có trong thức ăn, việc sử dụng thuốc đều đặn theo hướng dẫn của bác sỹ, các bệnh lý suy gan, suy thận... được chúng tôi loại trừ ra khỏi nghiên cứu bằng các tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân. Tuy nhiên có một số yếu tố như tuổi, giới và chỉ số BMI được chúng tôi lựa chọn một cách ngẫu nhiên nhằm xác định sự ảnh hưởng của các yếu tố này lên liều thuốc. Kết quả ghi nhận trong mô hình hồi quy đơn biến các chỉ số nhân trắc như tuổi, BMI ảnh hưởng đến 4,9% và 3,8% biến liều thuốc chống đông. Tác động cộng gộp của

hai yếu tố này ảnh hưởng đến 10,1% sự thay đổi liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân nghiên cứu. Mức độ ảnh hưởng của các chỉ số nhân trắc lên sự thay đổi liều thuốc ở quần thể nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới như Tudor Radu Pop và cộng sự khi ghi nhận tuổi ảnh hưởng đến 11,8%, BMI ảnh hưởng đến 7% và tác động cộng gộp của cả hai yếu tố trên ảnh hưởng đến 18,8% biến liều thuốc acenocoumarol [93]. Có sự khác biệt này có thể trong nhóm nghiên cứu của chúng tôi không có sự khác biệt quá lớn về tuổi cũng như chỉ số BMI, đặc biệt không có bệnh nhân béo phì độ II, III và không có bệnh nhân lớn tuổi trên 70 tuổi.

Mô hình hồi quy đơn biến và đa biến các yếu tố di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol: Trong mô hình hồi quy đơn biến xác định sự ảnh hưởng của các yếu tố di truyền như đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* và *CYP2C9*3* lên liều thuốc acenocoumarol, kết quả cho thấy đa hình gen *VKORC1-1639G>A* ảnh hưởng nhiều nhất đến biến liều thuốc với 28,9% ($p<0,001$), đa hình *VKORC1 1173C>T* là 24,8% ($p<0,001$) và đa hình gen *CYP2C9*3* ảnh hưởng không đáng kể đến biến liều thuốc (0,7%) với $p>0,05$. Mức độ ảnh hưởng của các đa hình gen này lên liều thuốc acenocoumarol ở quần thể nghiên cứu của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới như Abdelhak Elkhazraji khi đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T*, *CYP2C9*3* ảnh hưởng đến 25,4%, 23,4% và 6,2% biến liều thuốc chống đông acenocoumarol [64].

Nghiên cứu của tác giả Nitsupa Wattanachai cho thấy đa hình gen *VKORC1-1639G>A* ảnh hưởng đến 22,5% biến liều thuốc chống đông [94]. Như vậy kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với công bố của nhiều tác giả trên thế giới khi cho rằng đa hình gen *VKORC1 -1639G>A* trên vùng promoter của gen *VKORC1* ảnh hưởng nhiều nhất đến biến liều thuốc chống đông do đây là enzym đích của thuốc acenocoumarol, tác dụng trực tiếp đến

quá trình đông máu. Hơn nữa, tại Việt Nam alen biến thể *VKORC1-1639A* xuất hiện với tần số khá cao >80%, điều này giải thích liều dùng thuốc chống đông acenocoumarol khá thấp ở dân số Việt Nam.

Theo công bố của một số nghiên cứu trên thế giới ghi nhận các đa hình gen *CYP2C9* và *VKORC1* giải thích được khoảng 30-40% sự thay đổi liều thuốc chống đông giữa các cá thể người bệnh [22], [89], [135]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thuật toán hồi quy đa biến được sử dụng để đánh giá tác động cộng gộp của các đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* và *CYP2C9*3* lên liều thuốc acenocoumarol, kết quả ghi nhận các đa hình trên ảnh hưởng đến 31,5% biến liều thuốc chống đông. Đặc biệt là sự tác động của đa hình *CYP2C9*3* đến liều thuốc acenocoumarol lại có ý nghĩa thống kê ($p<0,05$), khi mà trong mô hình hồi quy đơn biến chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan này. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương đồng với nghiên cứu của một số tác giả trên thế giới như Abdelhak Elkhazraji và cộng sự cho thấy tác động cộng gộp của các đa hình gen này giải thích được 33,7% biến liều thuốc chống đông acenocoumarol trên 217 bệnh nhân Maroc [64].

Mô hình hồi quy đa biến các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol: Để xác định sự ảnh hưởng, tác động qua lại của các yếu tố lâm sàng, cận lâm sàng và di truyền lên liều thuốc acenocoumarol chúng tôi sử dụng thuật toán hồi quy đa biến. Trong thuật toán này chúng tôi cố gắng đưa vào mô hình tất cả các yếu tố có thể ảnh hưởng tới liều thuốc acenocoumarol như: Đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T*, tuổi, chỉ số BMI, huyết áp, hút thuốc, nguyên nhân thay van, vị trí thay van, thời gian phẫu thuật, tiền sử xuất huyết, huyết khối, rung nhĩ, nhĩ trái giãn, chênh áp qua van cơ học, sử dụng thuốc phối hợp như: beta-bloker, aspirin, clodopigrel, ACE, statin. Trong mô hình này, kết quả phân tích cho thấy chỉ một số yếu tố như tuổi, BMI, nhĩ trái giãn và các

đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* ảnh hưởng đến biến liều thuốc chống đông ($p<0,05$). Trong đó, đa hình gen *VKORC1-1639G>A* ảnh hưởng nhiều nhất tới biến liều thuốc chống đông ($p<0,001$). Điều đặc biệt, trong thuật toán T-test chỉ số nhĩ trái giãn trên siêu âm có ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol ở mức tiệm cận ($p=0,054$), thì trong mô hình đa biến yếu tố này lại ảnh hưởng rõ rệt đến liều thuốc với mức ý nghĩa thống kê ($p<0,05$).

Mô hình hồi quy đa biến các chỉ số nhân trắc và di truyền ảnh hưởng đến liều thuốc acenocoumarol: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trong mô hình hồi quy đa biến xác định sự ảnh hưởng của các chỉ số nhân trắc (tuổi, BMI) và các yếu tố di truyền (đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* và *CYP2C9*3*) lên liều thuốc acenocoumarol cho thấy sự tác động cộng gộp của các yếu tố này ảnh hưởng đến 36,9% biến liều thuốc. Nếu có thêm yếu tố nhĩ trái giãn trên siêu âm thì các chỉ số này ảnh hưởng đến 40,5% biến liều acenocoumarol. Kết quả của chúng tôi khá tương đồng với nghiên cứu của Abdelhak Elkhazraji trên dân số Maroc năm 2018 với các thông số di truyền (đa hình gen *CYP2C9*, *VKORC1*) và tuổi, kết quả giải thích được 38,9% biến liều thuốc [64]. Kết quả của chúng tôi cao hơn nghiên cứu của một số tác giả như Dhakchinamoorthi K và cộng sự trên dân số Ấn Độ năm 2013 với các thông số là đa hình gen *CYP2C9*, *VKORC1*, tuổi và BMI giải thích được 30,4% biến liều thuốc [92]. Tuy nhiên kết quả của chúng tôi thấp hơn một số nghiên cứu của một số tác giả khác khi phối hợp nhiều thông số di truyền (*CYP2C9*, *VKORC1*, *CYP4F2*, *GGCX*) và lâm sàng (tuổi, giới, BMI, BSA, CM) như của tác giả Markatos và cộng sự năm 2008 trên dân tộc Greece giải thích được 55% biến liều thuốc ($R^2= 55\%$) [23], hay của tác giả Van Schie R năm 2011 trên dân tộc Hà Lan giải thích được 53% biến liều thuốc ($R^2= 53\%$) [130]. Tuy vậy thông số R^2 của mô hình hồi quy đa biến bị ảnh hưởng bởi tính chất và số lượng biến độc lập.

Bảng 4.4. Ảnh hưởng của các yếu tố lâm sàng và di truyền lên liều thuốc chống đông kháng vitamin K ở một số quốc gia trên thế giới.

Nghiên cứu	Quốc gia	Thông số di truyền	Thông số lâm sàng	R ² (%)
Cerezo-Manchado J (2013) [136]	Tây Ban Nha	<i>CYP2C9</i> , <i>VKORC1</i> , <i>CYP4F2</i>	Tuổi, BSA, giới tính	50
Dhakchinamoorthi K (2013) [92]	Ấn Độ	<i>CYP2C9</i> <i>VKORC1</i>	Tuổi, BMI	30,4
Rathore SS (2012) [53]	Ấn Độ	<i>CYP2C9</i> , <i>VKORC1</i> , <i>CYP4F2</i> , <i>GGCX</i>	Tuổi, cân nặng, chiều cao, BSA, giới tính	41
Borobia A (2012) [137]	Tây Ban Nha	<i>CYP2C9</i> , <i>VKORC1</i> , <i>CYP4F2</i> , <i>APOE</i>	Tuổi, BMI,	61
Markatos C (2008) [23]	Hy Lạp	<i>CYP2C9</i> <i>VKORC1</i>	Tuổi, giới	55
Van Schie R (2011) [130]	Hà Lan	<i>CYP2C9</i> <i>VKORC1</i>	Tuổi, chiều cao, cân nặng, giới	53
Abdelhak Elkhazraji (2018) [64]	Maroc	<i>CYP2C9</i> <i>VKORC1</i>	Tuổi	35,9
Angela Roco (2020) [138]	Chile	<i>CYP2C9</i> <i>VKORC1</i>	Tuổi, giới, BMI, INR ban đầu	50,0

Không chỉ dừng lại ở việc xác định sự ảnh hưởng của các đa hình gen *CYP2C9*, *VKORC1* cùng với một số yếu tố lâm sàng đến liều thuốc acenocoumarol, nhiều nghiên cứu trên thế giới đã đưa ra các thuật toán giúp dự đoán liều điều trị acenocoumarol dựa trên các thông số về lâm sàng và di truyền. Thuật toán đầu tiên được công bố là của tác giả Markatos năm 2008 [23], tiếp theo là van Schie năm 2011 [130], Rathore năm 2012 [53], Borobia năm 2012 [137], Cerezo-Manchado năm 2013 [136], Krishna Kumar năm 2013 [92], Pop năm 2013 [93], Wolkanin-Bartnik năm 2013 [139], EnriqueJinérez-varo vào năm 2014 [140], Hội Y. Tong được xuất bản năm 2016 [141].

Dựa trên các thông tin lâm sàng và di truyền thu thập được ở quần thể nghiên cứu chúng tôi đã tiến hành xây dựng thuật toán hồi quy tuyến tính đa biến để dự đoán liều thuốc acenocoumarol hàng tuần cho bệnh nhân sau thay van tim cơ học như sau:

Mô hình 1: $\text{Log (Liều thuốc mg/tuần)} = 1,315 - 0,138 (VKORC1-1639G>A) - 0,051 (VKORC1 1173C>T) - 0,091 (CYP2C9*3) - 0,003 (\text{Tuổi}) + 0,011 (\text{BMI})$.

Mô hình 2: $\text{Log (Liều thuốc mg/tuần)} = 1,431 - 0,136 (VKORC1-1639G>A) - 0,062 (VKORC1 1173C>T) - 0,124 (CYP2C9*3) - 0,003 (\text{Tuổi}) + 0,009 (\text{BMI}) - 0,053 (\text{Nếu nhĩ trái giãn})$.

Trong đó:

Đối với đa hình gen *VKORC1-1639G>A*, kiểu gen GG nhận giá trị 1, kiểu gen GA nhận giá trị 2 và kiểu gen AA nhận giá trị 3. Đối với đa hình gen *VKORC1 1173C>T*, kiểu gen CC nhận giá trị 1, kiểu gen CT nhận giá trị 2 và kiểu gen TT nhận giá trị 3. Đối với đa hình gen *CYP2C9*3*, kiểu gen *1*1 nhận giá trị 1 và kiểu gen *1*3 nhận giá trị 2. Tuổi (năm). BMI (kg/m²)

Hiện nay nhiều thuật toán được xây dựng ở nhiều quốc gia nhằm xác định liều thuốc chống đông cho từng cá thể người bệnh dựa trên các thông tin di truyền và lâm sàng. Tác giả Elkhazraji đã xây dựng công thức tính liều acenocoumarol dựa trên các thông tin di truyền và lâm sàng như sau [64]:

$$\text{Log (WD)} = 1.925 - 0.108 \times (\text{VKORC11639 } G>A) - 0.073 \times (\text{VKORC11173 } C>T) - 0.093 \times (\text{kiểu gen } CYP2C9) - 0.003 \times (\text{tuổi})$$

Giá trị 1 với GG; 2 với GA và 3 với AA của đa hình gen *VKORC1(-1639 G>A)*. Giá trị 1 với CC; 2 với CT và 3 với TT của đa hình gen *VKORC1(1173C>T)*. Giá trị 1 với *1/*1; 2 với *1/*2 hoặc *1/*3 và 3 với *2/*2 hoặc *2/*3 của đa hình gen *CYP2C9*. Tuổi theo năm.

Tác giả Tudor Radu Pop năm 2013 đã đưa ra thuật toán xác định liều thuốc acenocoumarol dựa trên các thông tin di truyền là gen *CYP2C9*3*, *VKORC1 1639G>A* và lâm sàng là tuổi, chỉ số BMI. Với các thông số trên đã giải thích được 35% biến liều thuốc acenocoumarol. Cụ thể công thức được xây dựng như sau [93]:

$$\text{Log (Liều thuốc)} = 1.402 - [0.005 \times \text{Tuổi (năm)}] + (0.009 \times \text{BMI}) - (0.094 \text{ nếu } CYP2C9*2) - (0.099 \text{ nếu } CYP2C9*3) - (0.135 \text{ nếu } VKORC1-1639GA) - (0.285 \text{ nếu } VKORC1-1639 AA).$$

Nghiên cứu của tác giả Hoi Y. Tong và cộng sự năm 2016 đã xây dựng thuật toán xác định liều acenocoumarol trên bệnh nhân như sau [141]:

$$\text{Log (Liều thuốc mg/tuần)} = 3.181 - 0.010 \times \text{tuổi (năm)} + 0.005 \times \text{cân nặng (kg)} + 0.070 \text{ (nếu dùng enzym)} - 0.337 \text{ (nếu đang dùng amiodarone)} - 0.111 \text{ (} CYP2C9*1/*2) - 0.323 \text{ (} CYP2C9*1/*3) - 0.691 \text{ (} CYP2C9*3/*3) - 0.302 \text{ (} VKORC1 A/G) - 0.727 \text{ (} VKORC1 A/A) + 0.214 \text{ (} CYP4F2 MM) + 0.086 \text{ (INR trong dải 2.5–3.5)}.$$

Mỗi chủng tộc khác nhau có sự xuất hiện của các biến thể di truyền gen *CYP2C9* và *VKORC1* với tần số khác nhau cũng như mức độ ảnh hưởng của các đa hình gen này cùng với các thông số lâm sàng chủ yếu là tuổi và chỉ số BMI của bệnh nhân lên liều thuốc chống đông kháng vitamin K là khác nhau. Chính vì vậy mỗi chủng tộc cần xây dựng cho mình một thuật toán riêng giúp xác định liều điều trị phù hợp với từng bệnh nhân nhằm đạt hiệu quả chống đông đồng thời hạn chế các biến chứng..

Tại các nước Châu Âu, warfarin là thuốc chống đông kháng vitamin K được sử dụng chủ yếu, chính vì vậy tại những nước này các nghiên cứu cũng như các thuật toán được xây dựng đa số là dự đoán liều warfarin. Năm 2007, lần đầu tiên Cục quản lý thực phẩm và dược phẩm Hoa Kỳ FDA (Food and Drug Administration) đã sửa đổi nhãn sản phẩm của mình để đưa thông tin về dược động học của warfarin, mô tả nguy cơ chảy máu cũng như giảm liều phần trăm quan sát thấy ở bệnh nhân có nguồn gốc châu Âu liên quan đến SNPs *CYP2C9* và *VKORC1* [142], [143]. Năm 2011, hướng dẫn của Hiệp hội dược động học lâm sàng CPIC (Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium) đã tinh chỉnh các khuyến nghị về liều warfarin dựa trên số lượng các biến thể di truyền gen *CYP2C9* và *VKORC1* có ở một bệnh nhân [144], [145]. Những thay đổi này được kích hoạt bằng cách phát triển bằng chứng từ các nghiên cứu quan sát lớn, hỗ trợ sự phát triển của các thuật toán sử dụng các yếu tố di truyền và lâm sàng để dự đoán liều chống đông kháng vitamin K điều trị. Từ đầu những năm 2000, gần 105 thuật toán đã được xuất bản [142], [146]. Tuy nhiên thuật toán được xây dựng bởi Gage và Hiệp hội dược phẩm quốc tế Warfarin IWPC (International Warfarin Pharmacogenetic Consortium) được sử dụng rộng rãi nhất [147], [148]. Phần lớn các nghiên cứu này đã được thực hiện ở những bệnh nhân có nguồn gốc châu Âu hoặc châu Á, chỉ có một số ít nghiên cứu đánh giá các chủng tộc hoặc sắc tộc gốc Phi [149], [150].

KẾT LUẬN

1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và tính đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* ở bệnh nhân thay van tim cơ học.

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là 50,84 năm, tỷ lệ nữ/nam là 1,43/1 và chỉ số BMI trung bình là 21,39 kg/m².

Có 228/284 bệnh nhân có tiền sử xuất huyết chiếm 80,3% và 11/284 bệnh nhân bị huyết khối tắc mạch hoặc kẹt van tim chiếm 3,9%.

Có 184/272 bệnh nhân rung nhĩ chiếm 67,6%, 130/187 bệnh nhân giãn nhĩ trái sau thay van tim chiếm 69,52%.

Tần số alen biến dị *CYP2C9*3* là 0,025, kiểu gen dị hợp **1*3* chiếm 4,9% (14/284 bệnh nhân).

Tần số alen biến dị *VKORC1-1639G>A* là 0,863, kiểu gen đồng hợp biến dị chiếm 73,6% (209/284 bệnh nhân), dị hợp là 25,4% (72/284 bệnh nhân).

Tần số alen biến dị *VKORC1 1173C>T* là 0,891, kiểu gen đồng hợp biến dị chiếm 80,3% (228/284 bệnh nhân), dị hợp chiếm 17,6% (50/284 bệnh nhân)

2. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A*, *1173C>T* với liều thuốc acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học.

Tuổi, BMI và tác động cộng gộp của hai yếu tố này ảnh hưởng đến 4,9%, 3,8% và 10,1% biến liều thuốc acenocoumarol ($p < 0,05$).

Có mối liên quan giữa vị trí thay van tim, thuốc dùng phối hợp (beta-bloker) và nhĩ trái giãn với liều thuốc acenocoumarol ($p < 0,05$).

Kiểu gen đồng hợp biến dị của *VKORC1-1639G>A* có yêu cầu liều chống đông giảm 59,7% và 34% so với kiểu gen đại và dị hợp. Kiểu gen dị hợp có yêu cầu liều giảm 39% so với kiểu gen đại.

Kiểu gen đồng hợp biến dị của *VKORC1*1173C>T có yêu cầu liều chống đông giảm 49,4% và 35% so với kiểu gen dại và dị hợp. Kiểu gen dị hợp có yêu cầu liều giảm 22,1% so với kiểu gen dại.

Đa hình đơn nucleotid *VKORC1*-1639G>A, *VKORC1* 1173C>T và *CYP2C9**3 ảnh hưởng đến 28,9%, 24,8% và 0,7% biến liều thuốc chống đông. Tác động cộng gộp của các SNPs này ảnh hưởng đến 31,5% biến liều thuốc.

Tác động cộng gộp của các yếu tố di truyền *VKORC1*-1639G>A, 1173C>T, *CYP2C9**3, các chỉ số nhân trắc (tuổi, BMI) và nhĩ trái giãn ảnh hưởng đến 40,5% biến liều thuốc acenocoumarol.

KIẾN NGHỊ

1. Cần thực hiện các xét nghiệm di truyền xác định đa hình gen *CYP2C9*3*, *VKORC1-1639G>A* và *VKORC1 1173C>T* để ước tính liều điều trị cho bệnh nhân sử dụng acenocoumarol đặc biệt ở những bệnh nhân bắt đầu dùng thuốc.

2. Cần có một nghiên cứu trên cỡ mẫu lớn hơn, nghiên cứu tiến cứu để đánh giá hiệu quả của thuật toán dự đoán liều acenocoumarol khi áp dụng vào thực tế điều trị.

**DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Phạm Thị Thùy, Vũ Thị Thơm, Đỗ Thị Lệ Hằng, Phạm Thị Hồng Nhung, Phạm Trung Kiên, Tạ Thành Văn (2018). Tính đa hình gen VKORC1 và mối liên quan với liều thuốc Acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học. *Tạp chí Y học Việt Nam*. Tập 469, trang 45-50.
2. Thuy Thi PHAM, Hang Thi Le DO, Pham Thi Hong NHUNG, Van Thanh TA, Long Doan DINH, Kien Trung PHAM, Thom Thi VU (2019). VKORC1 and CYP2C9*3 polymorphisms and their impacts to acenocoumarol dosage in Vietnamese heart valve replacement patients. *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)*, 16(3), 207-215
3. Phạm Thị Thùy, Vũ Thị Thơm, Đỗ Thị Lệ Hằng, Phạm Thị Hồng Nhung, Phạm Trung Kiên, Tạ Thành Văn (2019). Ảnh hưởng của một số yếu tố lâm sàng và di truyền lên liều thuốc Acenocoumarol ở bệnh nhân thay van tim cơ học. *Tạp chí nghiên cứu Y học*. Tập 117, số 1, trang 136-142.
4. Thuy Thi PHAM, Kien Trung PHAM, Van Thanh TA, Pham Thi Hong NHUNG, Dinh Doan Long, Le Ngoc Thanh, Nguyen Thi Thu Hoai, Bui The Hung, Thom Thi VU (2020). Prediction Of Acenocoumarol Dose From CYP2C9, VKORC1 Gene Variants And Patient Characteristics In Vietnamese Heart Valve Replacement Patients. *Journal of Cardiovascular Disease Research*, 11 (2), 149-154.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Gudarzi M, Zamanian H, and Oveisi A (2013). A Steady Flow Analysis of Blood Flow Properties through Some Defective Bileaflet Mechanical Heart Valves. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, 3, 898–903.
2. Pibarot P and Dumesnil J.G (2009). Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management. *Circulation*, 119(7), 1034–1048.
3. Dangas G.D, Weitz J.I, Giustino G et al (2016). Prosthetic Heart Valve Thrombosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(24), 2670–2689.
4. Government Medical College, Jammu and Ahmed Mir I (2016). Role Of Acenocoumarol In Prosthetic Heart Valves. *Journal of International Medicine and Dentistry*, 2(3), 180–185.
5. Bonou M, Lampropoulos K, and Barbetseas J (2012). Prosthetic heart valve obstruction: thrombolysis or surgical treatment?. *European heart journal acute cardiovascular care*, 1(2), 122–127.
6. Kalpana S.R, Bharath G, Manjunath C.N et al (2016). Influence of VKORC1 and CYP2C9 Polymorphisms on Daily Acenocoumarol Dose Requirement in South Indian Patients With Mechanical Heart Valves. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 1-7.
7. Trailokya A, Hiremath J.S, Sawhney J et al (2016). Acenocoumarol: A Review of Anticoagulant Efficacy and Safety. *Journal of The Association of Physicians of India*, 64(2), 88–93.

8. Rathore S.S, Agarwal S.K, Pande S et al (2012). Therapeutic Dosing of Acenocoumarol: Proposal of a Population Specific Pharmacogenetic Dosing Algorithm and Its Validation in North Indians. *Plos One*, 7(5).
9. Ajmi M, Omezzine A, Achour S et al (2018). Influence of genetic and non-genetic factors on acenocoumarol maintenance dose requirement in a Tunisian population. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 74(6), 711–722.
10. Leiria T.L.L, Lopes R.D, Williams J.B et al (2011). Antithrombotic therapies in patients with prosthetic heart valves: guidelines translated for the clinician. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 31(4), 514–522.
11. Duconge J, Cadilla C.L, Windemuth A et al (2009). Prevalence of combinatorial CYP2C9 and VKORC1 genotypes in Puerto Ricans: implications for warfarin management in Hispanics. *Ethnicity & disease*, 19(4), 390.
12. Verhoef T.I, Redekop W.K, Buikema M.M et al (2012). Long-term anticoagulant effects of the CYP2C9 and VKORC1 genotypes in acenocoumarol users: Long-term pharmacogenetic effects of acenocoumarol. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 10(4), 606–614.
13. Nishimura R.A, Otto C.M, Bonow R.O et al (2014). 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, 63(22), e57–e185.
14. Nishimura R.A, Otto C.M, Bonow R.O et al (2017). 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 135(25).

15. Sanderson S, Emery J, and Higgins J (2005). CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: A HuGenet™ systematic review and meta-analysis. *Genetics Medicine*, 7(2), 97–104.
16. Sehgal T, Hira J.K, Ahluwalia J et al (2015). High prevalence of VKORC1*3 (G9041A) genetic polymorphism in north Indians: A study on patients with cardiac disorders on acenocoumarol. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 9(6), 404–410.
17. Benavides F, Grossman N, Poggi H et al (2015). Efecto de las variantes de VKORC1 y CYP2C9 sobre la dosis de anticoagulantes orales en individuos chilenos. *Revista médica de Chile*, 143(11), 1369–1376.
18. Danese E, Raimondi S, Montagnana M et al (2019). Effect of *CYP4F2*, *VKORC1*, and *CYP2C9* in Influencing Coumarin Dose: A Single-Patient Data Meta-Analysis in More Than 15,000 Individuals. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 105(6), 1477–1491.
19. Rieder M.J, Reiner A.P, Gage B.F et al (2005). Effect of VKORC1 Haplotypes on Transcriptional Regulation and Warfarin Dose. *New England Journal of Medicine*, 352(22), 2285–2293.
20. Schwarz U.I, Ritchie M.D, Bradford Y et al (2008). Genetic Determinants of Response to Warfarin during Initial Anticoagulation. *The New England Journal of Medicine*, 358(10), 999–1008.
21. Kaur A, Khan F, Agrawal S.S et al (2013). Cytochrome P450 (CYP2C9*2,*3) & vitamin-K epoxide reductase complex (VKORC1 - 1639G<A) gene polymorphisms & their effect on acenocoumarol dose in patients with mechanical heart valve replacement. *Indian Journal of Medical Research*, 137(1), 203–209.

22. Buzoianu A.D, Militaru F.C, Vesa S.C et al (2013). The impact of the CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms on acenocoumarol dose requirements in a Romanian population. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 50(3), 166–170.
23. Markatos C.N, Grouzi E, Politou M et al (2008). VKORC1 and CYP2C9 allelic variants influence acenocoumarol dose requirements in Greek patients. *Pharmacogenomics*, 9(11), 1631–1638.
24. Hoàng Văn Cúc, Nguyễn Văn Huy (2006). *Giải phẫu người*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 210-221.
25. Nguyễn Lâm Việt (2003). *Thực hành bệnh tim mạch*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 231-287.
26. Dhanya P.S, Nidheesh C, Kuriakose K.M et al (2011). Pattern of oral anticoagulant use following prosthetic heart valve replacement: a prospective observational study. *Indian Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 27(3), 119.
27. Đoàn Quốc Hưng, Nguyễn Duy Thắng (2012). Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả phẫu thuật thay van hai lá cơ học tại bệnh viện Hữu Nghị Việt Đức. *Tạp chí nghiên cứu y học*, 80(3), 58–66.
28. Vahanian A, Iung B, Himbert D et al (2011). Changing demographics of valvular heart disease and impact on surgical and transcatheter valve therapies. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 27(8), 1115–1122.
29. Maganti K, Rigolin V.H, Sarano M.E et al (2010). Valvular heart disease: diagnosis and management. *Mayo Clinic Proceedings*, 85(5), 483–500.

30. Esteves A.F, Brito D, Rigueira J et al (2018). Profiles of hospitalized patients with valvular heart disease: Experience of a tertiary center. *Revista Portuguesa de Cardiologia*, 37(12), 991–998.
31. De Souza J.A, Martinez E.E, Ambrose J.A et al (2001). Percutaneous balloon mitral valvuloplasty in comparison with open mitral valve commissurotomy for mitral stenosis during pregnancy. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(3), 900–903.
32. Puvimanasinghe J.P.A, Steyerberg E.W, Takkenberg J.J.M et al (2001). Prognosis After Aortic Valve Replacement With a Bioprosthesis. *Circulation*, 103(11), 1535–1541.
33. Hammermeister K, Sethi G.K, Henderson W.G et al (2000). Outcomes 15 years after valve replacement with a mechanical versus a bioprosthetic valve: final report of the Veterans Affairs randomized trial. *Journal of the American College of Cardiology*, 36(4), 1152–1158.
34. Phạm Quang Vinh, Nguyễn Hà Thanh (2017). *Bài giảng sau đại học huyết học - truyền máu*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 81-89.
35. Đỗ Trung Phần (2006). *Bài giảng huyết học - truyền máu*. Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 247-255.
36. Bhattacharjee P and Bhattacharyya D (2014). An Insight into the Abnormal Fibrin Clots — Its Pathophysiological Roles. *Fibrinolysis and Thrombolysis*, 1-28.
37. Roudaut R, Serri K, and Lafitte S (2007). Thrombosis of prosthetic heart valves: diagnosis and therapeutic considerations. *Heart*, 93(1), 137–142.
38. Vahanian A, Baumgartner H, Bax J et al (2007). Guidelines on the management of valvular heart disease: The Task Force on the

Management of Valvular Heart Disease of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal*, 28(2), 230–268.

39. Bonou M, Lampropoulos K, and Barbetseas J (2012). Prosthetic heart valve obstruction: thrombolysis or surgical treatment?. *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care*, 1(2), 122–127.
40. Torella M, Torella D, Nappi G et al (2014). Oral Anticoagulation after Mechanical Heart Valve Replacement: Low Intensity Regimen can Make the Difference. *Journal of Clinical & Experimental Cardiology*, 1-6.
41. Dangas G.D, Weitz J.I, Giustino G et al (2016). Prosthetic Heart Valve Thrombosis. *Journal of the American College of Cardiology*, 68(24), 2670–2689.
42. Đào Văn Phan (2012). *Dược lý học lâm sàng*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 869-873.
43. Nguyễn Quốc Triệu (2012). *Dược thư quốc gia Việt Nam*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 96-98.
44. PubChem Acenocoumarol.
<<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/54676537>>, accessed: 03/31/2020.
45. Falk V, Holm P.J, Iung B et al (2017). ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *European Heart Journal*, 38, 2739–2791
46. Wypasek E, Mazur P, Bochenek M et al (2016). Factors influencing quality of anticoagulation control and warfarin dosage in patients after aortic valve replacement within the 3 months of follow up. *Journal of Physiology and Pharmacology*, 67(3), 385–393.

47. Rose A.J, Park A, Gillespie C et al (2017). Results of a Regional Effort to Improve Warfarin Management. *Annals of Pharmacotherapy*, 51(5), 373–379.
48. Nguyễn Quốc Kính, Tạ Mạnh Cường (2011). Đánh giá hiệu quả điều trị bằng thuốc chống đông kháng vitamin K ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 2, 44-46.
49. Hồ Thị Thiên Nga (2009). Theo dõi điều trị kháng vitamin K ở bệnh nhân sau mổ thay van tim cơ học tại bệnh viện Việt Đức. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 355(2), 72-76.
50. Hoàng Quốc Toàn, Ngô Vi Hải, Ngô Tuấn Anh và cộng sự (2010). Đánh giá kết quả phẫu thuật thay van tim nhân tạo tại viện TWQĐ 108 - Biến chứng và các yếu tố liên quan tới việc sử dụng thuốc chống đông. *Tạp chí Y học Việt Nam*, 375, 106-116.
51. Lê Ngọc Trọng, Đỗ Kháng Chiến (2014). *Tương tác thuốc và chú ý khi chỉ định*, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội, trang 17-21.
52. Cullell N, Carrera C, Muiño E et al (2020). Genome-Wide Association Study of VKORC1 and CYP2C9 on acenocoumarol dose, stroke recurrence and intracranial haemorrhage in Spain. *Scientific Reports*, 10(1), 2806.
53. Rathore S.S, Agarwal S.K, Pande S et al (2012). Therapeutic Dosing of Acenocoumarol: Proposal of a Population Specific Pharmacogenetic Dosing Algorithm and Its Validation in North Indians. *Plos One*, 7(5), 1-8.
54. Schalekamp T and de Boer A (2010). Pharmacogenetics of oral anticoagulant therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 16(2), 187–203.
55. Cerezo-Manchado J.J, Roldan V, Rosafalco M et al (2014). Effect of VKORC1, CYP2C9 and CYP4F2 genetic variants in early outcomes during acenocoumarol treatment. *Pharmacogenomics*, 15(7), 987–996.

56. Al Ammari M, AlBalwi M, Sultana K et al (2020). The effect of the VKORC1 promoter variant on warfarin responsiveness in the Saudi Warfarin Pharmacogenetic (SWAP) cohort. *Scientific Reports*, 10.
57. Misasi S, Martini G, Paoletti O et al (2016). VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms related to adverse events in case-control cohort of anticoagulated patients. *Medicine (Baltimore)*, 95(52).
58. Shukla T, Reddy S.C, Korrapatti S et al (2013). A novel VKORC1 promoter mutation found causing warfarin resistance, along with –1639G>A promoter mutation—A pilot study on the genetic variation in patients on warfarin therapy in South India. *Biomarkers and Genomic Medicine*, 5(4), 147–156.
59. Wang B, Wang J, Huang S.-Q et al (2009). Genetic Polymorphism of the Human Cytochrome P450 2C9 Gene and Its Clinical Significance. *Current Drug Metabolism*, 781-834
60. Rettie A.E and Jones J.P (2004). Clinical and toxicological relevance of CYP2C9: Drug-Drug Interactions and Pharmacogenetics. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 45(1), 477–494.
61. Spector A.A and Kim H.-Y (2015). Cytochrome P450 epoxygenase pathway of polyunsaturated fatty acid metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1851(4), 356–365.
62. Daly A.K, Rettie A.E, Fowler D.M et al (2018). Pharmacogenomics of CYP2C9: Functional and Clinical Considerations. *Journal of Personalized Medicine*, 8(1), 1-31.
63. Williams P.A, Cosme J, Ward A et al (2003). Crystal structure of human cytochrome P450 2C9 with bound warfarin. *Nature*, 424(6947), 464–468.

64. Elkhazraji A, Bouaiti E.A, Boulahyaoui H et al (2018). Effect of CYP2C9, VKORC1, CYP4F2, and GGCX gene variants and patient characteristics on acenocoumarol maintenance dose: Proposal for a dosing algorithm for Moroccan patients. *Drug Discoveries & Therapeutics*, 12(2), 68-76
65. Cullell N, Carrera C, Muiño E et al (2018). Pharmacogenetic studies with oral anticoagulants. Genome-wide association studies in vitamin K antagonist and direct oral anticoagulants. *Oncotarget*, 9(49), 29238–29258.
66. Gaikwad T, Ghosh K, and Shetty S (2014). VKORC1 and CYP2C9 genotype distribution in Asian countries. *Thrombosis Research*, 134(3), 537–544.
67. Sanderson S, Emery J, and Higgins J (2005). CYP2C9 gene variants, drug dose, and bleeding risk in warfarin-treated patients: A HuGENet™ systematic review and meta-analysis. *Genetics in Medicine*, 7(2), 97–104.
68. Lee S.S, Kim K.-M, Thi-Le H et al (2005). Genetic polymorphism of CYP2C9 in a Vietnamese Kinh population. *Therapeutic Drug Monitoring*, 27(2), 208–210.
69. Yin T and Miyata T (2007). Warfarin dose and the pharmacogenomics of CYP2C9 and VKORC1- rationale and perspectives. *Thrombosis Research*, 120(1), 1–10.
70. J. Kirchheiner, J. Brockmüller (2005). Clinical consequences of cytochrome P450C9 polymorphisms. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 77, 1–16.
71. Kosaki K, Yamagishi C, Sato R et al (2006). 1173C>T Polymorphism in VKORC1 Modulates the Required Warfarin Dose. *Pediatric Cardiology*, 27(6), 685–688.

72. Saab Y.B and Langaee T (2011). Genetic Polymorphisms of CYP2C9: Comparison of Prevalence in the Lebanese Population with Other Populations. *Pharmacology & Pharmacy*, 02(02), 88.
73. Spreafico M, Lodigiani C, van Leeuwen Y et al (2008). Effects of CYP2C9 and VKORC1 on INR variations and dose requirements during initial phase of anticoagulant therapy. *Pharmacogenomics*, 9(9), 1237–1250.
74. Oldenburg J, Bevans C.G, Müller C.R et al (2006). Vitamin K Epoxide Reductase Complex Subunit 1 (VKORC1): The Key Protein of the Vitamin K Cycle. *Antioxidants & Redox Signaling*, 8(3–4), 347–353.
75. Czogalla K.J, Watzka M, and Oldenburg J (2015). Structural Modeling Insights into Human VKORC1 Phenotypes. *Nutrients*, 7(8), 6837–6851.
76. Liu S, Cheng W, Fowle Grider R et al (2014). Structures of an intramembrane vitamin K epoxide reductase homolog reveal control mechanisms for electron transfer. *Nature Communications*, 5, 3110.
77. Sinhadri B.C.S, Jin D-Y, Stafford D.W et al (2017). Vitamin K epoxide reductase and its paralogous enzyme have different structures and functions. *Scientific Reports*, 7(1), 17632.
78. Tie J.-K and Stafford D.W (2016). Structural and functional insights into enzymes of the vitamin K cycle. *J Thromb Haemost*, 14(2), 236–247.
79. D'Andrea G, D'Ambrosio R.L, Perna P.D et al (2005). A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood*, 105(2), 645–649.
80. Lee M.T.M, Chen C.-H, Chuang H.-P et al (2009). VKORC1 haplotypes in five East-Asian populations and Indians. *Pharmacogenomics*, 10(10), 1609–1616.

81. Qayyum A, Najmi M.H, Mansoor Q et al (2018). Frequency of Common VKORC1 Polymorphisms and Their Impact on Warfarin Dose Requirement in Pakistani Population. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*, 24(2), 323–329.
82. Harikrishnan S, Koshy L, Subramanian R et al (2018). Value of VKORC1 (-1639G>A) rs9923231 genotyping in predicting warfarin dose: A replication study in South Indian population. *Indian Heart Journal*, 70, S110–S115.
83. Veeregowda S.H, Krishnaswamy B, and Balakrishna S (2020). Effect of Vitamin K Epoxide Reductase Complex 1 Polymorphism on Warfarin Dose Requirement among Patients in Tertiary Care Hospital. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 10(2), 97–101.
84. Elkhazraji A (2018). Hypersensitivity to Acenocoumarol Revealing a Homozygous Mutation for VKORC1 - 1639 G > A and VKORC1 1173 C > T and Heterozygous for CYP2C9 * 2 and CYP2C9 * 3. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*, 7(3): 66-72
85. Owen R.P, Gong L, Sagreiya H et al (2010). VKORC1 Pharmacogenomics Summary. *Pharmacogenet Genomics*, 20(10), 642–644.
86. Varnai R, Sipeky C, Nagy L et al (2017). CYP2C9 and VKORC1 in therapeutic dosing and safety of acenocoumarol treatment: implication for clinical practice in Hungary. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 56, 282–289.
87. Yuan H-Y, Chen J-J, Lee M.T.M et al (2005). A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Human Molecular Genetics*, 14(13), 1745–1751.

88. Soltani Banavandi M.J and Satarzadeh N (2020). Association between VKORC1 gene polymorphism and warfarin dose requirement and frequency of VKORC1 gene polymorphism in patients from Kerman province. *The Pharmacogenomics Journal*, 20(4), 574–578.
89. D'Andrea G, D'Ambrosio R.L, Perna P.D et al (2005). A polymorphism in the VKORC1 gene is associated with an interindividual variability in the dose-anticoagulant effect of warfarin. *Blood*, 105(2), 645–649.
90. Yan X, Yang F, Zhou H et al (2015). Effects of VKORC1 Genetic Polymorphisms on Warfarin Maintenance Dose Requirement in a Chinese Han Population. *Medical Science Monitor*, 21, 3577–3584.
91. Ohno M, Yamamoto A, Ono A et al (2009). Influence of clinical and genetic factors on warfarin dose requirements among Japanese patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 65(11), 1097–1103.
92. Krishna Kumar D, Madhan S, Balachander J et al (2013). Effect of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphisms on mean daily maintenance dose of acenocoumarol in South Indian patients. *Thrombosis Research*, 131(4), 363–367.
93. Pop T.R, Vesa Ş.C, Trifa A.P et al (2013). An acenocoumarol dose algorithm based on a South-Eastern European population. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 69(11), 1901–1907.
94. Wattanachai N, Kaewmoongkun S, Pussadhamma B et al (2017). The impact of non-genetic and genetic factors on a stable warfarin dose in Thai patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 73(8), 973–980.
95. Sangviroon A, Panomvana D, Tassaneeyakul W et al (2010). Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Variation Associated with VKORC1 and CYP2C9 Polymorphisms in Thai Patients Taking Warfarin. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 25(6), 531–538.

96. Jia L, Wang Z, Men J et al (2017). Polymorphisms of VKORC1 and CYP2C9 are associated with warfarin sensitivity in Chinese population. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 13, 421–425.
97. SR K, G B, Jain S et al (2019). Prosthetic valve thrombosis – association of genetic polymorphisms of VKORC1, CYP2C9 and CYP4F2 genes. *Medicine (Baltimore)*, 98(6).
98. Li B, Liu R, Wang C et al (2019). Impact of genetic and clinical factors on warfarin therapy in patients early after heart valve replacement surgery. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 75(12), 1685–1693.
99. Van H.D. (2019). Nineteen Years of Single Institute Experiences with Sorin Bicarbon Prosthesis. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 25(4), 192–199.
100. Boukarroucha R, Massikh N, Cherif S et al (2017). Prosthetic Valve Thrombosis: About 205 Patients. *Journal of Cardiovascular Diseases and Diagnosis*, 05(03).
101. Kalcik M (2016). A global perspective on mechanical prosthetic heart valve thrombosis: Diagnostic and therapeutic challenges. *Anatolian Journal of Cardiology*, 16, 980-989.
102. Pathare A, Alkindi S, Zadjali S.A et al (2012). Combined effect of CYP2C9 and VKORC1 polymorphisms on warfarin maintenance dose in Omani patients . *Open Journal of Genetics*, 02(04), 184–189.
103. Nishimura R.A, Otto C.M, Bonow R.O et al (2017). 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 135(25).

104. Phạm Nguyễn Vinh (2008). “Hẹp van hai lá”, *Bệnh học tim mạch, tập II*, Nhà xuất bản Y học, Thành Phố Hồ Chí Minh, 15-26.
105. Pflederer T, Flachskampf FA (2010). “Echocardiographic follow-up after heart valve replacement”. *Heart*, 96, 75-85. .
106. Pibarot P, Dumesnil JG (2009). “Prosthetic heart valves selection of the optimal prosthesis and long-term management”. *Circulation*, 119, 1034-1048. .
107. Alzahrani A.M, Ragia G, Hanieh H et al (2013). Genotyping of CYP2C9 and VKORC1 in the Arabic Population of Al-Ahsa, Saudi Arabia. *BioMed Research Internationa*, 1-6.
108. Mushiroda T, Ohnishi Y, Saito S et al (2006). Association of VKORC1 and CYP2C9 polymorphisms with warfarin dose requirements in Japanese patients. *Journal of Human Genetics*, 51(3), 249–253.
109. Yoon Y.R, Shon J.H, Kim M.K et al (2001). Frequency of cytochrome P450 2C9 mutant alleles in a Korean population. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 51(3), 277–280.
110. Zuo J, Xia D, Jia L et al (2012). Genetic polymorphisms of drug-metabolizing phase I enzymes CYP3A4, CYP2C9, CYP2C19 and CYP2D6 in Han, Uighur, Hui and Mongolian Chinese populations. *Pharmazie*, 67(7), 639–644.
111. Zainuddin Z, Teh L.K, Suhaimi A.W.M et al (2006). Malaysian Indians are genetically similar to Caucasians: CYP2C9 polymorphism. *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 31(2), 187–191.
112. Ye C, Jin H, Zhang R et al (2014). Variability of warfarin dose response associated with CYP2C9 and VKORC1 gene polymorphisms in Chinese patients. *Journal of International Medical Research*, 42(1), 67–76.

113. Yoshizawa M, Hayashi H, Tashiro Y et al (2009). Effect of VKORC1-1639 G>A polymorphism, body weight, age, and serum albumin alterations on warfarin response in Japanese patients. *Thrombosis Research*, 124(2), 161–166.
114. Biss T.T, Avery P.J, Brandão L.R et al (2012). VKORC1 and CYP2C9 genotype and patient characteristics explain a large proportion of the variability in warfarin dose requirement among children. *Blood*, 119(3), 868–873.
115. Scordo M.G, Aklillu E, Yasar U et al (2001). Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a Caucasian and a black African population. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 52(4), 447.
116. Scibona P, Redal M.A, Garfi L.G et al (2012). Prevalence of CYP2C9 and VKORC1 alleles in the Argentine population and implications for prescribing dosages of anticoagulants. *Genetics and Molecular Research*, 11(1), 70–76.
117. Mohamed Hossam A.S, Sherief I. Khalifa, Yan Gong et al (2011). Genetic and nongenetic factors associated with warfarin dose requirements in Egyptian patients. *Pharmacogenet Genomics*, 21(3), 130–135
118. Tamura T, Katsuda N, and Hamajima N (2014). A PCR method for VKORC1 G-1639A and CYP2C9 A1075C genotyping useful to warfarin therapy among Japanese. *SpringerPlus*, 3(1), 499.
119. Miao L, Yang J, Huang C, Shen Z (2007). Contribution of age, body weight, and CYP2C9 and VKORC1 genotype to the anticoagulant response to warfarin: proposal for a new dosing regimen in Chinese patients. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 63, 1135–41.

120. Yuan HY, Chen JJ, Lee MT et al (2005). A novel functional VKORC1 promoter polymorphism is associated with inter-individual and inter-ethnic differences in warfarin sensitivity. *Human Molecular Genetics*, 14, 1745–51.
121. Tang HN, Zhang ZG, Du YK (2007). Polymorphism of VKORC1-1639A/G in healthy people of Han and Uygur population in Xinjiang Uygur autonomous region. *Chinese Journal of Birth Health & Heredity*, 15, 16–18, .
122. Sconce EA, Khan TI, Wynne HA et al (2005). The impact of CYP2C9 and VKORC1 genetic polymorphism and patient characteristics upon warfarin dose requirements: proposal for a new dosing regimen. *Blood*, 106, 2329–33, .
123. Bodin L, Verstuyft C, Tregouet DA et al (2005). Cytochrome P450 2C9 (CYP2C9) and vitamin K epoxide reductase (VKORC1) genotypes as determinants of acenocoumarol sensitivity. *Blood*, 106, 135–40, .
124. Yang J, Huang C, Shen Z, Miao L (2011). Contribution of 1173C>T polymorphism in the VKORC1 gene to warfarin dose requirements in Han Chinese patients receiving anticoagulation. *Int. Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 49, 23–29.
125. Limdi NA, McGwin G, Goldstein JA et al (2008). Influence of CYP2C9 and VKORC1 1173C/T genotype on the risk of hemorrhagic complications in African American and European-American patients on warfarin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 83, 312–21, .
126. De T (2014). Influence of Vitamin K Epoxide Reductase Complex 1 Gene Polymorphisms on Anticoagulation with Acenocoumarol in Patients with Cerebral Venous Thrombosis. *British Journal of Medicine and Medical Research*, 4(4), 1069–1080.

127. Li S, Zou Y, Wang X et al (2015). Warfarin Dosage Response Related Pharmacogenetics in Chinese Population. *Plos one*, 10(1), e0116463.
128. Blaufarb I (1995). Drug Interactions of Clinical Significance. *Drug Safety*, 12.
129. Montes R, Nantes Ó, Alonso Á et al (2008). The influence of polymorphisms of *VKORC1* and *CYP2C9* on major gastrointestinal bleeding risk in anticoagulated patients. *British Journal of Haematology*, 143(5), 727–733.
130. Van Schie R.M.F, Wessels J.A.M, le Cessie S et al (2011). Loading and maintenance dose algorithms for phenprocoumon and acenocoumarol using patient characteristics and pharmacogenetic data. *European Heart Journal*, 32(15), 1909–1917.
131. Esmerian M.O, Mitri Z, Habbal M.-Z et al (2011). Influence of *CYP2C9* and *VKORC1* Polymorphisms on Warfarin and Acenocoumarol in a Sample of Lebanese People. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 51(10), 1418–1428.
132. Cadamuro J, Dieplinger B, Felder T et al (2010). Genetic determinants of acenocoumarol and phenprocoumon maintenance dose requirements. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 66(3), 253–260.
133. Kovac M.K, Maslac A.R, Rakicevic L.B et al (2010). The c.-1639G>A polymorphism of the *VKORC1* gene in Serbian population: retrospective study of the variability in response to oral anticoagulant therapy. *Blood Coagulation & Fibrinolysis*, 21(6), 558–563.
134. Reitsma P.H, van der Heijden J.F, Groot A.P et al (2005). A C1173T dimorphism in the *VKORC1* gene determines coumarin sensitivity and bleeding risk. *Plos Medicine*, 2(10), e312.

135. D'Andrea G, D'Ambrosio R, and Margaglione M (2008). Oral anticoagulants: Pharmacogenetics Relationship between genetic and non-genetic factors. *Blood Reviews*, 22(3), 127–140.
136. Cerezo-Manchado J.J, Rosafalco M, Antón A.I et al (2013). Creating a genotype-based dosing algorithm for acenocoumarol steady dose. *Thrombosis and Haemostasis*, 109(1), 146–153.
137. Borobia A.M, Lubomirov R, Ramírez E et al (2012). An acenocoumarol dosing algorithm using clinical and pharmacogenetic data in Spanish patients with thromboembolic disease. *Plos one*, 7(7), e41360.
138. Roco A, Nieto E, Suárez M et al (2020). A Pharmacogenetically Guided Acenocoumarol Dosing Algorithm for Chilean Patients: A Discovery Cohort Study. *Front Pharmacol*, 11.
139. Wolkanin-Bartnik J, Pogorzelska H, Szperl M et al (2013). Impact of genetic and clinical factors on dose requirements and quality of anticoagulation therapy in Polish patients receiving acenocoumarol: dosing calculation algorithm. *Pharmacogenetics and Genomics*, 23(11), 611–618.
140. Jiménez-Varo E, Cañadas-Garre M, Gutiérrez-Pimentel M.J et al (2014). Prediction of stable acenocoumarol dose by a pharmacogenetic algorithm. *Pharmacogenetics and Genomics*, 24(10), 501–513.
141. Tong H.Y, Dávila-Fajardo C.L, Borobia A.M et al (2016). A New Pharmacogenetic Algorithm to Predict the Most Appropriate Dosage of Acenocoumarol for Stable Anticoagulation in a Mixed Spanish Population. *Plos One*, 11(3).

142. Verhoef T.I, Redekop W.K, Daly A.K et al (2014). Pharmacogenetic-guided dosing of coumarin anticoagulants: algorithms for warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 77(4), 626–641.
143. Shendre A., Dillon C., and Limdi N.A. (2018). Pharmacogenetics of warfarin dosing in patients of African and European ancestry. *Pharmacogenomics*, 19(17), 1357–1371.
144. Johnson J.A, Gong L, Whirl-Carrillo M et al (2011). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guidelines for CYP2C9 and VKORC1 genotypes and warfarin dosing. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 90(4), 625–629.
145. Warfarin product labeling (2011). *Food and Drug Administration*, 1-36
146. Kaye J.B, Schultz L.E, Steiner H.E et al (2017). Warfarin Pharmacogenomics in Diverse Populations. *Pharmacotherapy*, 37(9), 1150–1163.
147. Gage B.F, Eby C, Johnson J.A et al (2008). Use of pharmacogenetic and clinical factors to predict the therapeutic dose of warfarin. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 84(3), 326–331.
148. Klein T.E, Altman R.B et al (2009). Estimation of the warfarin dose with clinical and pharmacogenetic data. *New England Journal of Medicine*, 360(8), 753–764.
149. Minoli A Perera, Larisa H Cavallari, Nita A Limdi et al (2013). Genetic variants associated with warfarin dose in African-American individuals: a genome-wide association study. *The Lancet*, 790-796.
150. Perera M, Gamazon E, Cavallari L et al (2011). The Missing Association: Sequencing-Based Discovery of Novel SNPs in VKORC1 and CYP2C9 That Affect Warfarin Dose in African Americans. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 89(3), 408–415.

Phụ lục 1

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

NGHIÊN CỨU TÍNH ĐA HÌNH GEN CYP2C9, VKORC1 VÀ ĐÁP ỨNG THUỐC CHỐNG ĐÔNG KHÁNG VITAMIN K Ở BỆNH NHÂN THAY VAN TIM CƠ HỌC

BỘ CÂU HỎI PHÒNG VẤN

Mã số phiếu:.....

Nơi tiếp cận bệnh nhân: Bệnh viện Tim Hà Nội.

Họ và tên đối tượng được phỏng vấn:.....

Địa chỉ:.....

Điện thoại:.....

Mã số bệnh án:.....

Thỏa thuận nghiên cứu

Tôi là: Phạm Thị Thùy, nghiên cứu viên của đề tài do trường Đại học Y Hà Nội chủ trì. Hiện nay tôi muốn tìm hiểu về đặc điểm di truyền và mối liên quan với chuyển hóa thuốc chống đông kháng vitamin K ở bệnh nhân sau thay van tim cơ học. Do vậy tôi xin phép được hỏi ý kiến của anh/chị về một số vấn đề liên quan đến sức khỏe của anh/chị.

Sự tham gia của anh/chị trong cuộc khảo sát là hoàn toàn tự nguyện. Chúng tôi đảm bảo rằng những thông tin anh/chị cung cấp sẽ chỉ phục vụ cho mục đích nghiên cứu. Đồng thời những thông tin cá nhân của anh/chị hoàn toàn được giữ bí mật. Cuộc phỏng vấn sẽ kéo dài khoảng 10 phút, anh/chị có

thể từ chối trả lời bất cứ câu hỏi nào mà anh/chị không muốn trong quá trình phỏng vấn.

Sau khi phỏng vấn chúng tôi sẽ tiến hành lấy 2ml máu của anh/chị để phục vụ đề tài nghiên cứu.

Anh/chị có đồng ý tham gia nghiên cứu không?

1-có / 2- không

Chữ ký của người được phỏng vấn:.....

Chữ ký của điều tra viên:.....

I. HÀNH CHÍNH

- | | | |
|---------------|--------------|----------|
| 1. Họ tên BN: | 2. Tuổi: | 3. Giới: |
| 4. Chiều cao: | 5. Cân nặng: | 6. BMI: |
| 7. Huyết áp: | | |

II. TIỀN SỬ:

1. Nguyên nhân thay van tim:

- | | | |
|------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Viêm nội tâm mạc nhiễm khuẩn | <input type="checkbox"/> Có | <input type="checkbox"/> Không |
| Thấp tim | <input type="checkbox"/> Có | <input type="checkbox"/> Không |
| Thoái hóa van | <input type="checkbox"/> Có | <input type="checkbox"/> Không |
| Khác | | |

2. Vị trí thay van:

- | | | |
|-------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Van hai lá | <input type="checkbox"/> Có | <input type="checkbox"/> Không |
| Van động mạch chủ | <input type="checkbox"/> Có | <input type="checkbox"/> Không |
| Van kép | <input type="checkbox"/> Có | <input type="checkbox"/> Không |

3. Thời gian phẫu thuật:

4. Dùng thuốc kháng đông trước phẫu thuật (Loại thuốc và liều thuốc):

5. Thời gian dùng thuốc kháng đông trước phẫu thuật:

6. Cận lâm sàng trước phẫu thuật

a. Sinh hóa máu

Glucose	Ure	Cre
Choles	Tri	HDL-C
LDL-C	ALT	AST
GGT	CK	CKMB
Troponin T		

7. Tiền sử hút thuốc: Có Không

8. Tiền sử uống rượu: Có Không

9. Tiền sử điều trị xuất huyết: Số lần:

Mức độ: Nhẹ Vừa Nặng

Xuất huyết dưới da Có Không

Xuất huyết niêm mạc Có Không

Đi tiểu có máu Có Không

Chảy máu chân răng Có Không

Chảy máu cam Có Không

Vị trí khác

10. Tiền sử điều trị huyết khối: Số lần:

Tắc mạch chi Có Không

Tắc mạch não Có Không

Kẹt van Có Không

Khác:

III. LÂM SÀNG HIỆN TẠI:

1. Triệu chứng xuất huyết:

Mức độ: Nhẹ Vừa Nặng

Xuất huyết dưới da Có Không

Xuất huyết niêm mạc Có Không

Đi tiểu có máu Có Không

Chảy máu chân răng Có Không

Chảy máu cam Có Không

Khác:

2. Triệu chứng huyết khối:

Tắc mạch chi Có Không

Tắc mạch não Có Không

Kẹt van Có Không

Khác:

V. CẬN LÂM SÀNG HIỆN TẠI

1. Sinh hóa máu

Glucose	Ure	Cre
Choles	Tri	HDL-C
LDL-C	ALT	AST
Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻

2. Công thức máu

RBC	WBC	PLT
Hb		MPV
Hct		PCT
		PDW
		P-LCR

3. Đông máu 3 tháng

a. Tháng:

INR:

PT(s):

PT(%):

b. Tháng:

INR:

PT(s):

PT(%):

c. Tháng:

INR:

PT(s):

PT(%):

4. Điện tim:

Rung nhĩ

Có

Không

5. Siêu âm tim

Chênh áp qua van cơ học B

Hẹp nhẹ Hẹp nặng

Tổn thương van khác Có

Không

Tăng áp ĐMP Có

Không

VI. ĐIỀU TRỊ:

1. Liều thuốc chống đông (mg/tuần):

2. Dùng thuốc khác kèm theo:

Digoxin	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
Amiodarone	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
Furosemide	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
Khác		

VI. KẾT QUẢ PHÂN TÍCH GEN

1. CYP2C9*3:
2. VKORC1
 - 2.1. 1639G>A:
 - 2.2. 1173C>T:

Hà Nội, Ngày tháng năm 201

Người thu thập

Phạm Thị Thùy

Phụ lục 2

QUY TRÌNH TÁCH DNA TỪ MÁU TOÀN PHẦN THEO KIT E.Z.N.A BLOOD DNA MINI KIT

1. Lắc đều ống máu. Chuyển 250 μ l mẫu vào ống epp 1,5 ml vô trùng.
2. Thêm 25 μ l OB Protease Solution và 250 μ l BL Buffer. Vortex 10 giây
3. Ủ 650C trong 10 phút. Chú ý: sau khi ủ được 5 phút, vortex trong 15s
4. Thêm 260 μ l Ethanol 100%. Vortex trong 20 giây
5. Ly tâm 1000 v/p trong 15s để đảm bảo mẫu không dính trên thành ống
Chú ý: Tất cả các bước ly tâm phải cân và đối trọng các mẫu ly tâm
6. Chèn HiBind DNA Mini Column vào Collection Tube 2 ml
7. Chuyển toàn bộ mẫu vào cột (để pipet ở mức 790 μ l)
8. Ly tâm 14.000 vòng/phút trong 1 phút
9. Bỏ dịch lọc và Collection Tube
10. Lắp HiBind DNA Mini Column vào Collection Tube 2 ml mới
11. Thêm 500 μ l HBC Buffer
12. Ly tâm 14.000 vòng/phút trong 1 phút
13. Bỏ dịch lọc và sử dụng lại Collection Tube
14. Thêm 700 μ l DNA Wash Buffer
15. Ly tâm trong 14.000 vòng/phút trong 1 phút
16. Bỏ dịch lọc và sử dụng lại Collection Tube
17. Lặp lại các bước 14-16 cho bước rửa thứ 2 với DNA Wash Buffer
18. Ly tâm HiBind DNA Mini Column 14.000 v/p trong 2 phút
19. Chuyển HiBind DNA Mini Column vào ống ly tâm 2ml mới
20. Thêm 100 μ l Elution Buffer (đã làm ấm đến 650C). Ủ 650C, 5 phút.
21. Ly tâm tại 14.000 vòng/phút trong 1 phút
22. Thêm 50 μ l Elution Buffer, ủ trong 5 phút ở nhiệt độ phòng

23. Ly tâm tại 14.000 vòng/phút trong 1 phút

24. Thu và bảo quản DNA ở -300C.

*** Kiểm tra chất lượng DNA bằng phương pháp đo quang**

Các mẫu sau khi tách DNA tổng số đều được kiểm tra chất lượng DNA bằng phương pháp đo quang ở bước sóng A260 nm và A280 nm để đánh giá nồng độ DNA và độ tinh sạch của DNA. Phương pháp này sử dụng máy đo quang phổ nồng độ nano, Nano Photometer-implen NP80. Quy trình thao tác chung gồm các bước sau:

Đo Blank: đo với 2 µl môi trường dùng để bảo quản mẫu DNA tổng số.

Đo mẫu DNA: đo với 2 µl mẫu DNA tổng số vừa thu được.

Mỗi mẫu phải đo ít nhất 2 lần và lấy giá trị trung bình để xác định nồng độ DNA của mẫu.

Phụ lục 3

QUY TRÌNH ĐIỆN DI DNA HOẶC SẢN PHẨM PCR

* Cách làm gel agarose 1,5%:

Cân 1,5g agarose hòa tan trong 10ml boric acid EDTA (TBE) (sử dụng lò vi sóng). Sau khi agarose tan hết, để nguội 55- 60°C, đổ vào khuôn gel, tùy thuộc vào số lượng giếng cần cho điện di mà cài lược làm giếng từ 4 -6- 8- 12 răng.

* Cách pha dung dịch TBE 10X (Tris; acid boric; EDTA): Tris 0,89M; acid boric 0,89M; EDTA 0,02M

* Tiến hành kỹ thuật điện di:

Thành phần	Ống chuẩn	Ống bệnh nhân
Dung dịch TLPT chuẩn (Hae III)	10 μ l	-
cDNA	-	9 μ l
Loading buffer 10X	-	1 μ l
Tổng số	10 μ l	10 μ l

- Đưa gel agarose vào máy điện di, cho TBE đến ngập gel.
- Dùng pipet và đầu côn nhỏ hút lần lượt dung dịch ở mỗi ống đưa vào giếng (10 μ l/giếng).
- Máy điện di 80- 100v (Mupid- Nhật Bản), điện di trong khoảng 30 phút.
- Sau điện di, gel được ngâm vào Edithilium bromide 20 phút, rửa qua nước cất và đưa vào soi dưới đèn UV, chụp ảnh

Phụ lục 4

QUY TRÌNH KỸ THUẬT PCR

❖ Thành phần của phản ứng:

Thành phần	Nồng độ hoạt động	Thể tích 1 phản ứng (30 μ l)
DNA	100 ng/ μ l	1,5 μ l
dNTP mix 2 mM	0,2 mM	3,0 μ l
5X HF buffer	1 X	6,0 μ l
Mồi F [10] mM	0,5 μ M	1,5 μ l
Mồi R [10] mM	0,5 μ M	1,5 μ l
Phusion pol 2u/ μ l	0,02 u/ μ l	0,3 μ l
DDW		16,2 μ l

❖ Tổng thể tích của 1 phản ứng: 30 μ l

❖ Chu trình của phản ứng PCR như sau

- + 98⁰C trong 3 phút
 - + 95⁰C trong 10 giây
 - + 63⁰C trong 30 giây
 - + 72⁰C trong 30 giây
 - + 72⁰C trong 2 phút
- } 35 chu kỳ

Phụ lục 5

QUY TRÌNH TINH SẠCH SẢN PHẨM PCR TRÊN GEL AGAROSE

Sử dụng Promega Wizard SV gel clean-up system (Promega, USA)

1. Chuẩn bị dung dịch rửa màng (membrane wash solution). Thêm ethanol 95% vào lọ dung dịch rửa màng. Lượng ethanol cho thêm vào phụ thuộc vào thể tích của lọ dung dịch rửa màng (được quy định sẵn trong mỗi kit).
2. Cắt phần gel agarose có chứa sản phẩm PCR mong muốn (hiển thị dưới đèn chiếu UV). Ước lượng trọng lượng miếng gel.
3. Cho miếng gel vào ống có dung tích 1,5 ml, thêm vào 10 μ l dung dịch bám màng (membrane binding solution) cho mỗi 10 mg trọng lượng miếng gel.
4. Nhẹ nhàng trộn đều hỗn hợp trong ống và ủ ống ở 50-60⁰C trong 10 phút hoặc cho đến khi quan sát thấy miếng gel tan hoàn toàn. Ly tâm ống để toàn bộ DNA tập trung xuống đáy ống.
5. Đặt cột lọc (SV Minicolumn) vào một ống thu thập. Chuyển toàn bộ hỗn hợp gel đã hòa tan vào cột lọc và ủ 1 phút ở nhiệt độ phòng.
6. Ly tâm phức hợp cột lọc-ống thu thập ở tốc độ 14 000 vòng/phút.
7. Gỡ cột lọc ra, đổ bỏ phần dung dịch trong ống thu thập. Sau đó đặt cột lọc lại trong ống thu thập.
8. Thêm vào cột lọc 700 μ l dung dịch giữa màng và ly tâm ở tốc độ 14000 vòng/phút trong 1 phút. Lặp lại bước 7.
9. Thêm vào cột lọc 500 μ l dung dịch rửa màng và ly tâm ở tốc độ 14000 vòng/phút.

10. Chuyển cột lọc sang một ống 1,5 ml mới. Thêm vào cột 50 μ l Nuclease-Free Water. Ủ ở nhiệt độ phòng trong 1 phút, sau đó ly tâm ở tốc độ 14000 vòng/phút, trong 1 phút.

11. Bỏ cột lọc, dung dịch trong ống chứa DNA đích đã được tinh sạch. Tiếp tục thực hiện các kỹ thuật hoặc cất giữ ống ở -20°C

.

Phụ lục 6

QUY TRÌNH GIẢI TRÌNH TỰ GEN TRỰC TIẾP

Giải trình tự gen: Theo qui trình và sử dụng phương pháp BigDye terminator sequencing (Applied Biosystems, Foster city, USA).

Quy trình thực hiện:

1. Cho vào ống dung tích 200 μ l các thành phần sau.

Thành phần	Thể tích (μ l)
DNA đích đã được tinh sạch	2
BigDye Terminator v3.0	2
Mồi xuôi (hoặc mồi ngược) 1 μ M	3,2
BigDye seq. buffer 5X	4
Nước cất	8,8

(Thực hiện 2 ống cho một mẫu: một ống cho mồi xuôi, một ống cho mồi ngược)

2. Chu trình nhiệt: 5 phút đầu tiên ở 98⁰C, tiếp theo sau 15 giây ở 98⁰C, sau đó 10 giây ở 60⁰C, 2 phút ở 60⁰C trong 30 chu kỳ.

3. Sau khi phản ứng kết thúc, tiến hành tinh sạch sản phẩm bằng Wizard PCR Clean-up System (Promega).

4. Tiến hành phân tích trình tự gen bằng hệ thống ABI Prism 310 (Applied Biosystems): Cho vào mỗi giếng 5 μ l DNA và 15 μ l formandehide. Đặt các giếng vào máy giải trình tự và chạy chương trình.