

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN THỊ KIM CÚC

**MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ
MRGPRX2 HUYẾT THANH VÀ MỘT
SỐ CHẤT CHỦ VẬN VỚI MỨC ĐỘ
NẶNG VÀ ĐÁP ỨNG ĐIỀU TRỊ CỦA
BỆNH MÀY ĐAY MẠN TÍNH TỰ PHÁT**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2026

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN THỊ KIM CÚC

**MỐI TƯƠNG QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ
MRGPRX2 HUYẾT THANH VÀ MỘT
SỐ CHẤT CHỦ VẬN VỚI MỨC ĐỘ
NẶNG VÀ ĐÁP ỨNG ĐIỀU TRỊ CỦA
BỆNH MÀY ĐAY MẠN TÍNH TỰ PHÁT**

Ngành: Nội khoa

Chuyên ngành: Da liễu

Mã số: 9720107

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Chủ tịch hội đồng

Người hướng dẫn khoa học

GS. TS. Nguyễn Hữu Sáu

PGS.TS. Phạm Thị Lan

TS. Vũ Nguyệt Minh

HÀ NỘI – 2026

LỜI CẢM ƠN

Hoàn thành luận án và đạt được kết quả như ngày hôm nay, tôi xin gửi lời cảm ơn chân thành tới: Ban giám hiệu, Phòng Đào tạo sau đại học, Bộ môn Da liễu Trường Đại học Y Hà Nội; Ban giám đốc, tập thể nhân viên khoa Điều trị bệnh da nam giới, phòng khám chuyên đề mày đay Bệnh viện Da liễu Trung ương đã luôn tận tình giúp đỡ, tạo điều kiện cho tôi học tập.

Đặc biệt, tôi xin bày tỏ sự kính trọng và lòng biết ơn sâu sắc tới thầy/cô hướng dẫn của tôi là **PGS.TS. Phạm Thị Lan và TS. Vũ Nguyệt Minh**. Hai cô đã tận tâm hướng dẫn, trau dồi cho tôi những kiến thức chuyên môn, những kinh nghiệm lâm sàng, những phương pháp luận quý báu và giúp tôi từng bước hoàn thành luận văn này.

Xin chân thành cảm ơn toàn thể các bác sĩ, đồng nghiệp đã luôn ở bên tôi, động viên, chia sẻ và giúp đỡ tôi trong suốt quá trình học tập.

Xin cảm ơn những người bệnh đã nhiệt tình tham gia nghiên cứu và cho tôi những bài học lâm sàng quý giá.

Cuối cùng, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn và tình yêu thương vô hạn đến gia đình tôi, bố mẹ tôi đã luôn động viên tôi trên con đường học vấn, nghiên cứu khoa học.

Xin trân trọng cảm ơn!

Hà Nội, ngày tháng năm 2026

Học viên

Nguyễn Thị Kim Cúc

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là **Nguyễn Thị Kim Cúc**, nghiên cứu sinh khóa 42, Trường Đại Học Y Hà Nội, chuyên ngành Da Liễu, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của **PGS.TS. Phạm Thị Lan** và **TS. Vũ Nguyệt Minh**.
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, 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 2026

Học viên

Nguyễn Thị Kim Cúc

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

Tên viết tắt	Tên đầy đủ	Tên tiếng việt
AH1	H1 Antihistamine	Thuốc kháng histamin H1
APAAACI	Asia Pacific Association of Allergy, Asthma and Clinical Immunology	Hội châu Á Thái Bình Dương về miễn dịch lâm sàng, hen và dị ứng
ASST	Autologous serum skin test	Thử nghiệm da bằng huyết thanh tự thân
BCAK		Bạch cầu ái kiềm
BCAT		Bạch cầu ái toan
CRP	C reaction protein	Protein phản ứng C
EAACI	European Academy of Allergy and Clinical Immunology	Viện hàn lâm châu Âu về dị ứng và miễn dịch lâm sàng
ELISA	Enzyme-linked immunosorbent assay	Xét nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết enzyme
EPO	Eosinophil Peroxidase	
Euroguiderm	European Dermatology Forum	Diễn đàn Da Liễu châu Âu
FcεRI	The high-affinity IgE receptor	Thụ thể có ái lực cao với IgE
GA ² LEN	Global Allergy And Asthma European Network	Mạng lưới châu Âu về hen và dị ứng toàn cầu
IgE	Immunoglobulin E	
IgG	Immunoglobulin G	
IL	Interleukin	
MBP	Major Basic Protein	
MĐMTTM		Mày đay mạn tính tự miễn
MĐMTTP		Mày đay mạn tính tự phát

Tên viết tắt	Tên đầy đủ	Tên tiếng việt
MRGPRX2	Mas-related G-protein coupled receptor-X2	
NB		Người bệnh
NC	Normal Control	Nhóm chứng
SCF	Stem cell factor	Yếu tố tế bào gốc
sgAH1	Second-generation H1 antihistamines	Thuốc kháng histamin H1 thế hệ 2
SP	Substance P	Chất P
TPO	Thyroid Peroxidase	
UAS7	Urticaria Activity Score over 7 days	Điểm hoạt động sẩn phù trong 7 ngày
UCT	Urticaria Control Test	Điểm kiểm soát sẩn phù

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tổng quan về mày đay mạn tính tự phát	3
1.1.1. Định nghĩa	3
1.1.2. Dịch tễ	3
1.1.3. Diễn biến	3
1.1.4. Cơ chế bệnh sinh	4
1.1.5. Mức độ hoạt động bệnh.....	7
1.1.6. Điều trị.....	8
1.1.7. Điều trị MĐMTTP bằng bilastin	10
1.2. Mas-related G protein-coupled receptors X2	11
1.2.1. Nguồn gốc và lịch sử phát hiện	11
1.2.2. Cấu trúc của MRGPRX2 và các con đường dẫn truyền tín hiệu liên quan.....	13
1.2.3. Chức năng sinh lý và bệnh lý	16
1.2.4. Các yếu tố điều hòa sự biểu hiện của MRGPRX2	16
1.2.5. Các nghiên cứu về MRGPRX2 trong MĐMTTP.....	18
1.3. Chất P	23
1.3.1. Nguồn gốc	23
1.3.2. Vai trò sinh lý và bệnh lý.....	23
1.3.3. Các nghiên cứu về SP trong MĐMTTP	25
1.4. MBP và EPO	29
1.4.1. Nguồn gốc của MBP và EPO	29
1.4.2. Vai trò sinh lý và bệnh lý của MBP và EPO.....	30
1.4.3. Các nghiên cứu về MBP và EPO trong MĐMTTP	31
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	34
2.1. Đối tượng nghiên cứu	34
2.1.1. Đối tượng nghiên cứu của mục tiêu 1	34
2.1.2. Đối tượng nghiên cứu của mục tiêu 2:	35
2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu:	36

2.3. Phương pháp nghiên cứu	36
2.3.1. Thiết kế nghiên cứu	36
2.3.2. Cỡ mẫu và chọn mẫu	36
2.3.3. Biến số và chỉ số nghiên cứu	37
2.3.4. Vật liệu nghiên cứu	40
2.3.5. Quy trình thu thập số liệu	41
2.4. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu	50
2.5. Sai số và cách khắc phục	52
2.6. Vấn đề đạo đức của nghiên cứu	53
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU	55
3.1. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP	55
3.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu ...	55
3.1.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP	57
3.1.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP	60
3.1.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP	64
3.1.5. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với nồng độ các chất chủ vận trong MĐMTTP	68
3.1.6. Mô hình hồi qui logistic các yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng ...	69
3.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	70
3.2.1. Kết quả điều trị MĐMTTP nặng bằng bilastin	70
3.2.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	73
3.2.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	76
3.2.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	79

CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN	83
4.1. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP	83
4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu ...	83
4.1.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP.....	89
4.1.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP	94
4.1.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP.....	98
4.1.5. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với một số chất chủ vận trong bệnh MĐMTTP	104
4.1.6. Mô hình hồi quy logistic các yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng	105
4.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	105
4.2.1. Kết quả điều trị MĐMTTP nặng bằng bilastin.....	105
4.2.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	107
4.2.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng.....	110
4.2.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng	112
4.3. Hạn chế của nghiên cứu.....	114
KẾT LUẬN	116
KIẾN NGHỊ	118
DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1:	Sự khác biệt giữa con đường giáng hạt tế bào mast phụ thuộc và không phụ thuộc IgE.....	5
Bảng 1.2:	Các yếu tố điều hòa MRGPRX2 trên tế bào mast	17
Bảng 2.1:	Các biến số nghiên cứu	37
Bảng 2.2:	Điểm UAS7.....	42
Bảng 2.3:	Điểm UCT.....	49
Bảng 2.4:	Sai số và cách khắc phục	52
Bảng 3.1:	Một số đặc điểm lâm sàng của nhóm MĐMTTP nặng và không nặng.....	55
Bảng 3.2:	Một số đặc điểm cận lâm sàng của nhóm MĐMTTP nặng và không nặng.....	56
Bảng 3.3:	Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng cơ bản trong MĐMTTP	59
Bảng 3.4:	Nồng độ SP huyết thanh trong MĐMTTP theo một số đặc điểm lâm sàng/ cận lâm sàng khác	63
Bảng 3.5:	Nồng độ EPO và MBP huyết thanh trong MĐMTTP theo một số đặc điểm lâm sàng/ cận lâm sàng cơ bản khác	67
Bảng 3.6:	Phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến về yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng	69
Bảng 3.7:	Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng giữa các nhóm đáp ứng với bilastin tại T8 trong nhóm MĐMTTP nặng	72
Bảng 3.8:	Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với điểm UCT theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng.....	80

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1:	Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng, không nặng và nhóm chứng (Kruskal-Wallis test với hậu kiểm Dunn test) 57
Biểu đồ 3.2:	Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với điểm hoạt động bệnh UAS7 trong MĐMTTP58
Biểu đồ 3.3:	Đường cong ROC xác định ngưỡng nồng độ MRGPRX2 phân biệt MĐMTTP nặng và MĐMTTP không nặng58
Biểu đồ 3.4:	Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng, không nặng và nhóm chứng (Kruskal-Wallis test với hậu kiểm Dunn test).....60
Biểu đồ 3.5:	Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với điểm hoạt động bệnh UAS7 trong MĐMTTP60
Biểu đồ 3.6:	Đường cong ROC xác định ngưỡng nồng độ SP huyết thanh phân biệt MĐMTTP nặng và MĐMTTP không nặng61
Biểu đồ 3.7:	Nồng độ SP huyết thanh giữa nam và nữ trong MĐMTTP61
Biểu đồ 3.8:	Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch62
Biểu đồ 3.9:	Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST (+) và ASST (-) (Mann-Whitney U test)62
Biểu đồ 3.10:	Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng, không nặng và nhóm chứng (Kruskal-Wallis test với hậu kiểm Dunn test)....64
Biểu đồ 3.11:	Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với điểm hoạt động bệnh UAS7 trong MĐMTTP65
Biểu đồ 3.12:	Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với số lượng BCAT trong MĐMTTP.....65
Biểu đồ 3.13:	Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP giảm BCAT và không giảm BCAT (Mann-Whitney U test).....66
Biểu đồ 3.14:	Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST (+) và MĐMTTP có ASST (-) (Mann-Whitney U test)66

Biểu đồ 3.15: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 và SP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP và nhóm chứng.....	68
Biểu đồ 3.16: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 và MBP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP và nhóm chứng.....	68
Biểu đồ 3.17: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 và EPO huyết thanh trong nhóm MĐMTTP và nhóm chứng.....	69
Biểu đồ 3.18: Số lượng NB MĐMTTP nặng điều trị bằng bilastin theo các liều và các tuần.....	70
Biểu đồ 3.19: Tỷ lệ đáp ứng với bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần, Friedman test với hậu kiểm Dunn test).....	71
Biểu đồ 3.20: Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ban đầu giữa các nhóm đáp ứng điều trị bằng bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng	73
Biểu đồ 3.21: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với điểm UCT theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng	74
Biểu đồ 3.22: Sự thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng (Wilcoxon signed-rank test)...	75
Biểu đồ 3.23: Nồng độ SP huyết thanh ban đầu giữa các nhóm đáp ứng điều trị bằng bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng.....	76
Biểu đồ 3.24: Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với điểm UCT theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng	77
Biểu đồ 3.25: Sự thay đổi nồng độ SP huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng.....	78
Biểu đồ 3.26: Nồng độ MBP và EPO huyết thanh ban đầu giữa các nhóm đáp ứng điều trị bằng bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng	79
Biểu đồ 3.27: Sự thay đổi nồng độ MBP và EPO huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng (Wilcoxon signed-rank test)...	82

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1:	Các thụ thể trên màng tế bào mast và các chất chủ vận tương ứng trong bệnh MĐMTTP.....	4
Hình 1.2:	Cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP.	7
Hình 1.3:	Nguyên tắc điều trị MĐMTTP.....	8
Hình 1.4:	Các thuốc mới trong điều trị MĐMTTP.	9
Hình 1.5:	Các dấu mốc quan trọng trong lịch sử phát hiện MRGPRX2	11
Hình 1.6:	Cấu trúc của MRGPRX2.	13
Hình 1.7:	Các con đường dẫn truyền tín hiệu qua MRGRPX2.....	14
Hình 1.8:	So sánh con đường truyền tín hiệu giữa MRGPRX2 và FcεRI/IgE.....	15
Hình 1.9:	Tương tác giữa MRGPRX2 và SP tại da khỏe mạnh và da viêm	18
Hình 1.10:	Con đường tổng hợp SP.....	23
Hình 1.11:	Vai trò của SP trong đáp ứng viêm gây tổn thương các cơ quan.....	24
Hình 1.12:	Sự tương tác giữa tế bào mast và hệ thần kinh trong MĐMTTP	25
Hình 1.13:	Cấu trúc của hạt thứ cấp của BCAT.....	29
Hình 1.14:	Cấu trúc phân tử của EPO tiền chất và EPO trưởng thành.	30
Hình 2.1:	Bộ KIT ELISA đo nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO của hãng MyBioSource, Inc., San Diego, CA, Hoa Kỳ	43
Hình 2.2:	Nguyên lý của ELISA sandwich (hình trên) và ELISA cạnh tranh.....	44
Hình 2.3:	Đường cong chuẩn của MRGPRX2	45
Hình 2.4:	Đường cong chuẩn của SP.....	46
Hình 2.5:	Đường cong chuẩn của MBP.....	47
Hình 2.6:	Đường cong chuẩn của EPO	48

ĐẶT VẤN ĐỀ

Mày đay mạn tính tự phát (MĐMTTP) là bệnh lý khá phổ biến, chiếm khoảng 1% dân số và ảnh hưởng nhiều đến chất lượng cuộc sống của người bệnh.¹ Đặc trưng của MĐMTTP là sẩn phù kèm ngứa, hoặc phù mạch, hoặc cả hai, xuất hiện gần như hàng ngày và kéo dài trên 6 tuần mà không xác định được yếu tố khởi phát đặc hiệu. Người bệnh có thể bị một hoặc nhiều đợt MĐMTTP.² Sự đa dạng về biểu hiện lâm sàng xuất phát từ sự phức tạp trong cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP với vai trò trung tâm của tế bào mast. Sự giải hạt của tế bào này dẫn đến giải phóng histamin và các chất trung gian viêm khác gây kích thích thần kinh cảm giác, giãn mạch, thoát huyết tương và hóa ứng động các tế bào khác vào da.³ Do đó, thuốc kháng histamin, cụ thể là thuốc kháng histamin H1 thế hệ 2 (second-generation H1 antihistamines: sgAH1) được xác định là thuốc điều trị nền cho tất cả các bước trong điều trị MĐMTTP và là thuốc chủ đạo của bậc điều trị thứ nhất.^{2,4} Phân tích cộng gộp cho thấy trong MĐMTTP, tỉ lệ đáp ứng với sgAH1 liều chuẩn chỉ là 39% và liều cao (gấp 4 lần) là 60%.⁵ Những người bệnh kháng trị với sgAH1 là đối tượng cho các thử nghiệm lâm sàng về các thuốc mới trong MĐMTTP. Nổi bật trong các sgAH1 là bilastin với nhiều ưu điểm, đặc biệt, một số nghiên cứu đối đầu đã chứng minh bilastin có hiệu quả cao hơn cetirizin, levocetirizin và fexofenadin.⁶⁻⁸

MRGPRX2 (Mas-related G protein-coupled receptor X2) là một thụ thể hoạt hóa trên màng tế bào mast và là một trong các đích nhắm tới của các thử nghiệm lâm sàng về thuốc mới trong điều trị MĐMTTP kháng trị với sgAH1. Sự phát hiện ra MRGPRX2 đã mở ra những hiểu biết mới về sinh bệnh học tế bào mast, đặc biệt là con đường giải hạt không phụ thuộc IgE.⁹ Các chất chủ vận nội sinh của MRGPRX2 trong MĐMTTP đã được chứng minh bao gồm các protein của bạch cầu ái toan (EPO: Eosinophil Peroxidase, MBP: Major Basic Protein) và peptid thần kinh là chất P (SP: Substance P).¹⁰ Một số nghiên cứu trên thể giới cho thấy sự biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast ở da và nồng độ các chất chủ vận của nó (như SP, MBP, EPO) tăng lên trong huyết thanh và hoặc trong da của người bệnh

MĐMTTP và có mối tương quan với mức độ nặng của bệnh.¹⁰⁻¹⁷ Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào xác định mối liên quan giữa nồng độ huyết thanh của MRGPRX2 với SP, MBP, EPO cũng như đáp ứng điều trị bằng sgAH1 (cụ thể là bilastin) trong MĐMTTP.

Tại Việt Nam, cho đến nay chưa có một nghiên cứu nào tìm hiểu về vai trò của MRGPRX2, SP, MBP và EPO trong MĐMTTP nói chung và mối tương quan giữa nồng độ các chất này với mức độ hoạt động bệnh và đáp ứng điều trị nói riêng. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài “*Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và một số chất chủ vận với mức độ nặng và đáp ứng điều trị của bệnh mày đay mạn tính tự phát*” nhằm cung cấp các dữ liệu ban đầu về MĐMTTP trên người Việt Nam.

MỤC TIÊU

1. Xác định mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP.

2. Xác định mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng.

CHƯƠNG 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về mày đay mạn tính tự phát

1.1.1. Định nghĩa

MĐMTTP là tình trạng đặc trưng bởi sự xuất hiện của sẩn phù hoặc phù mạch hoặc cả hai, kéo dài trên 6 tuần mà không xác định được yếu tố khởi phát đặc hiệu. Các triệu chứng của MĐMTTP có thể xảy ra hàng ngày hoặc tái diễn từng đợt.²

Sẩn phù là tổn thương sùng phù có màu hồng tươi hoặc hồng nhạt, kích thước đa dạng, có thể liên kết thành mảng lớn, bờ đa cung, ranh giới rõ với da lành, có thể xuất hiện ở bất kì vị trí nào, tồn tại và mất đi trong vòng 24h mà không để lại dấu vết gì, triệu chứng cơ năng là ngứa ở vùng có tổn thương hoặc sắp có tổn thương.²

Phù mạch là tình trạng sùng phù sâu đột ngột, rõ rệt ở lớp hạ bì và mô dưới da hoặc niêm mạc, có màu đỏ hoặc màu da, triệu chứng cơ năng là nóng rát, căng tức và đôi khi đau thay vì ngứa, thường kéo dài hơn so với sẩn phù (có thể mất tới 72 giờ).²

Người bệnh (NB) bị MĐMTTP có diễn biến bệnh dao động theo từng thời điểm trong ngày và thay đổi từ ngày này sang ngày khác. Phần lớn NB MĐMTTP chỉ có sẩn phù (57%) và đồng thời sẩn phù và phù mạch (37%), chỉ có khoảng 6% NB có phù mạch đơn thuần.¹⁸

MĐMTTP có thể đơn thuần hoặc đồng mắc với mày đay mạn tính cảm ứng. Tỷ lệ đồng mắc dao động từ 10–30%. Thề mày đay mạn tính cảm ứng đồng mắc nhiều nhất là da vẽ nổi, mày đay áp lực chậm.¹

1.1.2. Dịch tễ

MĐMTTP có thể gặp ở cả hai giới với bất kỳ độ tuổi nào. Tuy nhiên, độ tuổi khởi phát hay gặp nhất thường là 30-50 tuổi với tỷ lệ nữ giới chiếm ưu thế.¹

Tỷ lệ hiện mắc của MĐMTTP trên thế giới là 0,5–1%, đặc biệt là các nước châu Á như Trung Quốc, Hàn Quốc, tỷ lệ này lên đến 1,5–3%.¹

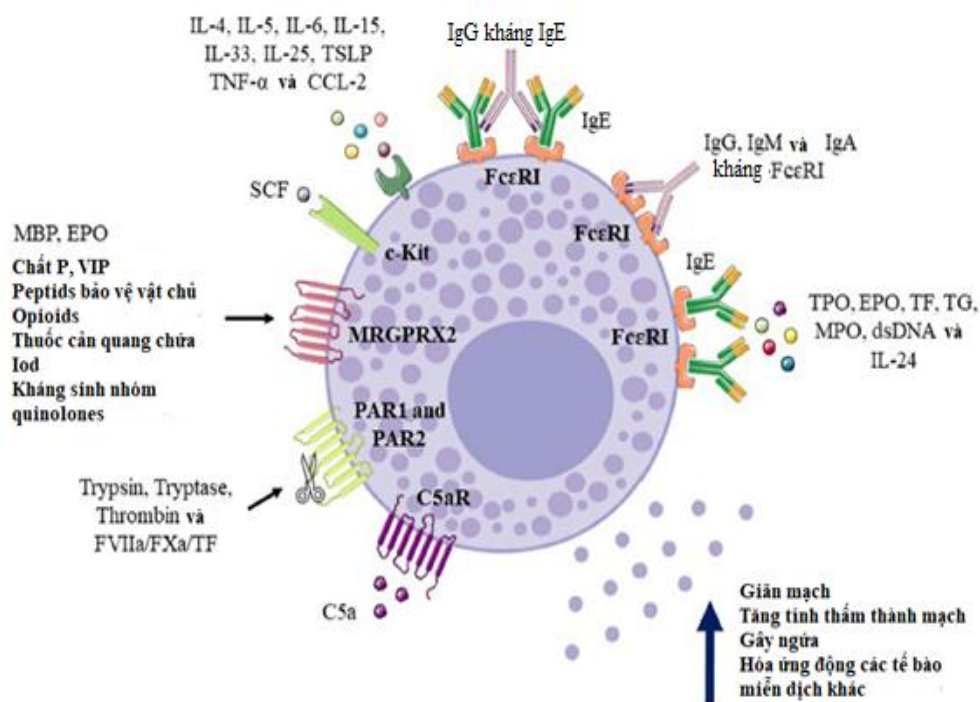
1.1.3. Diễn biến

Hầu hết NB MĐMTTP có thời gian diễn biến bệnh từ 1–4 năm. Tỷ lệ thoái lui tự nhiên tăng dần theo thời gian, tương ứng sau 1 năm, 5 năm và 20 năm là 17%, 45%, 73%. Tuy nhiên, tỷ lệ tái phát có thể lên đến gần 30%.¹⁹

1.1.4. Cơ chế bệnh sinh

Sự đa dạng về biểu hiện lâm sàng với diễn biến bệnh dai dẳng, không thể dự báo trước của MĐMTTP xuất phát từ tính chất phức tạp trong cơ chế bệnh sinh của bệnh. Trong đó, tế bào mast đóng vai trò trung tâm. Sự giải hạt của tế bào này dẫn đến các triệu chứng ở da, kích thích cảm giác thần kinh, giãn mạch, thoát mạch và thu hút bạch cầu ái kiềm (BCAK), bạch cầu ái toan (BCAT) và tế bào lympho T, biểu hiện trên lâm sàng là sẩn phù, ngứa và phù mạch. Tế bào mast giải hạt tại lớp trung bì nông gây nên sẩn phù và tại lớp trung bì sâu và hạ bì gây nên phù mạch.³

Có hai con đường giải hạt tế bào mast: con đường phụ thuộc IgE và con đường không phụ thuộc IgE. Con đường phụ thuộc IgE được khởi phát bằng cách kích hoạt FcεRI (thụ thể có ái lực cao với IgE). Con đường không phụ thuộc IgE được khởi phát thông qua kích hoạt các thụ thể hoạt hóa khác như MRGPRX2, C5aR, Protease-activated receptor 1 và 2 (PAR1, PAR2), thụ thể với chất hóa ứng động và các thụ thể với cytokin (Hình 1.1).⁹



Hình 1.1: Các thụ thể trên màng tế bào mast và các chất chủ vận tương ứng trong bệnh MĐMTTP.⁹

(C5aR: C5a receptor; CCL: C-C motif chemokine ligand; c-Kit: stem-cell factor receptor; dsDNA: double-stranded DNA; EPO, eosinophil peroxidase; FcεRI: high-affinity IgE receptor; FVIIa: activated factor VII; FXa: activated factor X; IL: interleukin; MBP, major basic protein; MRGPRX2: Mas-related G-protein-coupled receptor X2; PAR: protease-activated receptor; SCF: stem-cellfactor; TF: tissue factor; TG: thyroglobulin; TNF: tumor necrosis factor; TPO: thyroid peroxidase; TSLP: thymic stromal lymphopoietin; VIP: vasoactive intestinal peptide)

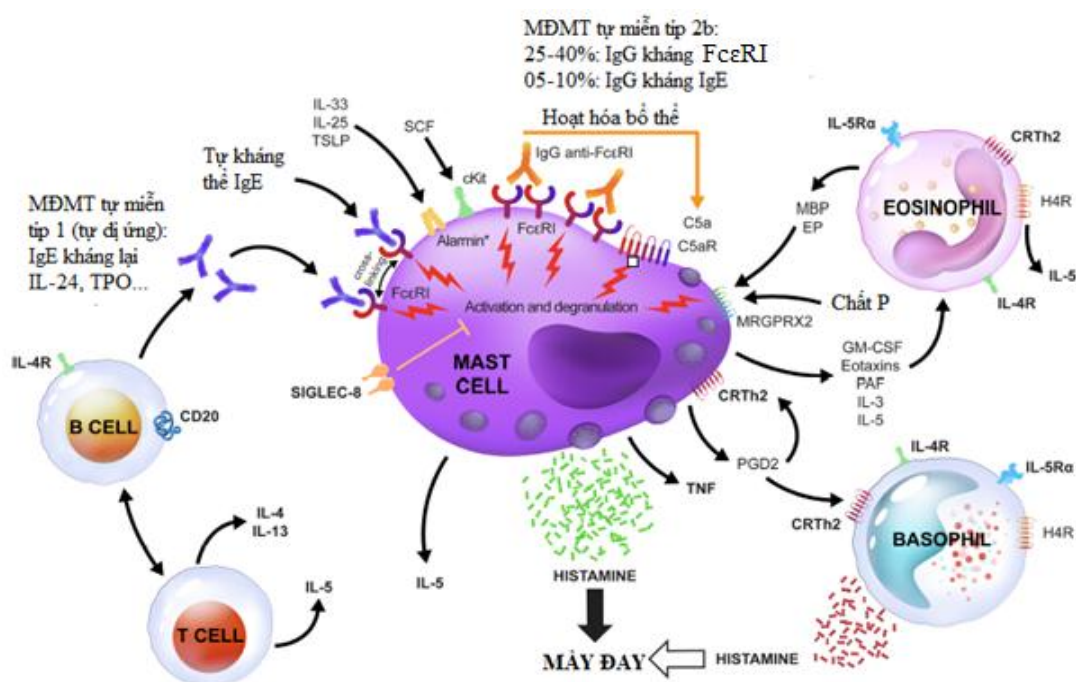
Không chỉ có sự khác biệt về thụ thể hoạt hóa trên màng tế bào, hai con đường giải phóng hạt tế bào mast còn có sự khác biệt về tín hiệu dẫn truyền nội bào, thời gian đáp ứng, số lượng, kích thước và nội dung chất trung gian viêm được giải phóng từ các hạt trong bào tương (Bảng 1.1).²⁰

Bảng 1.1: Sự khác biệt giữa con đường giải phóng hạt tế bào mast phụ thuộc và không phụ thuộc IgE.²⁰

Đặc điểm	Giải hạt phụ thuộc IgE	Giải hạt không phụ thuộc IgE
Thụ thể hoạt hóa	FcεRI	MRGPRX2, C5aR, PAR1, PAR2...
Cách thức hoạt hóa	Kháng nguyên/tự kháng nguyên/tự kháng thể tạo cầu nối giữa 2 phân tử FcεRI.	Chất chủ vận gắn trên các thụ thể hoạt hóa tương ứng.
Tín hiệu dẫn truyền nội bào	Hoạt hóa các protein nội bào như LYN, SYK (spleen tyrosine kinase), BTK (Bruton's tyrosine kinase)	Tùy từng thụ thể hoạt hóa
Thời gian đáp ứng	Chậm, có độ trễ nhưng kéo dài	Nhanh nhưng ngắn
Số lượng hạt	Ít	Nhiều
Kích thước hạt	Lớn, không đồng nhất	Nhỏ, hình cầu đồng nhất
Nội dung hạt	Chất trung gian viêm có sẵn và mới tổng hợp từ lipid như PGD ₂ , PGE ₂ , các cytokin và chemokin	Chất trung gian viêm có sẵn, một lượng nhỏ mới tổng hợp từ lipid và VEGF

Con đường giáng hạt tế bào mast phụ thuộc IgE liên quan đến hai endotype đã được công nhận trong MĐMTTP là mày đay mạn tính tự miễn (MĐMTTM) type 1 và MĐMTTM type 2b. MĐMTTM type 1 (tự dị ứng) với sự có mặt của các tự kháng thể IgE kháng TPO, EPO, TF, TG, IL-24... MĐMTTM type 2b với sự có mặt của các tự kháng thể IgG kháng FcεRI, IgE và một lượng nhỏ tự kháng thể IgA/IgM kháng FcεRI.²¹ NB MĐMTTP có thể có 1 hoặc nhiều endotype đồng thời. Nghiên cứu của Xiang và cs trên hơn 100 NB MĐMTTP cho thấy 50% NB chỉ có MĐMT tự dị ứng, 1% NB chỉ có MĐMTTM type 2b, 7% NB đồng mắc MĐMT tự dị ứng và tự miễn type 2b.²² Có tới 40% NB MĐMTTP nằm trong nhóm hoạt hóa tế bào mast không theo cơ chế miễn dịch (không phụ thuộc IgE).

Ngoài tế bào mast, các tế bào miễn dịch khác, hệ thống đông máu - bổ thể và phản ứng viêm thần kinh cũng có những đóng góp nhất định trong cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP. Các yếu tố này tương tác với tế bào mast và duy trì phản ứng kích hoạt tế bào mast (Hình 1.2).³ BCAT tương tác với tế bào mast bằng ba con đường chính. Thứ nhất, tế bào này bài tiết yếu tố tế bào gốc (SCF: Stem cell factor). Đây là yếu tố quan trọng đối với sự tăng sinh và biệt hóa của tế bào mast ở mô. Thứ hai, các protein trong hạt của BCAT như MBP, EPO gây giáng hạt tế bào mast qua các thụ thể MRGPRX2 hoặc gắn với tự kháng thể IgE tương ứng. Thứ ba, BCAT hoạt hóa tăng biểu lộ yếu tố mô TF (tissue factor), một yếu tố chính gây hoạt hóa con đường đông máu ngoại sinh, từ đó tạo nên các sản phẩm như thrombin, D-dimer và hoạt hóa bổ thể theo con đường thay thế tạo C5a. Các sản phẩm của quá trình đông máu gây giáng hạt tế bào mast thông qua thụ thể PAR1 và 2. C5a gây giáng hạt tế bào mast thông qua C5aR.²³ Tế bào lympho T, đặc biệt là Th2, tham gia vào cơ chế bệnh sinh MĐMTTP bằng cách sản xuất các cytokin viêm như IL-4, IL-5, IL-13, IL-31 và IL-33. Trong đó, IL-4 và IL-13 có tác động biệt hóa dòng lympho B thành tương bào sản xuất IgE.²⁴ Bản thân IL-4 cũng có tác dụng làm tăng biểu hiện của FcεRI trên màng tế bào mast. IL-5 góp phần vào quá trình biệt hóa và hóa ứng động của BCAT. IL-31 là chất gây ngứa độc lập, có tác dụng trong quá trình tăng sinh của tế bào mast, Th2 và BCAT. IL-33 là chất báo động đã được chứng minh có sự gia tăng tại tổn thương da và huyết thanh của NB MĐMTTP, có vai trò điều hòa các con đường giải phóng hạt của tế bào mast.²⁵



Hình 1.2: Cơ chế bệnh sinh của MDMTTP.³

1.1.5. Mức độ hoạt động bệnh

Trong MDMTTP, đa số NB (> 90%) có sản phù nhưng chỉ có khoảng 6% NB có phù mạch đơn thuần nên các nghiên cứu đánh giá điểm hoạt động bệnh và mức độ nặng của bệnh chủ yếu dựa trên điểm UAS7 (Urticaria Activity Score over 7 days).¹⁸ UAS7 phản ánh mức độ hoạt động của sản phù trong 7 ngày liên tục, được tính dựa trên 2 chỉ số là sản phù và ngứa, chia thành 5 cấp độ: không hoạt động (UAS7 = 0), rất nhẹ (UAS7 = 1–6), nhẹ (UAS7 = 7–15), trung bình (UAS7 = 16–27) và nặng (UAS7 = 28–42).^{26,27} Tuy nhiên, để phân nhóm đơn giản hơn, một số nghiên cứu chỉ chia UAS7 thành 2 nhóm là không nặng (UAS7 ≤ 27) và nặng (UAS7 ≥ 28).^{11,12} Điểm hạn chế của thang điểm này là NB cần được tập huấn và phải ghi nhật ký hàng ngày trong 7 ngày liên tục. Như vậy, ngay trong lần thăm khám đầu tiên, các bác sĩ chưa có dữ liệu chính xác để đánh giá mức độ hoạt động của bệnh. Do đó, các nghiên cứu luôn cố gắng tìm kiếm các chỉ số khách quan có thể thay thế UAS7 giúp các bác sĩ lâm sàng dễ dàng xác định mức độ hoạt động của MDMTTP ngay trong lần đầu tiếp cận NB.

1.1.6. Điều trị

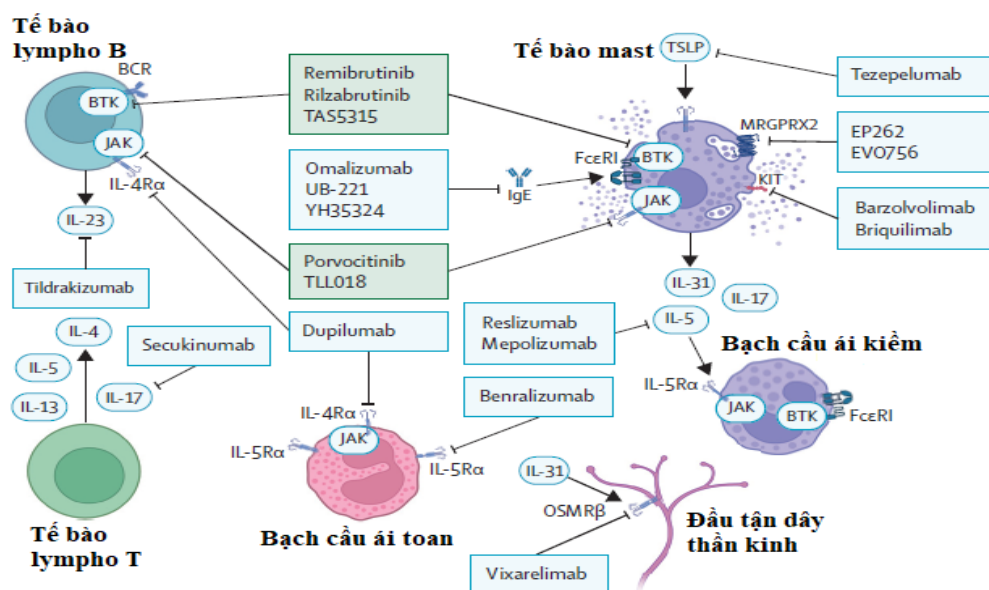
Hiện tại chưa có thuốc điều trị khỏi MĐMTTP. Mục tiêu điều trị vẫn là kiểm soát hoàn toàn triệu chứng cho đến khi bệnh thoái lui một cách tự nhiên. Khác với các bệnh lý khác, điều trị MĐMTTP không dựa trên mức độ nặng của bệnh mà dựa trên bậc khuyến cáo theo hướng dẫn điều trị của các tổ chức lớn như *EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI* với ba bậc gồm sgAH1, Omalizumab và Ciclosporin. Thay đổi bậc điều trị dựa trên mức độ kiểm soát bệnh bằng thang điểm UCT (Urticaria Control Test) (hình 1.3).²



Hình 1.3: Nguyên tắc điều trị MĐMTTP.²

Histamin là chất trung gian viêm chính được giải phóng từ quá trình giáng hạt tế bào mast ở da. Do đó, thuốc kháng histamin H1 (AH1: H1 antihistamine) được coi là điều trị nền cho tất cả các bước trong điều trị MĐMTTP. AH1 hoạt động như chất chủ vận nghịch đảo với thụ thể H1, có nghĩa là chúng không có cấu trúc liên quan đến histamin, không đối kháng với sự liên kết của histamin với thụ thể H1. Thay vào đó, AH1 gắn kết với các vị trí khác trên thụ thể H1 để giữ thụ thể này ở trạng thái bất hoạt. sgAH1 có tính đặc hiệu cao với thụ thể H1, ít thẩm qua hàng rào máu não nên được khuyến cáo đầu tay trong MĐMTTP.²⁸ Phân tích cộng gộp cho

thấy tỉ lệ NB MĐMTTP kiểm soát được bệnh bởi sgAH1 liều chuẩn và liều cao tương ứng là 39%–60%.⁵ Dựa trên dược động học và dược lực học của sgAH1, mốc thời gian 2 tuần với liều chuẩn và 4 tuần với liều cao được xác định là thích hợp để đánh giá đáp ứng điều trị.^{2,29} Mặc dù chưa có một dấu ấn sinh học đơn lẻ nào đủ mạnh để dự báo đáp ứng điều trị với sgAH1, nhưng phân tích tổng quan hệ thống của Fok và cs cho thấy điểm UAS7 có mối tương quan chặt chẽ với nhiều bằng chứng nhất. Đa số các nghiên cứu đều ghi nhận điểm UAS7 càng cao thì tỉ lệ kháng trị với sgAH1 càng cao, mặc dù chưa đưa ra điểm cut-off cụ thể của UAS7.³⁰ NB MĐMTTP kháng trị với sgAH1 chính là đối tượng nghiên cứu cho các thử nghiệm lâm sàng thuốc mới. Với bậc 2 (omalizumab), còn tới 30% NB chưa được kiểm soát bệnh.³¹ Với bậc 3 (ciclosporin), tỉ lệ NB kiểm soát được bệnh khoảng 70%.³² Như vậy, vẫn còn tỉ lệ nhất định NB MĐMTTP kháng trị với ba bậc điều trị hiện tại, đặt ra yêu cầu phải phát triển các thuốc mới (hình 1.4).



Hình 1.4: Các thuốc mới trong điều trị MĐMTTP.³³

Sự thất bại của một số thuốc mới như kháng IgE (ligelizumab),³⁴ ức chế CRTh2R,³⁵ ức chế TSLP (tezepelumab),³⁶ ức chế IL5R (benralizumab),³⁷ kích hoạt Siglec-8 (lirentelimab)³⁸ một lần nữa khẳng định sự phức tạp trong cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP và y học vẫn chưa nắm giữ được con đường quan trọng tham gia vào toàn bộ diễn biến của bệnh lý này.

1.1.7. Điều trị MĐMTTP bằng bilastin

Do thiếu các nghiên cứu đối đầu, không có một khuyến cáo nào được đưa ra về việc lựa chọn trong các sgAH1. Về mặt lý thuyết, hiệu quả của từng thuốc AH1 riêng lẻ phụ thuộc vào cả đặc tính dược động học và dược lực học. Mối liên quan giữa sự ức chế phản ứng tạo sản phẩm do histamin gây ra và hiệu quả lâm sàng của AH1 trong điều trị MĐMTTP thực tế đang còn gây tranh cãi. Do có rất nhiều thuốc AH1 cùng được phê duyệt trong điều trị MĐMTTP nên việc tiến hành một nghiên cứu thử nghiệm ngẫu nhiên để so sánh hiệu quả của tất cả các loại thuốc này là không khả thi.³⁹

Nổi bật trong các sgAH1 là bilastin (cấu tạo hóa học: 2-[4-(2-(4-(1-(2-ethoxyethyl)benzimidazole-2-yl)piperidine-1-yl)ethyl)phenyl]-2-methylpropanoic acid). Cùng cơ chế tác động vào thụ thể histamin H1 như các AH1 khác, nhưng ái lực của bilastin với thụ thể histamin H1 cao hơn, điều này góp phần làm tăng hiệu quả kháng histamin của thuốc. Tỷ lệ ức chế sản phẩm được tạo ra bởi tiêm trong da histamin trên người khỏe mạnh của bilastin cao hơn desloratadin và rupatadin (tương ứng là 83%, 38% và 37%).⁴⁰ Trên NB MĐMTTP, trong các thử nghiệm đối đầu, bilastin cũng cho hiệu quả ức chế sản phẩm và ngứa cao hơn cetirizin, levocetirizin và fexofenadin.⁶⁻⁸ Ngay cả trong các trường hợp NB MĐMTTP kháng trị với các sgAH1 khác, bilastin cũng được ghi nhận đem lại hiệu quả nhất định. Nghiên cứu của Weller và cs. trên 31 NB MĐMTTP thất bại với các sgAH1 liều chuẩn như loratadin, cetirizin, rupatadin... cho thấy tỷ lệ đạt kiểm soát được bệnh ($UAS7 < 6$) là 26% (8 NB) với liều chuẩn bilastin (20 mg/ngày) sau 2 tuần và 6% (2 NB) với liều bilastin gấp 2 sau 4 tuần và 10% (3 NB) với liều bilastin gấp 4 sau 6 tuần.⁴¹ Tại Việt Nam, nghiên cứu của Nguyễn Thị Trà My và cs. năm 2025 trên 34 NB MĐMTTM cho thấy tỷ lệ đạt kiểm soát hoàn toàn triệu chứng sau 8 tuần điều trị bilastin lên đến hơn 82%, trong đó, đối với liều chuẩn, sau 2 tuần là 47,1%.⁴²

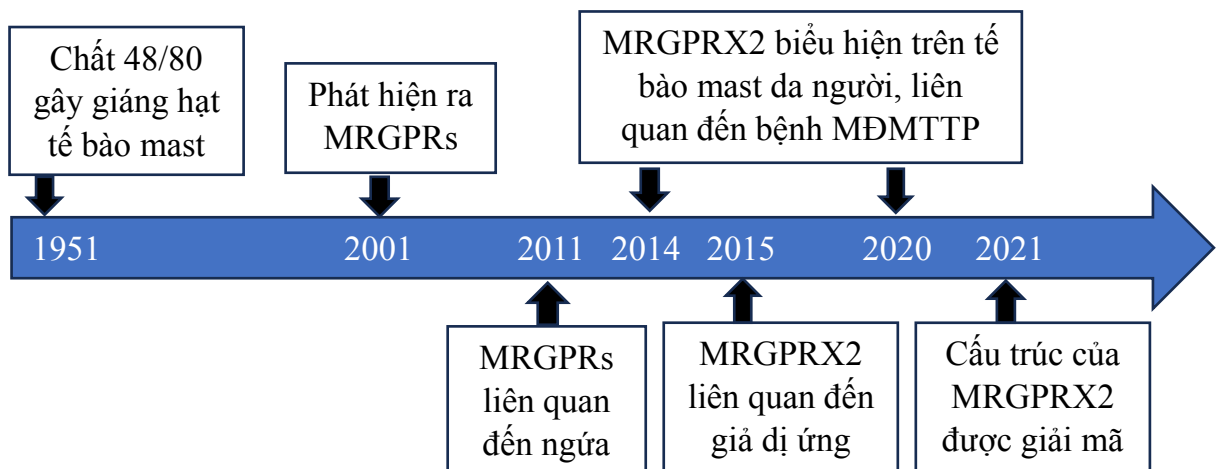
Ngoài ưu điểm về hiệu quả cao trong MĐMTTP, bilastin còn có một số điểm mạnh khác. Cụ thể: bilastin hấp thu nhanh qua đường uống với sinh khả dụng 60,7%; thời gian đạt nồng độ đỉnh trong máu khoảng 1,3h; thời gian bán thải kéo

dài 14,5h; tỉ lệ gắn với protein huyết tương 84% (thấp hơn các sgAH1 khác); gần như không chuyển hóa qua gan và bài tiết rất ít qua thận nên không cần chỉnh thuốc ở NB có giảm chức năng gan thận; tỉ lệ gắn với thụ thể H1 thần kinh trung ương thấp nhất trong các sgAH1. Do đó, tác dụng phụ của bilastin lên thần kinh trung ương (gây buồn ngủ) ngay trong trường hợp sử dụng liều cao cũng thấp nhất, bilastin là một trong ít các sgAH1 có thể được chỉ định cho NB làm các công việc đòi hỏi sự tập trung cao như vận hành máy móc, lái xe...⁴³ Nghiên cứu trên 122 NB MĐMTTP Nhật Bản cho thấy tác dụng phụ khi dùng kéo dài bilastin liều 20mg/ngày trong 52 tuần chỉ được ghi nhận khoảng 2,5% (3 NB) ở mức độ nhẹ đến trung bình. Trong đó, tác dụng phụ gây buồn ngủ chỉ xuất hiện ở 2 NB.⁴⁴

Với các ưu điểm kể trên, chúng tôi lựa chọn bilastin là thuốc đại diện cho sgAH1 trong mục tiêu điều trị thứ hai.

1.2. Mas-related G protein-coupled receptors X2 (MRGPRX2)

1.2.1. Nguồn gốc và lịch sử phát hiện



Hình 1.5: Các dấu mốc quan trọng trong lịch sử phát hiện MRGPRX2

Từ những năm 1950, các chất kích thích tiết cơ bản như hợp chất 48/80 đã được sử dụng thường xuyên trong phòng thí nghiệm để nghiên cứu chức năng giáng hạt tế bào mast không phụ thuộc IgE, nhưng cơ chế nào gây ra sự giáng hạt này vẫn là một ẩn số.⁴⁵

Năm 2001, Dong và cs. đã nhân bản một họ thụ thể kết hợp protein G được gọi là Mas-related G protein coupled receptors (MRGPR), nhiều trong số đó đặc trưng cho các tế bào thần kinh cảm giác.⁴⁶ Các thành viên trong họ thụ thể này được

đặt tên theo thành viên được phát hiện đầu tiên là Mas. Gen mã hóa protein Mas được phát hiện cách đây hơn 35 năm bởi Young và cs khi nhóm tác giả này phân lập DNA từ dòng tế bào ung thư biểu mô ở người và được cho là một gen tiền ung thư.⁴⁷ Tuy nhiên, đây là một nhận định sai lầm, liên quan đến những điểm hạn chế về kiến thức và dữ liệu của thời đại đó. Những tiến bộ y học sau đó đã đưa đến các kiến thức toàn diện và chính xác hơn về nhóm thụ thể này. Họ MRGPRs bao gồm 50 gen và giả gen ở chuột và 8 gen ở người.⁴⁶ Dựa trên cơ sở tương đồng về trình tự, họ MRGPRs có thể chia thành một vài dưới họ, từ MRGPRA đến MRGPRG và MRGPRX. Trong đó, dưới họ MRGPR-A, MRGPR-B, MRGPR-C được bảo tồn duy nhất ở loài gặm nhấm, còn dưới họ MRGPRX thì đặc trưng cho loài linh trưởng và con người.^{46,48}

Năm 2011, Liu và cs. đã chứng minh một số thụ thể MRGPR hoạt động như các thụ thể đặc hiệu ngựa.⁴⁹ Cùng năm này, Kashema và cs. đã phát hiện MRGPRX2, được biểu hiện chủ yếu bởi tế bào mast của con người và chịu trách nhiệm cho con đường giải phóng hạt tế bào mast không phụ thuộc IgE bởi hợp chất 48/80 và các hợp chất khác.⁵⁰

Năm 2014, Motakis và cs. tiến hành giải trình tự chuỗi đơn cDNA toàn diện và chỉ ra phần lớn MRGPRX2 biểu hiện trên tế bào mast, gợi ý rằng đây là chỉ dấu sinh học cho tế bào mast ở da người.⁵¹ Gen MRGPRX2 người nằm trên nhiễm sắc thể số 11 với 4 exon và 3 intron, mã hóa cho protein MRGPRX2 có trọng lượng phân tử là 37 kDa, gồm 330 amino axit với 7 đoạn peptid xuyên màng.⁵¹ Cùng năm đó, Fujisawa chứng minh vai trò của con đường giải phóng hạt tế bào mast da người không phụ thuộc IgE (qua MRGPRX2) trong bệnh MĐMTTP.¹⁰

Năm 2015, McNeil và cs. đã xác nhận MRGPRX2 chịu trách nhiệm cho phản ứng giả dị ứng, gây ra bởi các thuốc như ức chế thần kinh cơ, nhóm kháng sinh flouroquinolon...⁵²

Năm 2020, Plum và cs. đã phân tích hệ protein dựa trên khối phổ định lượng cho thấy một hệ protein duy nhất của tế bào mast giữa các dòng miễn dịch, trong đó MRGPRX2 được thể hiện cao bởi các tế bào mast da người.⁵³

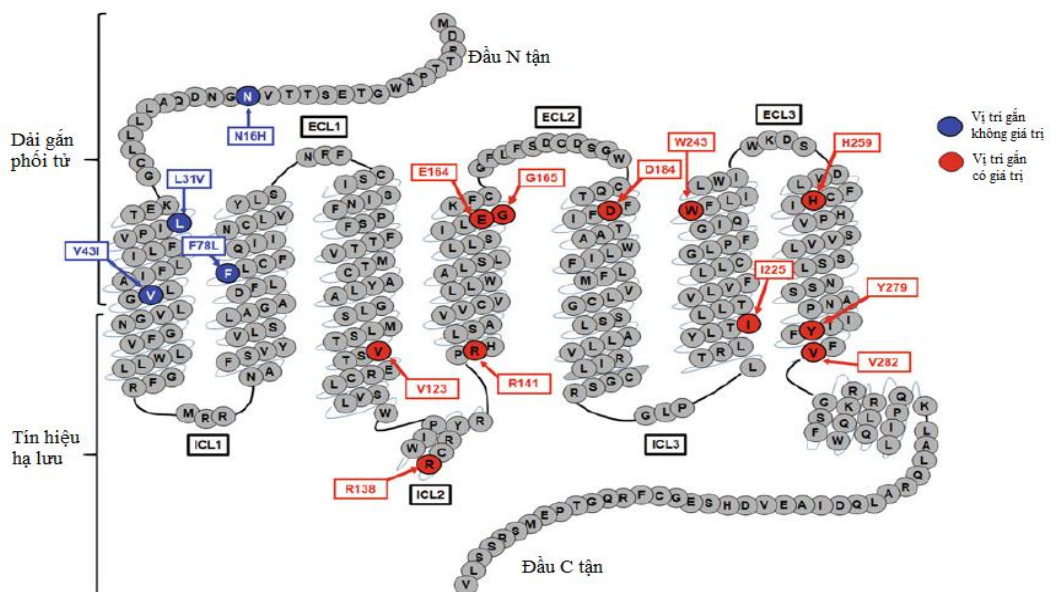
1.2.2. Cấu trúc của MRGPRX2 và các con đường dẫn truyền tín hiệu liên quan

Năm 2021, cấu trúc phân tử của MRGPRX2 mới thực sự được làm sáng tỏ bởi Yang, Cao và cs. bằng cách sử dụng kính hiển vi điện tử lạnh.^{54,55} Các tác giả này đã làm rõ cách MRGPRX2 có thể nhận ra một phạm vi rộng các phân tử cation có cấu trúc riêng biệt. Ngoài ra, có sự không đồng nhất đáng kể trong cách các phối tử khác nhau liên kết, điều này có thể giúp giải thích sự liên kết có phần hỗn tạp của thụ thể này.^{54,55}

Cấu trúc của MRGPRX2 bao gồm:

- Miền ngoại bào (extracellular: EC): với đầu N tận, 7 chuỗi xuyên màng TM (transmembrane) liên kết với 3 vòng ngoại bào ECL1, ECL2, ECL3 (extracellular loops).
- 3 vòng nội bào ICL1, ICL2, ICL3 (intracellular loops)
- Miền nội bào (intracellular: IC) với đầu C tận.

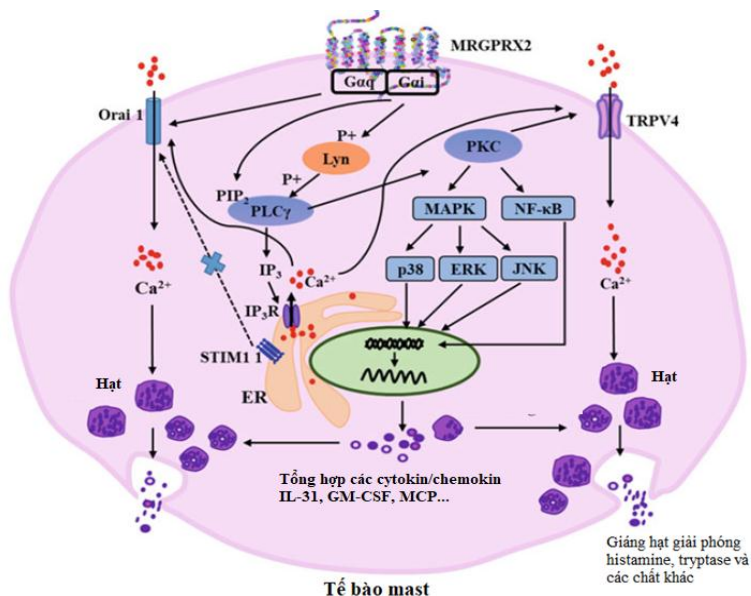
EC và phần TM gần EC có sự đa dạng về cấu trúc và chịu trách nhiệm liên kết với các phối tử. TM3–6 tạo túi phụ thứ nhất có tính axit, tích điện âm, làm cho MRGPRX2 dễ dàng liên kết với các phối tử cation của nó. TM1–3 và TM6–7 tạo túi phụ thứ hai kỵ nước. IC và phần TM gần IC tham gia vào quá trình hoạt hóa protein G, từ đó tạo tín hiệu hạ lưu trong tế bào (hình 1.6).⁵⁶



Hình 1.6: Cấu trúc của MRGPRX2.⁵⁶

Một số đột biến của MRGPRX2 tại EC và TM đã được ghi nhận và gây ảnh hưởng lớn đến sự gắn kết của các phối tử, làm mất tác dụng của phối tử hoặc tăng hoạt hóa MRGPRX2. Ví dụ như 4 đột biến vô nghĩa tại các vị trí 165, 184, 243, 259 của TM thứ 4, 5, 6, 7 như glycine165 axit glutamic, aspartic acid184histidine, tryptophan243arginine và histidine259tyrosine (G165E, D184H, W243R và H259Y) làm thay đổi kích thước và tính chất điện tích của túi liên kết phối tử của MRGPRX2, dẫn đến mất tác dụng của chất P (substance P: SP), hemokinin-1, defensin-3 và Icatibant đối với MRGPRX2. Các đột biến thể thay thế serine325leucine và leucine329glutamine (S325L và L329Q) được xác định là làm tăng giải hạt tế bào mast theo con đường MRGPRX2 bởi SP.⁵⁷ Một số đột biến tại đầu N-tận, TM1 và TM2 không ảnh hưởng đến chức năng của MRGPRX2 (đột biến vô nghĩa).⁵⁶

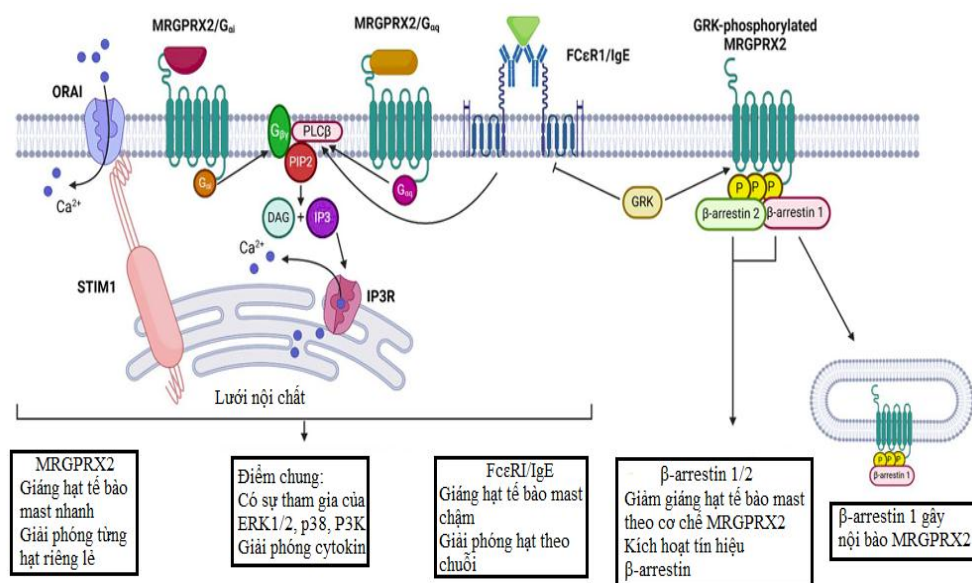
MRGPRX2 là GPCR loại A kích hoạt đường truyền tín hiệu xuôi dòng thông qua kích hoạt protein G trimeric. Khi phối tử liên kết tại các vị trí EC hoặc TM của MRGPRX2, Gαq và Gβi được hoạt hóa. Điều này tạo điều kiện khởi tạo các tầng phosphoryl hóa liên quan đến Src tyrosine kinase Lyn, phospholipase C (PLC)γ và thụ thể inositol 1,4,5-trisphosphate (IP3R), sau đó kích hoạt các kênh vận chuyển Ca^{2+} như Orai hoặc TRPV4, đồng thời kích hoạt con đường MAPK và NF-κB tạo ra các cytokin/chemokin (hình 1.7).⁵⁶



Hình 1.7: Các con đường dẫn truyền tín hiệu qua MRGPRX2.⁵⁶

(PLC: phospholipase C; IP3: inositol triphosphate, TRPV4: transient receptor potential cation channel subfamily V4)

Khác với giáng hạt tế bào mast qua FcεRI, sự huy động dòng chảy canxi trong giáng hạt tế bào mast qua MRGPRX2 xảy ra nhanh và nhất thời, dẫn đến giải phóng từng hạt đơn lẻ từ bào tương ra bên ngoài, đặc biệt, nội dung chứa đựng trong các hạt này nhiều nhất là tryptase, sau đó mới đến các chất trung gian viêm khác như histamin, IL-8, protein gây hóa ứng động bạch cầu đơn nhân, protein viêm của đại thực bào, TNF-α, và prostaglandins.²⁰ Ngoài ra, sự gắn kết của một số phối tử với MRGPRX2 còn gây phosphoryl hóa thụ thể này tại đầu C tận bởi GRKs, dẫn tới tuyển dụng các protein thích ứng như β-arrestin 1, β-arrestin 2. Các β-arrestin được kích hoạt và gây nội bào hóa thụ thể MRGPRX2, giảm giáng hạt tế bào mast theo cơ chế MRGPRX2.⁵⁸ Những phối tử có thể hoạt hóa MRGPRX2 theo các tín hiệu protein G và β-arrestin được gọi là chất chủ vận cân bằng (chất C48/80, SP, cortistatin-14...). Những phối tử chỉ hoạt hóa MRGPRX2 theo con đường protein G (mastoparan, kallidin và icatiban) hoặc β-arrestin được gọi là các chất chủ vận thiên vị, điều này có thể liên quan đến việc các phối tử này tạo ra các cấu hình khác nhau của MRGPRX2 để kích hoạt các con đường truyền tín hiệu khác nhau.⁵⁹ Tuy nhiên, cả hai con đường giáng hạt tế bào mast qua FcεRI và MRGPRX2 đều có sự tham gia của một số kinases trong dòng tín hiệu hạ lưu (ERK1/2: extracellular signal-regulated protein kinase 1/2, p38, protein kinase B) và P3K (phosphoinositide 3-kinase) (hình 1.8).⁶⁰



Hình 1.8: So sánh con đường truyền tín hiệu giữa MRGPRX2 và FcεRI/IgE.⁶¹

1.2.3. Chức năng sinh lý và bệnh lý

Đặc trưng của MRGPRX2 là tính đặc hiệu thấp và ái lực thấp, do có khả năng kết hợp được rất nhiều chất chủ vận nội sinh và ngoại sinh với cấu trúc đa dạng. Cho đến hiện nay, các nhà nghiên cứu vẫn chưa tìm được hết các chất chủ vận của thụ thể này. Sự hoạt hóa tế bào mast da người thông qua sự gắn kết của MRGPRX2 với các chủ vận tương ứng, liên quan đến cơ chế bảo vệ vật chủ; phản ứng giả dị ứng; bệnh viêm mạn tính như MĐMTTP, viêm da cơ địa, hen phế quản, ngứa không do histaminergic; viêm nha chu, viêm thần kinh và đau do viêm...⁶² Nồng độ huyết thanh của MRGPRX2 đã được ghi nhận là tăng cao trong hen phế quản, viêm mũi dị ứng so với người khỏe mạnh.^{63,64}

1.2.4. Các yếu tố điều hòa sự biểu hiện của MRGPRX2

Sự tương tác và điều hòa lẫn nhau của mạng lưới thụ thể là một phương tiện quan trọng để các tế bào tích hợp nhiều tín hiệu mà chúng đồng thời nhận được trong môi trường sống tự nhiên và tế bào có thể thay đổi kiểu hình chức năng khi tiếp xúc với các tín hiệu môi trường khác nhau. Các yếu tố môi trường vi mô có thể điều chỉnh sự đáp ứng của MRGPRX2 đối với các chất chủ vận của nó thông qua việc thay đổi sự biểu hiện hoặc thay đổi con đường tín hiệu của MRGPRX2 hoặc cả hai. Tuy nhiên, sự hiểu biết về các yếu tố này hiện tại còn rất khiêm tốn. Một số yếu tố điều hòa sự biểu hiện của MRGPRX2 đã được tìm hiểu, bao gồm: yếu tố tế bào gốc (stem cell factor: SCF), IL-4, IL-33 và axit retinoic. (Bảng 1.3)

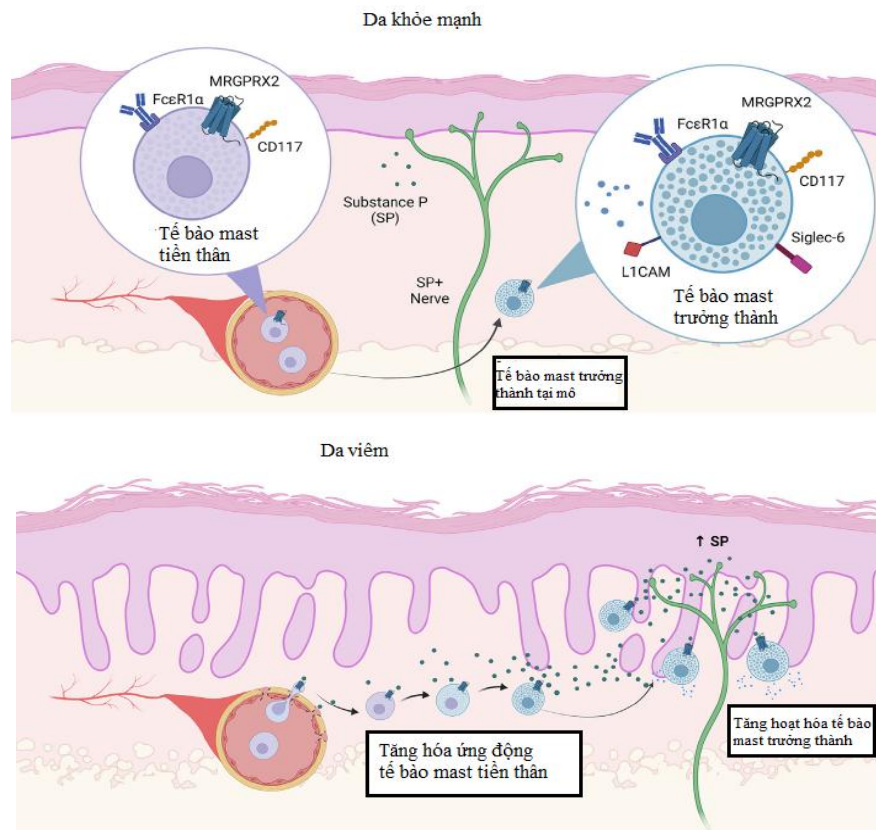
SCF đã được chứng minh là làm giảm sự giáng hạt tế bào mast qua MRGPRX2. Tác động tiêu cực của SCF cũng được duy trì sau khi tiếp xúc lâu dài, có thể là do sự điều hòa của thụ thể.⁶⁵ IL-4 được sản xuất từ Th2 cũng can thiệp vào sự biểu hiện và chức năng của MRGPRX2 đồng thời thúc đẩy quá trình giáng hạt tế bào mast theo con đường IgE.⁶⁶ Đối với IL-33, nếu tiếp xúc lâu dài, cả hai con đường giáng hạt này đều bị suy giảm, mặc dù ở các mức độ khác nhau, với tác động lên sự giáng hạt theo con đường IgE khá tinh tế, trong khi chức năng MRGPRX2 về cơ bản đã bị loại bỏ, cũng như biểu hiện thụ thể này ở các tế bào nuôi cấy có IL-33. Tuy nhiên, nếu tiếp xúc với IL-33 cấp tính, quá trình giáng hạt qua MRGPRX2 lại

được tăng cường.^{67,68} Axit retinoic làm suy giảm con đường giả dị ứng trong quá trình điều trị kéo dài, một phản ứng tương tự liên quan đến việc điều hòa giảm biểu hiện MRGPRX2.⁶⁹

Bảng 1.2: Các yếu tố điều hòa MRGPRX2 trên tế bào mast

Yếu tố	mRNA MRGPRX2	Protein MRGPRX2	Quá trình giáng hạt của MRGPRX2
SCF (nhanch trong 30 phút)	Không đánh giá	Không đánh giá	Giảm
SCF trên 16h	Giảm	Giảm	Giảm
IL-4 trên 16h	Giảm nhẹ, không có ý nghĩa	Giảm	Giảm
IL-33 nhanh trong 30 phút	Không đánh giá	Không thay đổi	Tăng
IL-33 trong 5 tuần	Giảm	Giảm	Giảm
Axit retinoic trong 7 ngày	Giảm	Không đánh giá	Giảm

Ngoài các yếu tố kể trên, vai trò của chính các chất chủ vận đối với sự biểu hiện của MRGPRX2 cũng là một dấu hỏi lớn đối với các nhà nghiên cứu. Nghiên cứu mới của West và cs năm 2024 cho thấy sự biểu hiện của MRGPRX2 không đồng nhất giữa các giai đoạn trưởng thành của tế bào mast người. Nồng độ thấp của SP gây hóa ứng động tế bào mast tiền thân và định vị tế bào này đến gần vị trí sợi thần kinh bài tiết SP. Tại mô viêm, nồng độ SP tăng lên gây tăng hóa ứng động tế bào mast tiền thân và làm tăng biểu hiện và tăng hoạt hóa MRGPRX2 trên tế bào mast trưởng thành. Tuy nhiên, khi nồng độ SP quá cao ($EC_{50} = 1,47 \mu M$) lại gây giảm biểu hiện MRGPRX2 trên màng tế bào mast do làm tăng quá trình nội bào hóa thụ thể (hình 1.9).⁷⁰



Hình 1.9: Tương tác giữa MRGPRX2 và SP tại da khỏe mạnh và da viêm.⁷⁰

1.2.5. Các nghiên cứu về MRGPRX2 trong MĐMTTP

Vai trò của MRGPRX2 trong MĐMTTP được khẳng định đầu tiên vào năm 2014 bởi nghiên cứu của Fujisawa và cs. Nghiên cứu này được thực hiện trên mẫu sinh thiết sẵn phù của 9 NB MĐMTTP nặng ($UAS7 > 30$) kháng trị với AH1. Kết quả cho thấy số lượng tế bào mast ở da có biểu hiện MRGPRX2 (116 ± 19 tế bào/mm²) và tỉ lệ phần trăm tế bào mast biểu hiện MRGPRX2 ở đối tượng này ($47,0\% \pm 6,9\%$) cao hơn hẳn so với nhóm chứng khỏe mạnh (tương ứng là $68,5 \pm 51,1$ tế bào/mm² và $21,6\% \pm 7,8\%$) ($p < 0,05$). Không có sự khác biệt về số lượng tế bào mast, số lượng tế bào mast biểu hiện MRGPRX2, tỉ lệ phần trăm tế bào mast biểu hiện MRGPRX2 theo độ tuổi và theo các vị trí giải phẫu (cánh tay, chân và thân mình). Nghiên cứu này cũng chỉ ra một số chất chủ vận của MRGPRX2 trong MĐMTTP là SP, MBP và EPO chứ không phải là EDN (Eosinophil-derived Neurotoxin: độc tố thần kinh có nguồn gốc từ BCAT) và vị trí của MRGPRX2 là trên màng tế bào và trong bào tương của tế bào mast tại da.¹⁰ Nghiên cứu này đã mở

ra một hướng nghiên cứu mới trong điều trị MĐMTTP nặng và kháng trị AH1 với đích nhắm đến là MRGPRX2. Tuy nhiên, điểm hạn chế của nghiên cứu này là cỡ mẫu nhỏ, chưa đề cập đến nhóm MĐMTTP không nặng, chưa so sánh sự thay đổi của biểu hiện MRGPRX2 trước và sau điều trị AH1 trong MĐMTTP.

Dựa trên khả năng của tế bào mast trong việc giải phóng các thành phần màng vào dịch sinh học thông qua các túi ngoại bào và quá trình bài tiết tế bào, Cao và cs. đã sử dụng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh như một dấu ấn sinh học phản ánh tình trạng viêm và mức độ nặng của bệnh MĐMTTP. Nghiên cứu được thực hiện năm 2021 trên 116 NB MĐMTTP cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh trong nhóm nặng ($UAS7 \geq 28$) là 16,5 [10,8–24,8] ng/mL, cao hơn so với nhóm chứng khỏe mạnh (11,7 [6,5–21,2] ng/mL với $p = 0,036$) và nhóm không nặng (8,7 [4,5–18,8] ng/mL với $p = 0,002$). Không có sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 giữa nhóm MĐMTTP không nặng và nhóm chứng ($p > 0,05$). Nồng độ MRGPRX2 trong huyết thanh ≥ 12 ng/mL là một yếu tố nguy cơ độc lập của MĐMTTP nặng (OR 6,42; $p = 0,002$), cùng với các yếu tố nguy cơ khác như IgE toàn phần, tỉ lệ phần trăm BCAF và phù mạch.¹¹ Từ đó, tác giả cho rằng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có thể là một chỉ điểm cho mức độ hoạt động của MĐMTTP. Tuy nhiên, điểm hạn chế của nghiên cứu này là chưa xác định được mối liên quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với sự biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast và đáp ứng điều trị trong MĐMTTP.

Cùng đánh giá tiềm năng của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh dự báo mức độ nặng của MĐMTTP, Lao và cs đề cập đến ảnh hưởng của các thuốc điều trị MĐMTTP đến nồng độ chất này. Nghiên cứu thực hiện trên gần 100 NB MĐMTTP với 50% NB chưa điều trị bệnh (ngừng toàn bộ thuốc điều trị MĐMTTP trên 1 tháng). Kết quả chung cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm nặng cao hơn nhóm nhẹ, tương ứng là $41,06 \pm 26,98$ ng/mL và $26,64 \pm 15,91$ ng/mL ($p = 0,011$). Khi phân tích các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ MRGPRX2 huyết thanh, nghiên cứu cho thấy sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm nặng và nhẹ chỉ có ý nghĩa ở nhóm NB chưa điều trị (tương ứng nhóm nặng là

58,15 ± 38,53 ng/mL và nhóm nhẹ là 25,91 ± 15,07 ng/mL; $p = 0,034$) mà không thấy sự khác biệt trong nhóm đang dùng thuốc (tương ứng nhóm nặng là 36,79 ± 22,98 ng/mL và nhóm nhẹ là 27,64 ± 17,15 ng/mL với $p = 0,092$). Do đó, nhóm tác giả cho rằng các thuốc điều trị MĐMTTP có thể tác động đến quá trình xuất bào những túi nhỏ chứa MRGPRX2 của tế bào mast, làm giảm nồng độ của chất này trong huyết thanh.¹² Tuy nhiên, đây chỉ là suy luận chưa được kiểm chứng bởi sự thay đổi của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh trước và sau điều trị, đồng thời là điểm hạn chế của nghiên cứu cắt ngang này.

Nghiên cứu của Asero và cs trên 32 NB MĐMTTP kháng AH1 có điểm UAS7 ≥ 20 lại cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm NB này thấp hơn nhóm chứng khỏe mạnh (tương ứng là 16 [10–76] ng/mL và 26 [15–41] ng/mL; $p = 0,009$). Không có sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa các nhóm đáp ứng sớm, đáp ứng muộn và không đáp ứng với Omalizumab (tương ứng là 15,8 [10,4–53,7] ng/mL; 16,0 [11,7–76,4] ng/mL và 18,0 [11,2–40,3] ng/mL) ($p > 0,05$). Kết quả này mâu thuẫn với sự tăng biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast trên nhóm MĐMTTP nặng kháng AH1 trong nghiên cứu của Fujisawa vs cs. Do vậy, Asero và cs cho rằng sự biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast và trong huyết thanh có mối quan hệ nghịch.⁷¹ Tuy nhiên, cần một nghiên cứu so sánh sự khác biệt về sự biểu hiện MRGPRX2 trên màng tế bào mast và nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm NB MĐMTTP và nhóm chứng khỏe mạnh để khẳng định suy luận này. Hơn nữa, nghiên cứu của Asero và cs cũng chưa đánh giá tác động của AH1 lên sự thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh.

Một nghiên cứu khác của Shtessel và cs. năm 2021 đã chứng minh phản ứng da của NB MĐMTTP (sẩn phù, ngứa) tăng lên do hoạt hóa MRGPRX2. Nhóm nghiên cứu thực hiện test tiêm nội bì trên 10 NB MĐMTTP rất nhẹ (UAS7 trung bình là 0,5) và 10 người khỏe mạnh với hai chất chủ vận của MRGPRX2 là icatibant và atracurium. Kết quả cho thấy phản ứng da sau tiêm histamin của hai nhóm là tương đương nhau. Tuy nhiên, phản ứng da sau tiêm icatibant và atracurium lại có sự khác biệt: sẩn phù ở nhóm MĐMTTP có đường kính gấp 2 lần

nhóm chứng với $p < 0,05$.⁷² Từ đó, nhóm tác giả cho rằng có thể có sự khác biệt về cấu trúc của MRGPRX2 giữa nhóm MĐMTTP và nhóm khỏe mạnh.

Nghiên cứu mới nhất năm 2025 của Ye và cs tập trung vào vai trò của đột biến MRGPRX2 trong MĐMTTP. Phân tích trình tự gen mã hóa MRGPRX2 trên 80 NB MĐMTTP cho thấy có 61% NB không có đột biến gen, 10% có đột biến tại vị trí nucleotid 185 thay thế Adenin bằng Guanin (185A>G) và 29% có đột biến đồng thời 185A>G và vị trí 46 thay thế Adenin bằng Cytosin (46A>C). Đột biến gen tại 185A>G dẫn đến thay thế N62S (Asparagin tại vị trí 62 thay thế bằng Serin), còn đột biến gen tại 46A>C dẫn đến thay thế N16H (Asparagin tại vị trí 16 thay thế bằng Histidin) tại thụ thể MRGPRX2 tương ứng. Một điều thú vị là chỉ có đột biến 185A>G làm tăng chức năng và tăng biểu hiện trên màng tế bào của MRGPRX2, tăng giải hạt tế bào mast, tăng huy động canxi, tăng tổng hợp cytokin, do đó gây tăng mức độ hoạt động của bệnh MĐMTTP. Những NB mang đột biến này cũng có nồng độ MRGPRX2 huyết thanh cao hơn, số lượng B2AK và tế bào lympho ở máu ngoại vi thấp hơn. Đột biến đồng thời 185A>G và 46A>C lại không ảnh hưởng đến chức năng của MRGPRX2.¹³

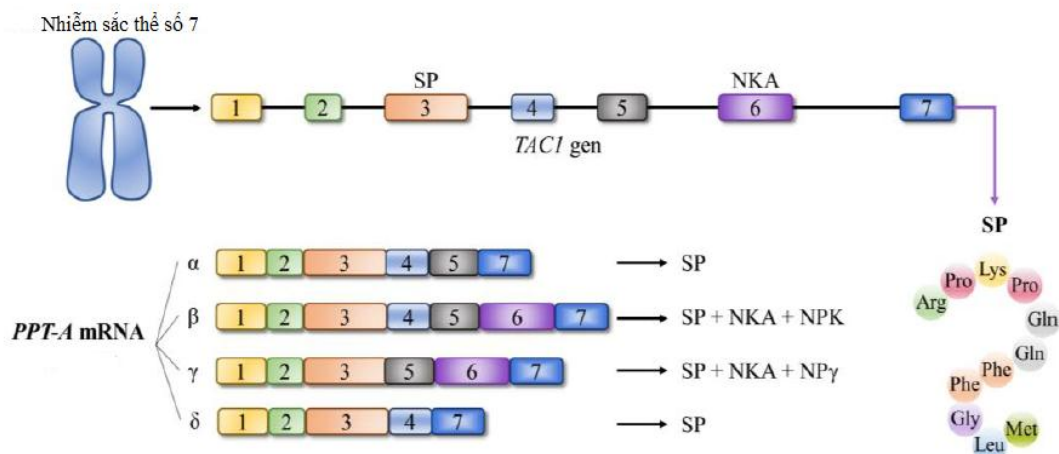
Như vậy, các nghiên cứu trên đã chỉ ra có sự tăng biểu hiện thụ thể MRGPRX2 trên màng tế bào mast ở nhóm MĐMTTP nặng so với nhóm chứng khỏe mạnh, nhưng những nghiên cứu về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa hai nhóm này lại không có kết quả thống nhất. Ngay trong nhóm MĐMTTP thì sự tăng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có mối liên quan với điểm hoạt động của bệnh UAS7 chỉ ở nhóm chưa điều trị chứ không phải ở nhóm đã điều trị. Tuy nhiên, chưa có nghiên cứu nào chỉ ra sự ảnh hưởng của các thuốc trong điều trị MĐMTTP đến nồng độ MRGPRX2 huyết thanh để giải thích kết quả trên. Hiện tại cũng chưa có bất kỳ nghiên cứu nào tại Việt Nam tìm hiểu về MRGPRX2 nói chung và nồng độ MRGPRX2 huyết thanh nói riêng trong MĐMTTP. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi vừa khảo sát nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP và nhóm chứng khỏe mạnh, vừa xác định mối liên quan giữa nồng độ chất này với mức độ hoạt động bệnh, đồng thời xác định sự thay đổi của MRGPRX2 huyết thanh sau khi điều trị bằng sgAH1 (bilastin) sẽ góp phần giải thích sự chưa thống nhất giữa kết quả của các nghiên cứu trên thế giới.

Nghiên cứu chuyên sâu về MRGPRX2 mới chỉ bắt đầu và sự hiểu biết vẫn còn ở giai đoạn đầu, mặc dù hiện tại nó là một trong những “thụ thể hấp dẫn nhất” trong lĩnh vực tế bào mast, đặc biệt là bệnh MĐMTTP. Do đó, việc khám phá các phối tử, đóng vai trò là chất chủ vận (giải thích tại sao các chất này gây ra các triệu chứng liên quan đến tế bào mast) hoặc chất đối kháng (để can thiệp về mặt trị liệu đối với tình trạng quá mẫn do MRGPRX2 gây ra) đang diễn ra sôi nổi. Mức độ mà MRGPRX2 gây giáng hạt tế bào mast vẫn chưa được xác định một cách thuyết phục, nhưng liệu pháp điều trị nhắm đến thụ thể này vẫn là thuốc điều trị rất hứa hẹn trong MĐMTTP. Các phương pháp điều trị nhắm mục tiêu MRGPRX2 có thể được chia thành ba nhóm chính: (1) ức chế trực tiếp MRGPRX2, (2) ức chế tín hiệu hạ lưu của MRGPRX2 (ức chế sự gia tăng canxi nội bào) và (3) các cơ chế khác như kích hoạt CD300f, một chất ức chế đã biết của quá trình hoạt hóa tế bào mast thông qua MRGPRX2.⁷³ Một số thuốc phân tử nhỏ như EP262, EVO756 đã được thử nghiệm lâm sàng pha II NCT06077773, NCT06873516 trong điều trị MĐMTTP kháng trị với AH1.³³ Trong đó, EP262 có khả năng ức chế sự hoạt hóa MRGPRX2 do nhiều chất chủ vận khác nhau (chất P, cortistatin-14, icatibant...) và trên nhiều dòng tế bào mast (tế bào mast LAD2 và tế bào mast nguyên phát của người có nguồn gốc từ nhiều mô, cũng như ức chế thụ thể MRGPRX2 của người trong cơ thể sống bằng cách sử dụng chuột KI chuyển gen). EP262 hoạt động như các chất chủ vận nghịch đảo không cạnh tranh và thể hiện tính chọn lọc MRGPRX2 cao so với các MRGPR khác và nhiều thụ thể khác. Điều quan trọng là việc điều trị bằng EP262 đã ức chế mạnh mẽ hoạt hóa MRGPRX2, bao gồm ức chế cả các sản phẩm giải phóng hạt giai đoạn đầu như histamin và các sản phẩm giải phóng hạt giai đoạn cuối như cytokin.⁷⁴ Tuy nhiên, thử nghiệm về EP262 đã bị ngừng lại vào tháng 11 năm 2024 vì những độc tính tiền lâm sàng.⁷⁵ Còn đối với EVO756, cũng là một chất đối kháng mạnh mẽ của MRGPRX2, có thể ngăn ngừa sự giáng hạt của tế bào mast người đối với nhiều chất chủ vận (chất P, codein, cortistatin-14, C48/80, LL-37) và ức chế sự hoạt hóa của MRGPRX2 trên nhiều dòng tế bào mast khác nhau (dòng tế bào mast LAD2 và ROSA, tế bào mast nguyên phát phân lập từ da vú hoặc bao quy đầu).⁷⁶ Kết quả của thử nghiệm lâm sàng pha IIb về EVO756 sẽ làm sáng tỏ hơn nữa tiềm năng đóng góp của MRGPRX2 đối với MĐMTTP.

1.3. Chất P

1.3.1. Nguồn gốc

Chất P (SP: substance P) là thành viên thuộc họ tachykinin (tập hợp của rất nhiều neuropeptid, các peptid ngắn lưỡng tính được lưu trữ trong các túi và được giải phóng từ các đầu dây thần kinh ngoại vi). SP được bài tiết ở tận cùng của thần kinh cảm giác đặc hiệu bởi các yếu tố kích thích như leukotrienes, prostaglandins và histamin.⁷⁷ Các tế bào khác như lympho bào, đại thực bào, BCAT và tế bào gai cũng tổng hợp được SP.⁷⁸ Được tìm ra từ những năm 1930 bởi von Euler và Gaddum trong quá trình chiết xuất từ mô ruột và não ngựa, SP được đặt tên theo từ Powder do tính chất co cơ mạnh và gây hạ áp, đồng thời có tính kháng atropin khác biệt với cholin và acetylcholin.⁷⁹ Bốn mươi năm sau, người ta mới hiểu được bản chất của SP là một peptid với cấu tạo từ 11 axit amin (Arg-Pro-Lys-Pro-Gln-Gln-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂) và mang điện tích dương ở môi trường pH sinh lý. Thực chất, đây là sản phẩm phân cắt từ peptid tiền thân là preprotachykinin A. Ở người, peptid tiền thân này được mã hóa bởi gen TAC1 (còn được gọi là gen PPT-A: preprotachykinin-A) nằm trên nhiễm sắc thể số 7 (hình 1.10).⁷⁷



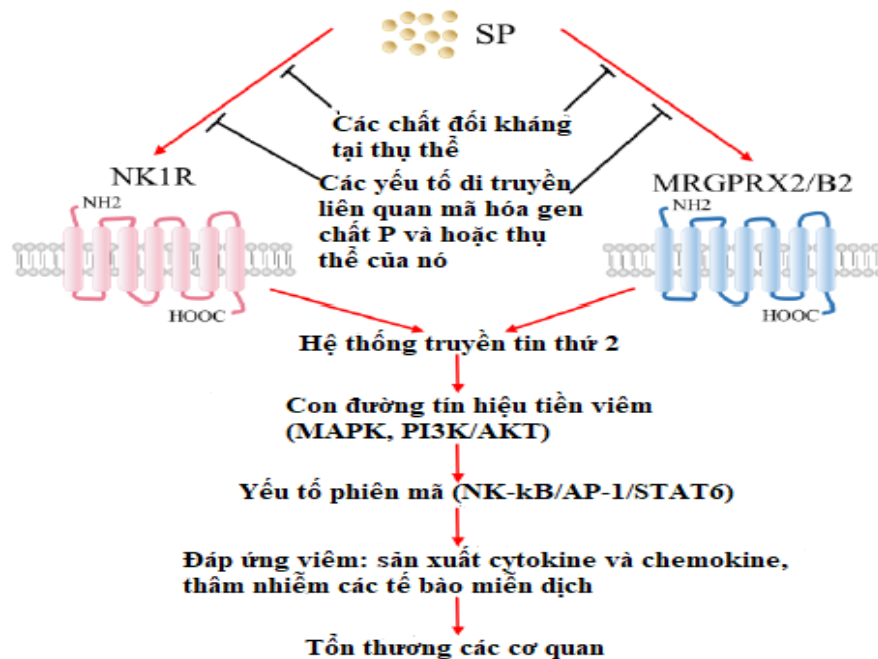
Hình 1.10: Con đường tổng hợp SP.⁸⁰

(NKA: Neurokinin A, NPK: Neuropeptid K, NPY: Neuropeptidy)

1.3.2. Vai trò sinh lý và bệnh lý

SP đóng vai trò như một chất trung gian quan trọng trong nhiều quá trình sinh lý của cơ thể như tín hiệu đau, điều hòa phản ứng viêm, cơ chế bảo vệ vật chủ và lành vết thương thông qua các thụ thể đặc hiệu của nó như thụ thể NK-1 (neurokinin-1)^{77,81} và MRGPRX2.¹⁰ Sau khi được giải phóng, SP gắn với thụ thể

của nó trên màng tế bào và tạo phức hợp phối tử/thụ thể. Phức hợp này gây nên các đáp ứng nội bào, phosphoryl hóa của một số kinase, tiếp tục dẫn đến sự hoạt hóa hoặc bất hoạt của nhiều yếu tố phiên mã như NF- κ B, protein hoạt hóa 1 và chất chuyển tín hiệu và chất hoạt hóa phiên mã. Các con đường dẫn truyền nội bào liên quan đến các phức hợp SP/NK-1R và/hoặc SP/MRGPRX2 bao gồm con đường protein kinase hoạt hóa mitogen (MAPK), con đường phosphoinositide 3-kinase (PI3K)-protein kinase B (PKB) và con đường NF- κ B. Do hầu hết các con đường này đều tham gia sâu rộng vào quá trình điều hòa các thể hệ cytokin và chemokin khác nhau, cũng như quá trình hóa ứng động và thâm nhiễm các tế bào miễn dịch, nên phức hợp SP/NK1R và SP/MRGPRX2/B2 đóng vai trò quan trọng trong việc điều chỉnh quá trình tiến triển của tình trạng viêm và phản ứng phòng vệ của vật chủ. Tuy nhiên, khi tín hiệu tạo ra bởi các phức hợp này quá mức sẽ dẫn đến tình trạng bệnh lý như viêm da cơ địa, hen, MĐMTTP, phản ứng giả dị ứng, phản ứng đau viêm sau phẫu thuật (đối với phức hợp SP/MRGPRX2) hoặc tổn thương phổi/gan/thận do nhiễm trùng huyết, tổn thương phổi do viêm tụy cấp, do bỏng (đối với phức hợp SP/NK-1R) (Hình 1.11).⁸⁰ Một số bệnh lý làm tăng nồng độ SP huyết thanh so với nhóm chứng khỏe mạnh đã được ghi nhận là các rối loạn tâm thần và thần kinh như trầm cảm nặng,⁸² Parkinson,⁸³ viêm khớp dạng thấp,⁸⁴ cơn tắc mạch cấp của bệnh hồng cầu hình liềm.⁸⁵

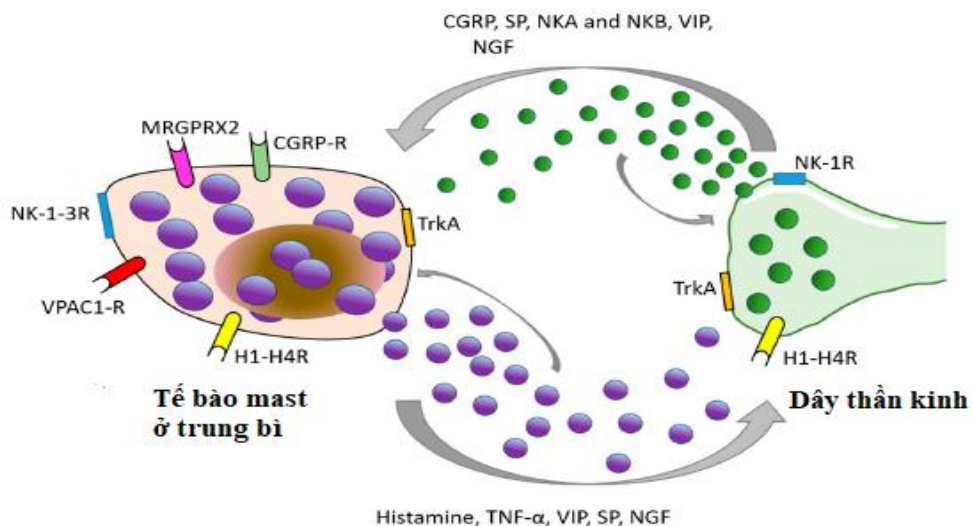


Hình 1.11: Vai trò của SP trong đáp ứng viêm gây tổn thương các cơ quan.⁸⁰

Trong môi trường nội bào có tính axit, SP tách khỏi phức hợp và bị phân hủy bởi các enzym phân giải protein.⁸⁶ SP không liên kết cũng trải qua quá trình phân hủy bởi neprilysin (một metalloendopeptidase bề mặt tế bào) ngay sau khi xuất bào.⁸⁷ Tại các mô, thời gian bán thải của SP khá ngắn, chỉ vài giây đến vài phút.⁸⁸ Ngược lại, SP huyết tương có độ ổn định cao hơn trong nhiều giờ.⁸⁹ Điều này cho thấy, một mặt, SP có thể kích hoạt tác dụng tức thời; mặt khác, cần phải cải thiện độ ổn định của nó trong dung môi.

1.3.3. Các nghiên cứu về SP trong MDMTTP

SP là một yếu tố quan trọng của sự tương tác hai chiều giữa hệ thống miễn dịch và thần kinh trong bệnh MDMTTP.⁹⁰ Sau khi được hoạt hóa và giáng hạt, tế bào mast giải phóng các chất trung gian gây viêm, chất trung gian alogen và chất gây ngứa. Các chất này sẽ gắn kết với các thụ thể đặc hiệu trên sợi dây thần kinh cảm giác và hoạt hóa chúng. Ngược lại, các sợi thần kinh sau khi bị hoạt hóa sẽ bài tiết SP và các peptid thần kinh khác có đặc tính viêm và giãn mạch, chính các chất này lại hoạt hóa trở lại tế bào mast. Bản thân tế bào mast cũng sản xuất được một số peptid thần kinh để tạo tín hiệu tự hoạt hóa và tự điều hòa hoạt hóa của chính mình (Hình 1.12).⁹⁰



Hình 1.12: Sự tương tác giữa tế bào mast và hệ thần kinh trong MDMTTP.⁹¹

(CGRP: Calcitonin gene-related peptide, NKA/NKB: neurokinin A và B, SP: Chất P, CRH: corticotropin-releasing hormone, VIP: vasoactive intestinal peptide, NGF: nerve growth factor, TNF- α : tumor necrosis factor- α , NK-1-3R: Neurokinin type 1–

3 receptor, TrkA: Tropomyosin receptor kinase A, H1R-H4R: Histamine receptor type 1–4, CGRP-R: Calcitonin gene-related peptide receptor, MRGPRX2/MrgX2: Mas-related G protein-coupled X2 receptor, VPAC-1R: vasoactive intestinal peptide receptor)

Một số nghiên cứu chứng minh vai trò của SP trong MĐMTTP:

Thí nghiệm tiêm SP trong da của Borici-Mazi và cs. trên 9 NB MĐMTTP và nhóm chứng khỏe mạnh đều tạo phản ứng sẩn phù và những sẩn phù này đều bị ức chế bằng AH1. Sẩn phù gây ra bởi tiêm SP trong da có kích thước lớn hơn và tồn tại lâu hơn ở NB MĐMTTP so với nhóm chứng khỏe mạnh. Kết quả này gợi ý rằng SP hoạt hóa tế bào mast ở da gây giải phóng histamin.⁹²

Năm 2004, Tedeschi và cs. đo nồng độ SP trong 117 mẫu huyết thanh MĐMTTP và 24 người khỏe mạnh. Kết quả cho thấy không có sự khác biệt giữa nhóm MĐMTTP ($221,94 \pm 17,28$ pg/mL) và nhóm chứng khỏe mạnh ($290,29 \pm 41,36$ pg/mL), giữa nhóm có ASST dương tính và âm tính hoặc trên thử nghiệm BHRA. Tuy nhiên, nồng độ SP huyết thanh rất cao (từ 910 đến 1100 pg/mL) đã được quan sát thấy ở 3 trong số 75 NB có ASST dương tính và BHRA âm tính, cho thấy rằng SP có thể liên quan tích cực đến cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP trong một vài trường hợp.⁹³ Như vậy, mặc dù nghiên cứu này đã cung cấp bằng chứng cho thấy SP không phải là yếu tố giải phóng histamine chủ chốt cho đa số NB MĐMTTP, nhưng những hạn chế về mặt đo lường tại chỗ và dược động học của SP là những yếu tố cần được cân nhắc khi diễn giải kết quả. Để khẳng định chắc chắn vai trò của SP, cần thực hiện các thử nghiệm sử dụng chất đối kháng thụ thể SP đặc hiệu để xem chúng có ức chế được phản ứng ASST hay hoạt động của bệnh hay không.

Nghiên cứu của Metz và cs. năm 2014 lại ghi nhận sự khác biệt về nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP (491 ± 24 pg/mL) và nhóm chứng khỏe mạnh (105 ± 28 pg/mL) ($p < 0,05$). Lý giải sự khác biệt về kết quả của nghiên cứu này với nghiên cứu của Tedeschi, Metz cho rằng có thể liên quan đến quá trình thu thập và xử lý mẫu máu (do điều này ảnh hưởng đến sự thoái hóa của SP) và do sự khác biệt trong tiêu chuẩn lựa chọn mẫu. Metz cũng chỉ ra rằng nồng độ SP có liên quan trực tiếp đến mức độ hoạt động của MĐMTTP được đo bằng thang điểm UAS7. Tất cả 4

NB MĐMTTP nặng đều có nồng độ SP rất cao > 800 ng/mL mà hoàn toàn không có ở nhóm nhẹ và nhóm người khỏe mạnh. Nồng độ SP không bị ảnh hưởng bởi các yếu tố như phù mạch, stress, bệnh lý tâm thần như trầm cảm, lo âu...¹⁵ Nghiên cứu này đã củng cố vai trò của SP như một dấu ấn sinh học tiềm năng và một mục tiêu điều trị mới cho MĐMTTP, đồng thời nhấn mạnh tầm quan trọng của quy trình xử lý bệnh phẩm trong xét nghiệm các peptide thần kinh. Tuy nhiên, kết quả của nghiên cứu này chưa thể trả lời liệu SP là yếu tố trực tiếp tham gia vào bệnh sinh hay chỉ là một dấu ấn sinh học đi kèm. Mặc dù có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$), nhưng hệ số tương quan yếu ($r^2 = 0,27$) cho thấy SP chỉ giải thích được một phần sự biến thiên của mức độ hoạt động của bệnh.

Một nghiên cứu khác vào năm 2016 xác nhận sự gia tăng SP lưu hành ở NB MĐMTTP. Đặc biệt, mức SP trong huyết thanh ở 15 NB MĐMTTP cao hơn khoảng 3,5 lần so với trong huyết thanh của 15 đối tượng chứng. Nghiên cứu tương tự tiết lộ rằng tỷ lệ BCAK biểu hiện thụ thể SP và NK-1 tăng rõ rệt trong máu của NB MĐMTTP so với nhóm chứng. Mỗi tương quan tích cực giữa số lượng BCAK và nồng độ SP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP đã được ghi nhận ($p < 0,001$).⁹⁴

Nghiên cứu tại Iran vào năm 2019 trên 87 NB MĐMTTP cho thấy nồng độ SP ở nhóm bệnh cao gấp 2 so với nhóm chứng khỏe mạnh (tương ứng $434,37 \pm 227,917$ pg/mL và $238,21 \pm 116,980$ pg/mL; $p < 0,001$). Khi so sánh nồng độ SP trong nhóm MĐMTTP ở các tiêu chí về giới, độ tuổi, ASST, phù mạch, thời gian diễn biến bệnh, mức độ nặng của bệnh, nhóm tác giả ghi nhận nồng độ SP trong nhóm NB MĐMTTP có ASST dương tính cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm âm tính (tương ứng $483,23 \pm 234,65$ pg/mL và $358,21 \pm 196,98$ pg/mL; $p = 0,012$); trong khi đó, các tiêu chí còn lại sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).¹⁴ Như vậy, nghiên cứu này đã củng cố thêm bằng chứng về việc nồng độ SP tăng cao ở NB MĐMTTP, đặc biệt là ở NB có ASST dương tính, đồng thời khắc phục được một số điểm yếu về cỡ mẫu nhóm chứng và quy trình loại trừ đối tượng so với các nghiên cứu trước đó. Tuy nhiên, với thiết kế cắt ngang, nghiên cứu này chỉ phản ánh nồng độ SP tại một thời điểm nhất định và chưa thể khẳng định chắc chắn mối quan hệ nhân quả giữa SP và bệnh sinh của MĐMTTP.

Nghiên cứu tại Nhật Bản năm 2021 lại cho thấy nồng độ SP không có sự khác biệt giữa nhóm MĐMTTP ($n=151$) và nhóm chứng khỏe mạnh ($n=114$) ($p > 0,05$), nhưng có mối liên quan với điểm UAS7 (hệ số tương quan Spearman là 0,18; $p = 0,043$).¹⁶ Nghiên cứu này có cỡ mẫu đủ lớn để đảm bảo tính đại diện và độ tin cậy cho các so sánh thống kê. Mặc dù tìm thấy mối liên quan giữa nồng độ SP và điểm UAS7, nhưng nghiên cứu này vẫn mang tính chất cắt ngang, cần thêm các nghiên cứu can thiệp hoặc theo dõi dọc để khẳng định hoàn toàn vai trò của SP trong thực tế lâm sàng.

Đánh giá riêng về nồng độ SP trong nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1 có điểm UAS7 > 20 , tác giả Asero ghi nhận không có sự khác biệt về nồng độ SP giữa nhóm này với nhóm chứng khỏe mạnh, đồng thời cũng không có sự khác biệt giữa các nhóm MĐMTTP đáp ứng sớm (171 [52–581] pg/mL), đáp ứng muộn (235 [46–1114] pg/mL) và không đáp ứng (119 [20–321] pg/mL) với omalizumab ($p > 0,05$). Một điều thú vị là có sự gia tăng nồng độ SP ở cả 3 nhóm MĐMTTP sau 1 tuần điều trị bằng omalizumab.⁷¹ Hiện tượng này cũng được ghi nhận bởi hai nghiên cứu khác tại Thổ Nhĩ Kỳ.^{95,96} Nhóm tác giả cho rằng vì SP kích hoạt tế bào mast thông qua MRGPRX2 nên việc điều hòa giảm chức năng tế bào mast gián tiếp bằng omalizumab có thể gây giải phóng SP khỏi thụ thể MRGPRX2 và làm tăng nồng độ SP trong máu.

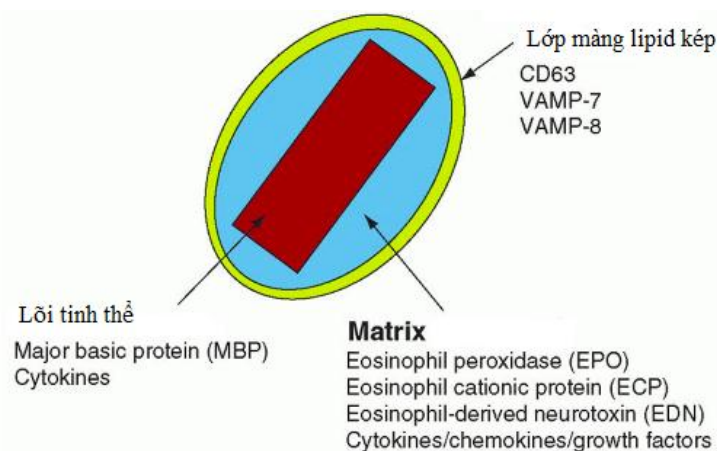
Đánh giá về sự ảnh hưởng của AH1 với nồng độ SP, năm 2014 Basak và cs. nhận thấy cetirizine 10 mg/ngày hoặc loratadin 10 mg/ngày trong 7 ngày đều không làm thay đổi nồng độ SP trong huyết thanh NB MĐMT nhưng làm thay đổi nồng độ các peptid thần kinh khác như VIP (vasoactive intestinal peptide), yếu tố tăng trưởng thần kinh NGF (nerve growth factor)...⁹⁷ Đây là nghiên cứu đầu tiên chứng minh sự tương tác giữa AH1 và các peptide thần kinh, nhưng cỡ mẫu nhỏ ($n=38$) có thể làm giảm sức mạnh thống kê khi so sánh giữa các nhóm. Hơn nữa, thời gian theo dõi ngắn và thiếu dữ liệu về các liều AH1 cao nên có thể không phản ánh được những thay đổi dài hạn hoặc sự ổn định của nồng độ các peptide trong quá trình điều trị kéo dài. Cần thêm các nghiên cứu để làm rõ tác động của các liều lượng và thời gian điều trị khác nhau lên nồng độ peptide thần kinh.

Như vậy, mặc dù SP đã được chứng minh là chất chủ vận quan trọng gây giải phóng hạt tế bào mast theo con đường không phụ thuộc IgE bằng cách hoạt hóa MRGPRX2, nhưng nồng độ SP huyết thanh trong MĐMTTP giữa các nghiên cứu trên thế giới không có sự tương đồng. Một trong các nguyên nhân của sự khác biệt này có thể liên quan đến sự khác biệt về chủng tộc và tiêu chuẩn lựa chọn mẫu nghiên cứu. Tại Việt Nam chưa có bất kỳ nghiên cứu nào tìm hiểu về nồng độ SP trong MĐMTTP. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi sẽ cung cấp thêm dữ liệu trên người Việt Nam và góp phần hoàn thiện thêm bức tranh về nồng độ SP trong MĐMTTP.

1.4. MBP và EPO

1.4.1. Nguồn gốc của MBP và EPO

MBP (Major Basic Protein) và EPO (Eosinophil Peroxidase) đều là các protein có trong hạt bào tương của BCAT nhưng nằm ở các vị trí khác nhau: MBP nằm ở lõi tinh thể, EPO nằm ở phần matrix (hình 1.13).^{98,99}

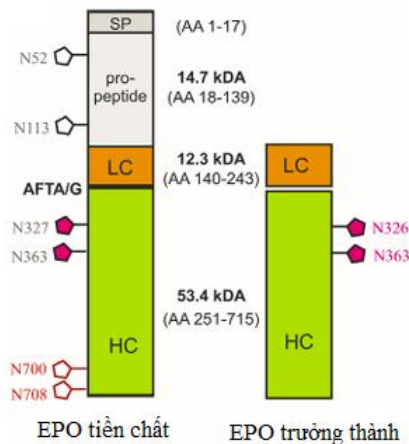


Hình 1.13: Cấu trúc của hạt thứ cấp của BCAT.⁹⁸

MBP được đặt tên theo những phát hiện từ BCAT ở chuột lang, là protein chủ yếu được tìm thấy ở trong các hạt bài tiết thứ cấp. MBP tồn tại dưới dạng hai protein riêng biệt, được gọi là MBP1 (có trong BCAT và BCAK) và MBP2 (chỉ có trong BCAT). Trong đó, MBP1 là dạng chiếm ưu thế, có trọng lượng phân tử là 14 kDa với 117 axit amin. Chất này được tổng hợp ban đầu ở dạng tiền chất và trải qua quá trình thủy phân trong quá trình đóng gói hạt để tạo hạt trưởng thành trong bào

tương của BCAT. Dạng tiền chất có tính axit cao và giàu glutamic. Dạng tiền chất này giúp BCAT tránh bị tổn thương trong quá trình di chuyển từ thể Golgi vào các hạt thứ cấp. Điều thú vị là dạng tiền chất không có ở BCAT trưởng thành. Cơ chế chính xác khởi phát thủy phân dạng tiền chất MBP thành MBP vẫn chưa được biết rõ, có thể liên quan đến IL-5. Gen chịu trách nhiệm sản xuất MBP nằm trên nhiễm sắc thể số 11.^{99,100}

EPO là một protein giàu điện tích dương với 568 axit amin, có cấu trúc gồm hai chuỗi hemoprotein: chuỗi nặng (HC: Heavy Chain) có trọng lượng phân tử là 53,4 kDa và chuỗi nhẹ (LC: Light Chain) là 12,3 kDa, được tạo ra sau khi thủy phân tiền chất là protein chuỗi đơn dài 715 axit amin (hình 1.14).^{101,102} Gen chịu trách nhiệm sản xuất EPO nằm trên nhiễm sắc thể số 17. Phân tích trình tự axit amin cho thấy EPO có sự tương đồng tới 70% với myeloperoxidase và các peroxidase khác cùng nhóm.¹⁰²



Hình 1.14: Cấu trúc phân tử của EPO tiền chất và EPO trưởng thành.¹⁰²

1.4.2. Vai trò sinh lý và bệnh lý của MBP và EPO

MBP có tác dụng gây độc với tế bào giun sán, vi khuẩn và động vật có vú thông qua một số con đường như tăng tính thấm của màng, phá vỡ lớp kép lipid của tế bào,^{98,103} tăng giải phóng histamin bằng cách kích thích tế bào mast và BCAT, tăng cường sự hình thành superoxid trong đại thực bào phế nang.⁹⁸

MBP tham gia vào quá trình bảo vệ vật chủ và chống viêm thông qua một phương pháp riêng biệt là bắt DNA ngoại bào. Bắt ngoại bào BCAT (EET:

Eosinophil extracellular traps) là một cơ chế miễn dịch bẩm sinh, được hình thành từ DNA ti thể do tế bào giải phóng, kết hợp với các protein trong hạt BCAT, bao gồm MBP, để tạo thành một mạng lưới có khả năng liên kết và tiêu diệt vi khuẩn.¹⁰⁴

MBP cũng ảnh hưởng đến hoạt động thần kinh, có trách nhiệm tăng cường co thắt phế quản do dây thần kinh phế vị gây ra vì MBP là chất đối kháng dị lập của thụ thể M2 ức chế. Các nghiên cứu đã chỉ ra rằng việc trung hòa MBP bằng các chất đa anion hoặc bằng kháng thể đối với MBP có thể ngăn ngừa rối loạn chức năng thụ thể M2 và co thắt phế quản.¹⁰⁵

EPO chỉ được sản xuất bởi BCAT.¹⁰⁶ Hoạt động sinh học của phân tử này một phần liên quan đến hoạt động peroxidase của nó và một phần liên quan đến các đặc tính khác của phân tử. Peroxidase xúc tác các phản ứng halid hóa dẫn đến sự hình thành các hypohalide tác dụng kéo dài, chẳng hạn như axit hypobromous, quá trình oxy hóa thiocyanate và nitrat hóa tyrosine. Các gốc này có thể tác động lên màng tế bào và tham gia vào các phản ứng phòng vệ chống lại nhiều loại vi khuẩn.^{102,107} Trong môi trường pH axit, EPO ít có khả năng tạo HOCl, do đó quá trình oxy hóa clorua trong cơ thể sống hầu như không có ý nghĩa.¹⁰⁸

Với vai trò sinh lý và bệnh lý kể trên, nồng độ MBP và EPO huyết thanh được ghi nhận tăng cao ở một số bệnh lý liên quan đến BCAT so với người khỏe mạnh như viêm mũi dị ứng,¹⁰⁹ hen phế quản,¹¹⁰ hội chứng tăng bạch cầu ái toan.¹¹¹

1.4.3. Các nghiên cứu về MBP và EPO trong MĐMTTP

BCAT bị hóa ứng động vào da trong MĐMTTP bởi các cytokin của tế bào mast như IL-5, eotaxin 1 và 2, PAF (Platelet Activating Factor: yếu tố hoạt hóa tiểu cầu), GM-CSF (Granulocyte macrophage colony-stimulating factor: yếu tố kích thích dòng tế bào hạt). Đồng thời, chính IL-5 và eotaxin cũng gây giáng hạt BCAT tại da, giải phóng các protein trong hạt.³

Các protein trong hạt BCAT, đặc biệt là MBP, đã được chứng minh có trong các mẫu sinh thiết tổn thương da của NB MĐMT bởi Peters và cs.¹¹² Sau đó, Toyoda và cs. đã ghi nhận rằng các tổn thương sẩn phù kéo dài thì có sự lắng đọng nhiều hơn các hạt của BCAT.¹¹³ Những nghiên cứu ban đầu này đặt ra giả thuyết về vai trò của các protein BCAT trong việc duy trì tổn thương sẩn phù của MĐMTTP.

O'Donnell và cs. đã chứng minh MBP có tác dụng gây giải phóng histamin đối với BCAA của người và tế bào mast phúc mạc chuột.¹¹⁴ Okayama và cs. gợi ý vị trí tác động trên tế bào mast ở da của MBP tương tự như SP.¹¹⁵ Phải đến năm 2014, cơ chế và thụ thể tác động của MBP trên tế bào mast da người mới được xác định rõ là MRGPRX2.¹⁰ Khi phân cắt MBP bằng tryptase, Ogasawara và cs. ghi nhận đoạn peptid MBP 99-110 gây giáng hạt tế bào mast theo cơ chế MRGPRX2 với tỉ lệ cao nhất và cho rằng các đoạn peptid nhỏ được phân cắt từ MBP mới là yếu tố khuếch đại mới góp phần tăng cường hoạt hóa tế bào mast thông qua thụ thể MRGPRX2.¹¹⁶

EPO gây giáng hạt tế bào mast theo cả hai con đường phụ thuộc và không phụ thuộc IgE. EPO vừa là chất chủ vận của MRGPRX2 vừa là tự kháng nguyên của tự kháng thể IgE kháng EPO.^{10,117} Nghiên cứu của Sanchez và cs. trên 56 NB MĐMTTP và 60 người khỏe mạnh cho thấy nồng độ IgE kháng EPO trong nhóm MĐMTTP mức độ nặng ($UAS7 \geq 28$) lên tới 11%, cao hơn nhóm khỏe mạnh (3,3%) ($p < 0,001$). Điều đặc biệt là EPO còn có khả năng phản ứng chéo với tự kháng thể IgE kháng TPO, nồng độ IgE kháng EPO có mối liên quan thuận với nồng độ IgE kháng TPO ($r = 0,54$; $p < 0,001$).¹¹⁷

Đánh giá nồng độ của MBP và EPO trong huyết thanh NB MĐMTTP, nghiên cứu của Khanna và cs. năm 2022, trên 11 mẫu huyết thanh MĐMTTP và 1 mẫu chứng người khỏe mạnh cho thấy nồng độ hai protein này đều tăng cao trong nhóm bệnh (tương ứng là 1329,23 ng/mL và 54,96 ng/mL) so với nhóm chứng (tương ứng là 399,55 ng/mL - không phát hiện được) ($p < 0,05$). Tuy nhiên, nồng độ hai protein này không có mối liên quan với số lượng BCAT máu ngoại vi cũng như điểm UAS7. Những kết quả này cho thấy mặc dù có sự giáng hạt của BCAT trong MĐMTTP, nhưng sự giáng hạt này có thể không phản ánh mức độ nặng của bệnh.¹⁷

Hiện tại chưa có một nghiên cứu nào xác định mối liên quan giữa nồng độ EPO và MBP với đáp ứng điều trị trong MĐMTTP. Tuy nhiên, thử nghiệm lâm sàng pha 2b ARROYA Trial D3259C00001 cho thấy Benralizumab không đạt được mục tiêu giảm điểm UAS7 tại tuần 12 so với giả dược ($p > 0,05$) trên nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1. Benralizumab là một kháng thể đơn dòng gắn với thụ thể của IL-

5 trên màng BCAT, làm mất tác dụng của IL-5 đối với BCAT và gây chết tế bào này. Kết quả của nghiên cứu này cho thấy dù loại bỏ hoàn toàn BCAT (tức là loại bỏ hoàn toàn các protein của BCAT) thì cũng không đạt hiệu quả điều trị MĐMTTP kháng trị với AH1.³⁷ Điều này gián tiếp phản ánh không có mối liên quan giữa nồng độ EPO và MBP với đáp ứng điều trị bằng AH1 trong MĐMTTP.

Tại Việt Nam chưa có bất kỳ nghiên cứu nào tìm hiểu về nồng độ MBP và EPO trong MĐMTTP. Do đó, nghiên cứu của chúng tôi sẽ cung cấp thêm dữ liệu trên người Việt Nam, góp phần hoàn thiện thêm bức tranh về nồng độ hai chất này trong MĐMTTP và có thể đưa ra lý do cho sự thất bại của các thuốc nhắm đích vào BCAT trong MĐMTTP kháng trị với sgAH1.

CHƯƠNG 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Đối tượng nghiên cứu của mục tiêu 1

Đối tượng nghiên cứu bao gồm 120 người bệnh được chẩn đoán mắc bệnh mày đay mạn tính tự phát đến khám, điều trị tại Bệnh viện Da liễu Trung ương và 30 người khỏe mạnh.

a. Nhóm bệnh

* Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Người bệnh được chẩn đoán xác định là MĐMTTP
- Người bệnh không sử dụng thuốc kháng histamin H1 trong tối thiểu 05 ngày, thuốc ức chế miễn dịch (corticoid đường toàn thân, ciclosporin...) trong tối thiểu 4 tuần, một số thuốc khác như kháng viêm NSAIDs, kháng sinh... trong 1 tuần trước khi lưu mẫu huyết thanh lần thứ nhất
- Người bệnh từ 16 tuổi trở lên
- Một người bệnh được chọn vào nghiên cứu 1 lần
- Đồng ý tham gia nghiên cứu

* Cơ sở chẩn đoán mày đay mạn tính tự phát:

Người bệnh được chẩn đoán MĐMTTP theo tiêu chuẩn của EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI²:

- Tổn thương cơ bản là các sẩn phù màu hồng tươi hoặc hồng nhạt, kích thước khác nhau, có thể liên kết thành mảng lớn, bờ đa cung, ranh giới rõ với da lành ở bất kỳ vị trí nào, tồn tại và mất đi trong vòng 24 giờ, không để lại dấu vết. Cơ năng: ngứa ở vùng có tổn thương hoặc sắp có tổn thương.
- Thời gian mắc bệnh: kéo dài hơn 6 tuần.
- Có thể đi kèm phù mạch hoặc không.
- Không xác định được nguyên nhân gây mày đay: thuốc, nhiễm trùng, thức ăn, kích thích khác (vật lý và không vật lý)...

*** Tiêu chuẩn loại trừ: (Xác định bằng khai thác bệnh sử và thăm khám lâm sàng)**

- Người bệnh đang mắc các bệnh cấp tính khác.
- Bất kỳ bệnh da nào gây ngứa mạn tính có thể ảnh hưởng đến đánh giá và kết quả của nghiên cứu như viêm da cơ địa, pemphigoid bong nước, sẩn ngứa ở người già, vẩy nến, mày đay sắc tố...
- Các bệnh lý làm tăng nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO trong huyết thanh như hen phế quản,^{63,110} viêm mũi dị ứng,^{64,109} hội chứng tăng bạch cầu ái toan,¹¹¹ trầm cảm nặng,⁸² Parkinson,⁸³ viêm khớp dạng thấp,⁸⁴ bệnh hồng cầu hình liềm.⁸⁵
- Phụ nữ có thai hoặc cho con bú.

b. Nhóm chứng

Gồm 30 người khỏe mạnh (NC: Normal Control) với tiêu chuẩn lựa chọn: không có tiền sử bệnh lý cơ địa (viêm da cơ địa, viêm mũi dị ứng, hen phế quản, viêm kết mạc mùa xuân), không có tiền sử các bệnh lý dị ứng hay ngứa mạn tính, không bị các bệnh lý nhiễm khuẩn hay các bệnh lý nội, ngoại khoa khác, thỏa mãn tiêu chuẩn về thời gian không dùng thuốc trước khi lưu mẫu huyết thanh như nhóm bệnh (Xác định bằng khai thác bệnh sử, thăm khám lâm sàng và đối chiếu hồ sơ sức khỏe, xác nhận các xét nghiệm cơ bản trong 6 tháng gần nhất đều có chỉ số trong giới hạn bình thường, đặc biệt là số lượng bạch cầu ái toan trong máu ngoại vi).

2.1.2. Đối tượng nghiên cứu của mục tiêu 2:

Toàn bộ NB MĐMTTP ở mục tiêu 1 có điểm UAS7 ≥ 28 (MĐMTTP nặng) và không có tiền sử đã điều trị bằng bilastin.

*** Cơ sở chẩn đoán mày đay mạn tính tự phát nặng:**

NB được chẩn đoán MĐMTTP theo tiêu chuẩn của EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI đã trình bày ở mục tiêu 1 và có điểm số hoạt động UAS7 ≥ 28 điểm. Điểm UAS7 bằng tổng điểm ngứa và điểm sẩn phù trong 7 ngày liên tiếp. Điểm ngứa mỗi ngày được tính từ 0 đến 3 điểm: 0 điểm (không ngứa), 1 điểm (ngứa nhẹ), 2 điểm (ngứa vừa, gây khó chịu nhưng không ảnh hưởng đến hoạt động hàng ngày), 3 điểm (rất ngứa, gây ảnh hưởng đến giấc ngủ hoặc hoạt động hàng ngày). Điểm sẩn phù cũng được tính theo mức điểm tương ứng: 0 điểm (không có sẩn phù), 1 điểm (< 20 sẩn phù/24 giờ), 2 điểm (20-50 sẩn phù/24 giờ), 3 điểm (> 50 sẩn phù/24 giờ hoặc một vùng da lớn bị sẩn phù).^{26,27}

2.2. Thời gian và địa điểm nghiên cứu:

- Thời gian: từ 1/2024 đến 09/2025. Trong đó, thu tuyển đối tượng tham gia nghiên cứu từ 01/03/2024 đến 30/09/2024.
- Địa điểm: Phòng khám chuyên đề mày đay và mày đay mạn tính, Khoa Khám bệnh, Bệnh viện Da liễu Trung ương.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Thiết kế nghiên cứu

- Mục tiêu 1: mô tả cắt ngang
- Mục tiêu 2: thuần tập (theo dõi dọc ngắn hạn trong nhóm MĐMTTP nặng)

2.3.2. Cỡ mẫu và chọn mẫu

Các đối tượng được chọn vào mẫu nghiên cứu theo phương pháp chọn mẫu có chủ đích theo trình tự thời gian.

Mục tiêu 1:

Cỡ mẫu được tính theo công thức xác định sự khác biệt về nồng độ trung bình của MRGPRX2 huyết thanh giữa hai nhóm MĐMTTP nặng và không nặng:

$$n = 2 \left(\frac{Z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 \sigma^2}{d^2} \right)$$

Trong đó n là cỡ mẫu tối thiểu cho mỗi nhóm cần có

$Z_{1-\alpha/2}$ (hệ số tin cậy) là giá trị từ phân bố chuẩn, được tính dựa trên mức ý nghĩa thống kê. Chọn $\alpha = 0,05$; ta có $Z_{1-\alpha/2} = 1,96$.

σ là độ lệch chuẩn chung của hai nhóm, được tính bằng công thức sau:

$$\sigma = \sqrt{\frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}$$

n_1, n_2, s_1, s_2 : cỡ mẫu và độ lệch chuẩn của nhóm MĐMTTP mức độ nặng và không nặng. Do nghiên cứu của Cao và cs không cung cấp độ lệch chuẩn nên chúng tôi áp dụng công thức tính độ lệch chuẩn dựa trên tứ phân vị thứ 1 và thứ 3:¹¹⁸

$$S \approx \frac{q_3 - q_1}{1.35}.$$

Chúng tôi tính được $s_1 = 10,4$ và $s_2 = 10,6$. Do đó $\sigma^2 = 111,7$

d là mức sai số chấp nhận (khoảng sai lệch cho phép giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh thu được từ mẫu nghiên cứu và tham số của quần thể theo mong muốn của người nghiên cứu). Chúng tôi chọn $d = 3,8$ ng/mL.

Dựa trên nghiên cứu của Cao và cs,¹¹ chúng tôi tính được $n = 59,4$.

Nghiên cứu tiến hành thu nhận mẫu liên tục cho đến lúc đạt được n tối thiểu cho mỗi nhóm MĐMTTP nặng và không nặng là 60 NB. Do nhóm chúng chỉ đóng vai trò là mốc tham chiếu cơ bản về sinh lý và hạn chế về kinh phí xét nghiệm, nên chúng tôi lấy tỉ lệ nhóm bệnh: nhóm chúng là 2:1. Vì vậy, chúng tôi thu thập thêm 30 mẫu huyết thanh người khỏe mạnh là nhóm chúng.

Mục tiêu 2:

Do chưa có nghiên cứu nào xác định mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong MĐMTTP nặng và sự khác biệt về nồng độ chất này giữa các nhóm đáp ứng điều trị, nên chúng tôi lấy toàn bộ cỡ mẫu nhóm MĐMTTP nặng ở mục tiêu 1 là cỡ mẫu cho mục tiêu 2 ($n = 60$).

2.3.3. Biến số và chỉ số nghiên cứu

Bảng 2.1: Các biến số nghiên cứu

TT	Biến số	Định nghĩa/Cách tính	Phân loại
1. Thông tin chung về đặc điểm người bệnh			
1.	Tuổi	Tính theo tuổi dương lịch	Liên tục
2.	Giới tính	Giới tính của người bệnh	Nhị phân
3.	Thời gian diễn biến bệnh	Số tuần từ khi có tổn thương sẩn phù đến thời điểm thu tuyển vào nghiên cứu	Liên tục
4.	Phù mạch	Tình trạng sưng phù sâu đột ngột, rõ rệt ở lớp hạ bì và mô	Nhị phân

TT	Biến số	Định nghĩa/Cách tính	Phân loại
		dưới da hoặc niêm mạc, có màu đỏ hoặc màu da, triệu chứng cơ năng là nóng rát, căng tức và đôi khi đau thay vì ngứa, thường kéo dài hơn so với sẩn phù (có thể mất tới 72 giờ).	
5.	Test huyết thanh tự thân ASST	Hiệu đường kính sẩn phù tại thời điểm sau 30 phút được tạo bởi vị trí tiêm trong da 0,05 mL huyết thanh tự thân và vị trí tiêm trong da 0,05 mL nước muối sinh lý. Dương tính khi hiệu $\geq 1,5$ mm	Nhị phân
6.	Kết quả xét nghiệm CRP	Giá trị xét nghiệm CRP thu được sau xét nghiệm	Liên tục
7.	Phân loại nồng độ CRP	Phân loại nồng độ CRP dựa trên ngưỡng 5 mg/L	Nhị phân
8.	Kết quả xét nghiệm IgE toàn phần	Giá trị xét nghiệm IgE toàn phần thu được sau xét nghiệm	Liên tục
9.	Phân loại nồng độ IgE toàn phần	Phân loại nồng độ IgE toàn phần dựa trên ngưỡng 100 UI/mL	Nhị phân
10.	Kết quả xét nghiệm số lượng BCAT	Giá trị tuyệt đối số lượng BCAT thu được sau xét nghiệm	Liên tục
11.	Phân loại số lượng BCAT	Phân loại số lượng BCAT dựa trên ngưỡng $0,05 \times 10^9$ tế bào/L	Nhị phân
12.	Kết quả xét nghiệm số lượng BCAF	Giá trị tuyệt đối số lượng BCAF thu được sau xét nghiệm	Liên tục
13.	Phân loại số lượng BCAF	Phân loại số lượng BCAF dựa trên ngưỡng $0,01 \times 10^9$ tế bào/L	Nhị phân

TT	Biến số	Định nghĩa/Cách tính	Phân loại
14.	Kết quả xét nghiệm IgG kháng TPO (Thyroid Peroxidase)	Giá trị xét nghiệm IgG kháng TPO thu được sau xét nghiệm	Liên tục
15.	Phân loại nồng độ IgG kháng TPO	Phân loại nồng độ IgG kháng TPO dựa trên ngưỡng 34 U/mL	Nhị phân
2. Mục tiêu 1: Xác định mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh mày đay mạn tính tự phát			
16.	Điểm hoạt động bệnh UAS7	Tổng điểm ngứa và điểm sẵn phù trong 7 ngày liên tục	Liên tục
17.	Phân bố mức độ nặng của bệnh dựa theo thang điểm UAS7	Phân loại mức độ nặng của bệnh theo UAS7	Phân loại
18.	Kết quả xét nghiệm MRGPRX2 trước điều trị	Giá trị xét nghiệm MRGPRX2 thu được sau xét nghiệm	Liên tục
19.	Kết quả xét nghiệm SP trước điều trị	Giá trị xét nghiệm SP thu được sau xét nghiệm	Liên tục
20.	Kết quả xét nghiệm MBP trước điều trị	Giá trị xét nghiệm MBP thu được sau xét nghiệm	Liên tục
21.	Kết quả xét nghiệm EPO trước điều trị	Giá trị xét nghiệm EPO thu được sau xét nghiệm	Liên tục
3. Mục tiêu 2: Xác định mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng			
22.	Điểm kiểm soát bệnh UCT	Tổng điểm của 4 câu hỏi xác định mức độ kiểm soát bệnh	Liên tục

TT	Biến số	Định nghĩa/Cách tính	Phân loại
23.	Phân bố mức độ kiểm soát bệnh dựa theo thang điểm UCT	Phân loại kiểm soát bệnh theo UCT	Phân loại
24.	Kết quả xét nghiệm MRGPRX2 sau điều trị	Giá trị xét nghiệm MRGPRX2 thu được sau xét nghiệm	Liên tục
25.	Kết quả xét nghiệm SP sau điều trị	Giá trị xét nghiệm SP thu được sau xét nghiệm	Liên tục
26.	Kết quả xét nghiệm MBP sau điều trị	Giá trị xét nghiệm MBP thu được sau xét nghiệm	Liên tục
27.	Kết quả xét nghiệm EPO sau điều trị	Giá trị xét nghiệm EPO thu được sau xét nghiệm	Liên tục

2.3.4. Vật liệu nghiên cứu

- Trang thiết bị nghiên cứu
- +Máy xét nghiệm sinh hóa, huyết học, máy rửa ELISA BioTek, máy đọc ELISA đa bước sóng Biotek ELX 808 (phụ lục 2).
- +Phương tiện thử nghiệm máy day vật lý: máy chạy bộ, cục đá inox, Temptest, Frictest.
- +Bộ dụng cụ làm thử nghiệm da với huyết thanh tự thân
- +Bộ dụng cụ thu thập và lưu trữ mẫu huyết thanh
- +Bộ kit đo nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO bằng thử nghiệm miễn dịch hấp thụ liên kết men ELISA của hãng MyBioSource, Inc., San Diego, CA, USA.
- +Bộ câu hỏi thu thập số liệu: phiếu bệnh án nghiên cứu (Phụ lục 1)
- Thuốc sử dụng trong nghiên cứu: bilastin, biệt dược Bilaxten 20 mg. Dạng viên nén bao phim, thành phần bilastin 20 mg và tá dược; sản xuất tại công ty Menarini.

2.3.5. Quy trình thu thập số liệu

2.3.5.1. Với mục tiêu 1:

Bước 1: Chẩn đoán và xác nhận đối tượng nghiên cứu

NB đến khám tại phòng khám chuyên đề mày đay, Bệnh viện Da liễu Trung ương, được khai thác bệnh sử và thăm khám lâm sàng, làm các thử nghiệm kích thích gồm: thử nghiệm lạnh bằng cục đá/Temptest, thử nghiệm da vẽ nổi bằng Frictest, thử nghiệm mày đay do cholin bằng xe đạp lực kế và bộ câu hỏi loại trừ mày đay cảm ứng khác. NB MĐMTTP thỏa mãn để đưa vào nghiên cứu là các NB đáp ứng tiêu chuẩn có sẵn phù điển hình kéo dài trên 6 tuần mà không xác định được yếu tố khởi phát đặc hiệu, các thử nghiệm kích thích âm tính.

Nhóm chứng: 30 nhân viên bệnh viện và người nhà bệnh nhân được ghép cặp theo nhóm về tuổi và giới tính với nhóm bệnh, thỏa mãn điều kiện: không có tiền sử bệnh lý cơ địa (viêm da cơ địa, viêm mũi dị ứng, hen phế quản, viêm kết mạc mùa xuân), không có tiền sử các bệnh lý dị ứng hay ngứa mạn tính, không bị các bệnh lý nhiễm khuẩn hay các bệnh lý nội, ngoại khoa khác, thỏa mãn tiêu chuẩn về thời gian không dùng thuốc trước khi lưu mẫu huyết thanh như nhóm bệnh. Các bước ghép cặp: xác định tiêu chuẩn ghép cặp theo tuổi và giới tính, xác định tỉ lệ giới tính và độ tuổi trung bình trong từng nhóm MĐMTTP nặng và không nặng, tìm kiếm nhóm chứng (nhân viên y tế và người nhà người bệnh) theo tiêu chuẩn với tỉ lệ giới tính và độ tuổi tương ứng với nhóm MĐMTTP nặng và không nặng.

Bước 2: Thu thập thông tin cá nhân và tiền sử bệnh

Các thông tin nhân khẩu học như tuổi, giới, thời gian mắc bệnh, triệu chứng phù mạch, tiền sử gia đình và tiền sử bệnh cá nhân được ghi nhận chi tiết theo mẫu bệnh án nghiên cứu.

Bước 3: Xác định mức độ nặng của bệnh mày đay mạn tính tự phát

- Tính điểm UAS7 (Urticaria Activity Score over 7 days) dựa trên 2 chỉ số là điểm ngứa và điểm sẩn phù được chia thành các mức độ từ 0 đến 3 điểm. Điểm UAS7 được tính bằng tổng của điểm UAS trong 7 ngày liên tiếp (Bảng 2.2).²⁶

Bảng 2.2: Điểm UAS7

Điểm	Sẩn phù			Ngứa			
0	Không			Không			
1	Nhẹ (< 20 sẩn phù/24 giờ)			Nhẹ (không gây khó chịu)			
2	Trung bình (20-50 sẩn phù/24 giờ)			Trung bình (gây khó chịu nhưng không ảnh hưởng đến hoạt động hàng ngày)			
3	Nặng (> 50 sẩn phù/24 giờ hoặc một vùng da lớn bị sẩn phù)			Nặng (rất ngứa, gây ảnh hưởng đến giấc ngủ hoặc hoạt động hàng ngày)			
Ngày 1	Ngày 2	Ngày 3	Ngày 4	Ngày 5	Ngày 6	Ngày 7	Tổng

- Phân mức độ bệnh theo UAS7:²⁷
 - o Không nặng: UAS7=0-27.
 - o Nặng: UAS7=28-42.
 - o Lấy đủ số lượng NB theo cỡ mẫu đã tính: 60 NB MĐMTTP không nặng và 60 NB MĐMTTP nặng. Các NB được lấy có điểm trải rộng từ 0 đến 42 điểm.

Bước 4: Thu thập mẫu máu và xét nghiệm

✚ NB được làm đầy đủ các xét nghiệm theo khuyến cáo của EAACI/GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI: công thức máu, CRP, nồng độ IgE toàn phần, IgG kháng TPO và làm test huyết thanh tự thân (ASST: Autologous serum skin test). Lưu mẫu huyết thanh lần 1 theo quy trình của Bệnh viện Da liễu Trung ương.

✚ Quy trình lưu mẫu huyết thanh:

+ Bước 1: Kỹ thuật viên xét nghiệm lấy 2 ml máu của NB vào ống chứa nghiệm không chứa chất chống đông có ghi tên, tuổi, mã nghiên cứu tương ứng của BN.

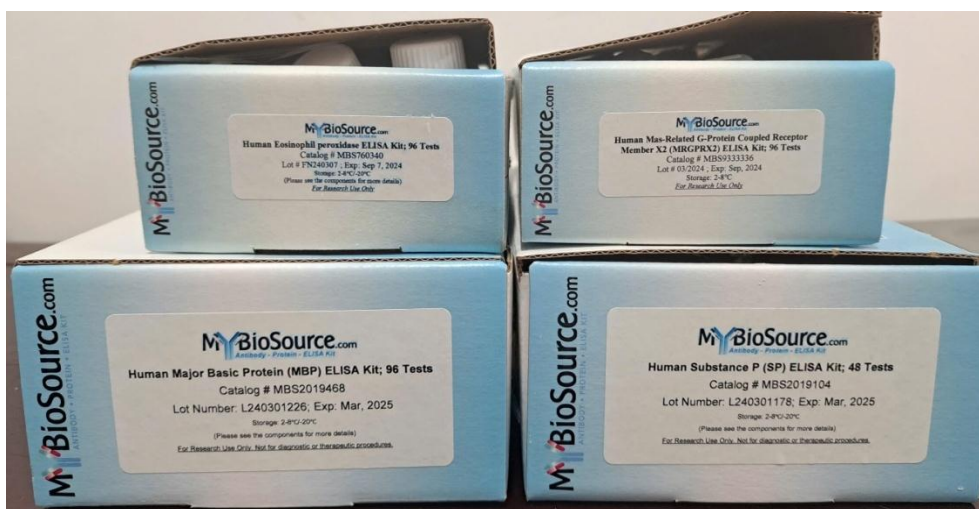
+ Bước 2: Đặt ống nghiệm đựng máu thẳng đứng ở nhiệt độ thường trong 2 giờ để hình thành cục máu đông.

+ Bước 3: Ly tâm mẫu máu với tốc độ 5000 vòng/phút trong 10 phút. Dùng micropipette hoặc pipette nhựa vô trùng hút khoảng 1 ml phần huyết thanh màu vàng nhạt ở phía trên cục máu cho vào ống lưu huyết thanh.

+ Bước 4: Bảo quản ở tủ âm sâu -80°C trong thời gian tối đa 2 tháng.

+ Xét nghiệm định lượng nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO huyết thanh lần thứ 1: các thiết bị, hóa chất được quản lý tại Khoa Sinh hóa- Huyết học-Miễn dịch, Bệnh viện Da liễu Trung ương, bao gồm:

+ Bộ kit hóa chất và sinh phẩm xét nghiệm do hãng MyBioSource, Inc., San Diego, CA, Hoa Kỳ sản xuất (Hình 2.1).

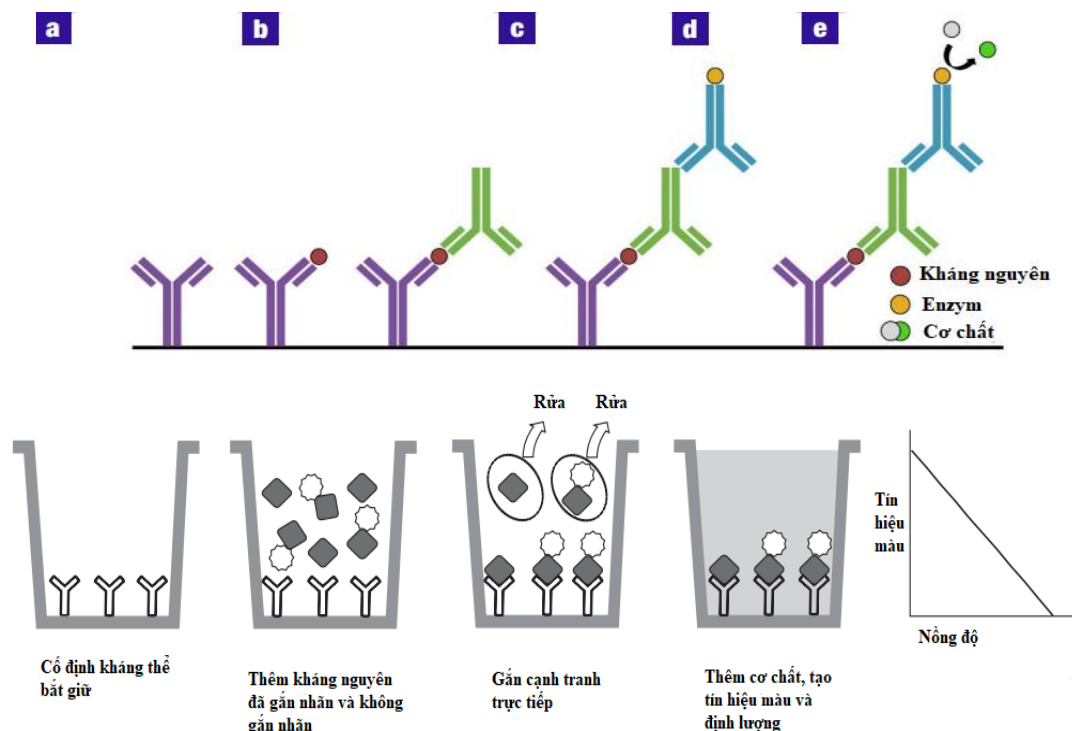


Hình 2.1: Bộ KIT ELISA đo nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO của hãng MyBioSource, Inc., San Diego, CA, Hoa Kỳ

+ Các vật liệu và thiết bị phụ trợ khác như máy rửa, máy đọc ELISA đa bước sóng BioTek, máy lắc, máy hút chân không, các loại pipet, đầu pipet, giấy bạc, giấy thấm, nước cất, ống nghiệm đều đạt tiêu chuẩn quốc tế, được sử dụng thường quy tại Khoa Sinh hóa - Huyết học - Miễn dịch, Bệnh viện Da liễu Trung ương.

+ Nguyên lý xét nghiệm: miễn dịch hấp thụ men (ELISA: Enzyme-linked Immunosorbent Assay), cụ thể là ELISA sandwich đối với MRGPRX2, MBP, EPO và ELISA cạnh tranh với SP. Nguyên lý ELISA Sandwich: Kháng thể bắt giữ (kháng thể kháng MRGPRX2, MBP và EPO) được phủ trước lên đáy giếng. Các mẫu chuẩn và mẫu huyết thanh của NB chứa kháng nguyên mục tiêu (MRGPRX2, MBP và EPO) được thêm vào giếng và gắn với kháng thể bắt giữ. Một kháng thể thứ hai, khác với kháng thể bắt giữ và được đánh dấu bằng enzyme (kháng thể phát hiện), được thêm vào để liên kết với MRGPRX2, MBP và EPO. Sau khi thêm cơ

chất, enzyme sẽ phản ứng và tạo ra tín hiệu màu. Cường độ tín hiệu tỷ lệ thuận với nồng độ MRGPRX2, MBP và EPO trong mẫu. Nguyên lý ELISA cạnh tranh đo nồng độ SP: Một kháng thể đơn dòng đặc hiệu với SP đã được phủ sẵn lên đáy giếng. Phản ứng ức chế cạnh tranh được kích hoạt giữa SP có gắn biotin và SP không gắn nhãn (có trong mẫu chuẩn hoặc mẫu huyết thanh của NB) với kháng thể đã được phủ sẵn đặc hiệu với SP. Sau khi ủ, SP không liên kết được với kháng thể ở đáy giếng được rửa sạch. Tiếp theo, avidin liên hợp với Horseradish Peroxidase (HRP) được thêm vào mỗi giếng và ủ. Lượng liên hợp HRP liên kết tỷ lệ nghịch với nồng độ SP trong mẫu. Sau khi thêm dung dịch cơ chất, cường độ màu hiện ra tỷ lệ nghịch với nồng độ SP trong mẫu (Hình 2.2).



Hình 2.2: Nguyên lý của ELISA sandwich (hình trên) và ELISA cạnh tranh (hình dưới).^{119,120}

+ Quy trình xét nghiệm: Nhóm nghiên cứu tự thực hiện với sự hỗ trợ kỹ thuật của Trưởng khoa TS. Lê Huyền My và Kỹ thuật viên trưởng CN. Nguyễn Thị Phương Hoa - Khoa Sinh hóa - Huyết học - Miễn dịch - Bệnh viện Da liễu Trung ương. Tất cả các bước thực hiện tuân thủ đúng hướng dẫn của nhà sản xuất.

+

MRGPRX2:

Bước 1: Thêm 50µl dung dịch chuẩn (S1, S2, S3, S4, S5, S6) và dung dịch mẫu vào các giếng chuẩn và mẫu tương ứng, trừ giếng trống (blank)

Bước 2: Thêm 100µl thuốc thử liên hợp HRP vào mọi giếng, trừ giếng trống

Bước 3: Đậy đĩa bằng màng đóng kín và ủ trong 60 phút ở 37°C

Bước 4: Rửa tất cả các giếng (bao gồm giếng trống) 4 lần

Bước 5: Thêm 50µl dung dịch Chromogen A vào mỗi giếng

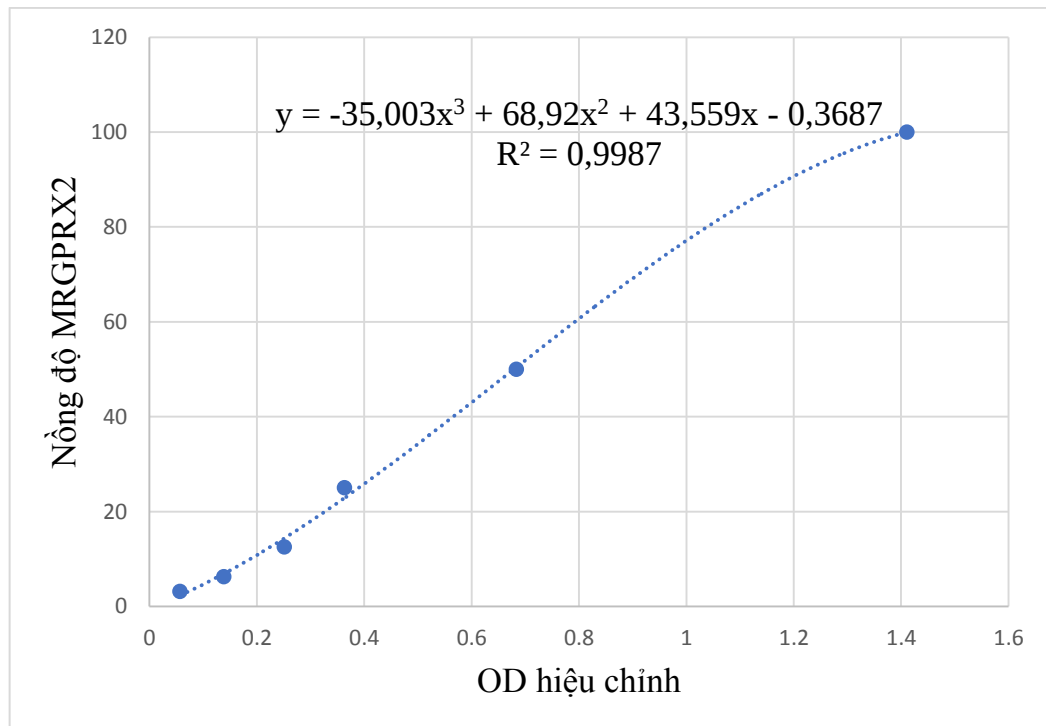
Bước 6: Thêm 50µl dung dịch Chromogen B vào mỗi giếng (tránh ánh sáng)

Bước 7: Trộn nhẹ nhàng và ủ đĩa trong 15 phút ở 37°C (tránh ánh sáng)

Bước 8: Thêm 50µl dung dịch Stop vào mỗi giếng

Bước 9: Đọc mật độ quang học (O.D.) ở bước sóng 450 nm trong vòng 15 phút sau khi thêm dung dịch Stop (khoảng 5 phút thường là thời gian tốt nhất). Đọc 2 lần để tính OD trung bình

Bước 10: Vẽ đường cong chuẩn và tính nồng độ MRGPRX2 huyết thanh (Hình 2.3)



Hình 2.3: Đường cong chuẩn của MRGPRX2

Chất P:

Bước 1: Thêm 50 μL dung dịch chuẩn (Blank, S1 đến S5) và mẫu vào từng giếng.

Bước 2: Thêm ngay 50 μL dung dịch Detection Reagent A đã chuẩn bị sẵn. Lắc và trộn. Ủ 1 giờ ở 37°C ;

Bước 3: Hút và rửa 3 lần; Lật ngược đĩa và thấm trên giấy thấm

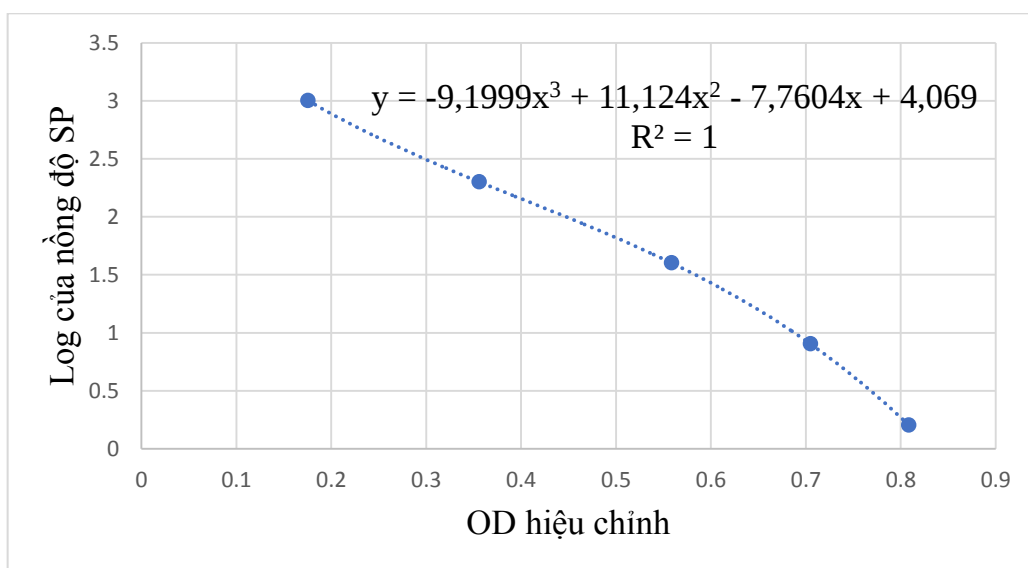
Bước 4: Thêm 100 μL dung dịch Detection Reagent B đã được chuẩn bị sẵn. Ủ trong 30 phút ở 37°C ;

Bước 5: Hút và rửa 5 lần; Lật ngược đĩa và thấm trên giấy thấm

Bước 6: Thêm 90 μL dung dịch TMB. Ủ 10-20 phút ở 37°C ; Tránh ánh sáng

Bước 7: Thêm 50 μL dung dịch Stop. Đọc mật độ quang học (O.D.) ngay lập tức ở bước sóng 450 nm (đọc 2 lần để tính OD trung bình)

Bước 8: Dựng đường cong chuẩn và tính nồng độ SP huyết thanh (Hình 2.4)



Hình 2.4: Đường cong chuẩn của SP

MBP:

Bước 1: Thêm 100 μL dung dịch chuẩn (Blank, S1 đến S7) và mẫu (đã pha loãng theo nồng độ 1/10) vào mỗi giếng. Ủ 1 giờ ở 37°C ; loại bỏ chất lỏng trong từng giếng, không rửa.

Bước 2: Thêm 100 μL dung dịch Detection Reagent A đã được chuẩn bị sẵn. Ủ 1 giờ ở 37°C ;

Bước 3: Hút và rửa 3 lần; Lật ngược đĩa và thấm trên giấy thấm

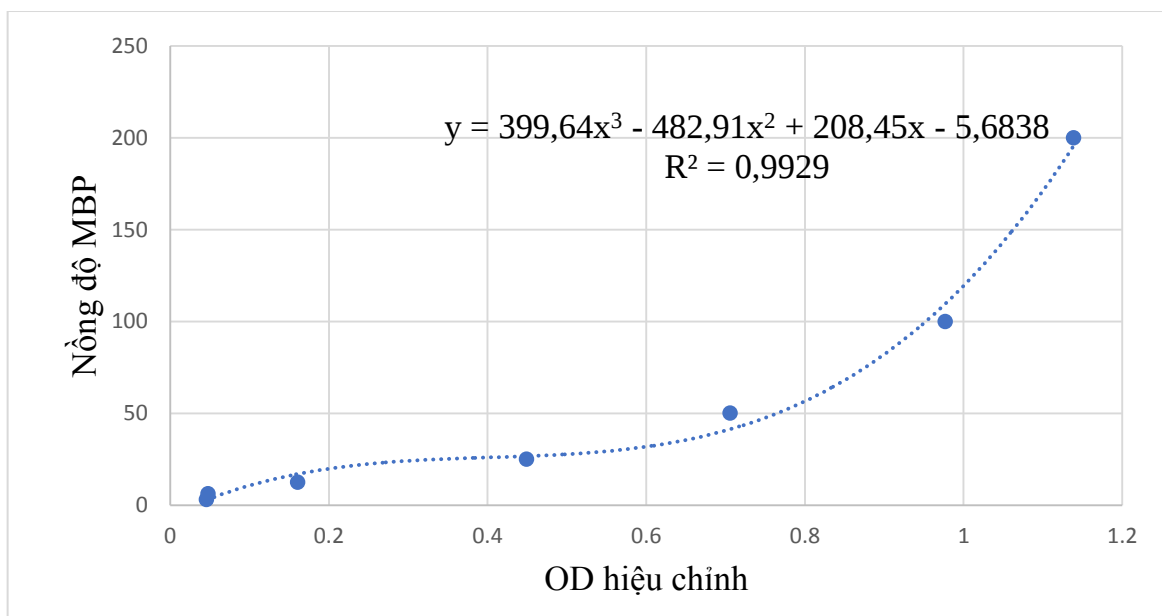
Bước 4: Thêm 100 μL dung dịch Detection Reagent B đã được chuẩn bị sẵn. Ủ trong 30 phút ở 37 °C;

Bước 5: Hút và rửa 5 lần; Lật ngược đĩa và thấm trên giấy thấm

Bước 6: Thêm 90 μL dung dịch cơ chất TMB. Ủ 10-20 phút ở 37°C; (tránh ánh sáng)

Bước 7: Thêm 50 μL dung dịch Stop. Đọc mật độ quang học (O.D.) ngay lập tức ở bước sóng 450nm (Đọc 2 lần để tính OD trung bình)

Bước 8: Vẽ đường cong chuẩn và tính nồng độ MBP huyết thanh (Hình 2.5).



Hình 2.5: Đường cong chuẩn của MBP

EPO:

Bước 1: Thêm 100 μL dung dịch chuẩn (Blank, ống zero, S1, S2, S3, S4) và mẫu (đã pha loãng theo nồng độ 1/5 hoặc 1/10) vào từng giếng, đậy kín đĩa và ủ tĩnh trong 90 phút ở 37°C. Rửa: Rửa tám lần mà không cần ngâm.

Bước 2: Thêm 100 μL dung dịch Biotin labeled antibody vào từng giếng, đậy kín đĩa và ủ tĩnh trong 60 phút ở 37°C. Rửa: Rửa đĩa ba lần và ngâm trong 1 phút mỗi lần.

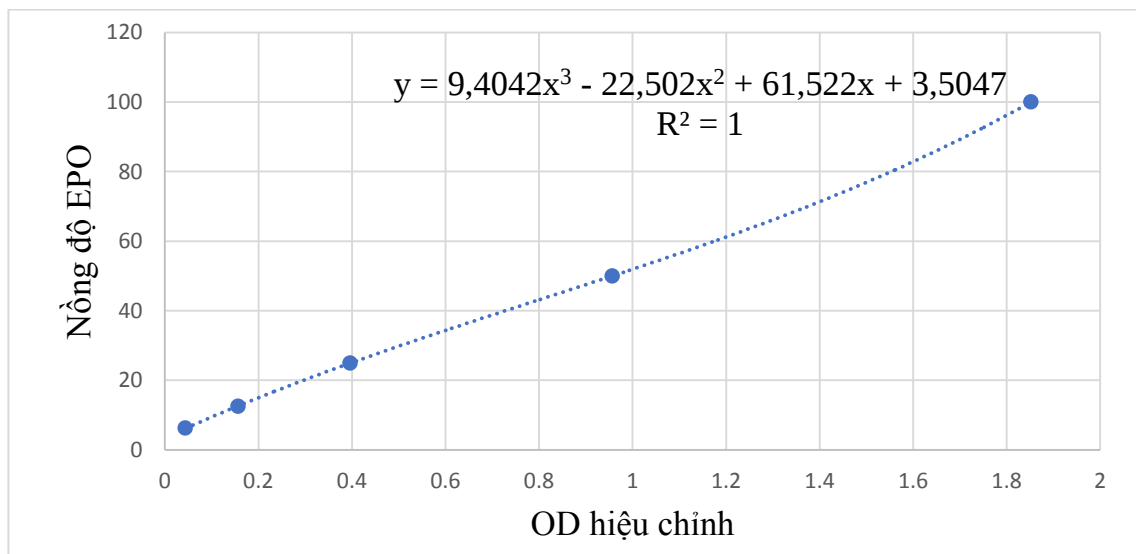
Bước 3: Thêm 100 μL dung dịch SABC vào từng giếng, đậy kín đĩa và ủ tĩnh trong 30 phút ở 37°C. (Cho toàn bộ chai TMB vào tủ ấm 37°C để cân bằng trong 30 phút.)

Rửa: Rửa đĩa năm lần và ngâm trong 1 phút mỗi lần.

Bước 4: Thêm 90 µl dung dịch TMB, đậy kín đĩa và ủ tĩnh trong 10-20 phút ở 37°C.

Bước 5: Thêm 50 µL dung dịch Stop. Đọc mật độ quang học (O.D.) lần thứ 1 ở bước sóng 450 nm. Đọc O.D. lần thứ 2 ở bước sóng 570 nm hoặc 630 nm.

Bước 6: Dựng đường cong chuẩn và tính nồng độ EPO huyết thanh (Hình 2.6).



Hình 2.6: Đường cong chuẩn của EPO

✚ Các chỉ số kiểm soát chất lượng của quy trình thực hiện ELISA:

+ Phạm vi phát hiện của bộ kit: MRGPRX2 (3,12-100 ng/mL), SP (1,6-1000 pg/mL), MBP (3,12-200 ng/mL), EPO (1,562-100 ng/mL).

+ Số giếng và số lần chạy lặp mẫu: Bộ kit được đóng gói theo bộ gồm 48 và 96 giếng. Các giếng này có thể tách rời. 10% mẫu huyết thanh được tiến hành chạy lặp lại lần thứ hai nhằm đảm bảo Inter-assay CV < 10% và Intra-assay CV < 15%, qua đó đảm bảo kỹ năng thao tác và sự ổn định của thiết bị.

+ Quy trình làm mù đối với nghiên cứu viên thực hiện xét nghiệm: tất cả các mẫu huyết thanh đều được mã hóa bởi một kỹ thuật viên độc lập. Nghiên cứu viên thực hiện kỹ thuật ELISA hoàn toàn không được cung cấp thông tin về nhóm bệnh hay nhóm chứng của đối tượng.

+ Số lần đông – rã mẫu: 01 lần (<10% mẫu huyết thanh được rã đông lần thứ hai để chạy lặp đánh giá chỉ số Inter-assay CV).

2.3.5.2. Với mục tiêu 2:

Bước 1: Chẩn đoán và xác nhận đối tượng nghiên cứu

NB MĐMTTP thỏa mãn để đưa vào nghiên cứu là những NB có điểm UAS7 ≥ 28 và chưa từng điều trị bằng bilastin trước đó. NB được điều trị bằng bilastin (biệt dược Bilaxten dạng viên nén bao phim, hàm lượng 20 mg, sản xuất bởi Menarini), liều được phê duyệt là 20 mg/lần/ngày.

Bước 2: Xác định mức độ kiểm soát bệnh và thay đổi liều thuốc

- Tính điểm UCT (Urticaria Control Test) tại ba thời điểm: sau 2 tuần (T2), sau 4 tuần (T4) và sau 8 tuần (T8). Điểm UCT được tính bằng tổng điểm của bốn câu hỏi. Mỗi câu hỏi được tính theo thang điểm từ 0 đến 4 (bảng 2.3).¹²¹

Bảng 2.3: Điểm UCT

Bạn khó chịu như thế nào vì những triệu chứng thực thể của mề đay (ngứa, nổi sẩn phù (dát) và/hoặc sưng) trong 2 hoặc 4 tuần qua?				
Rất nhiều	Nhiều	Phần nào	Chút ít	Không hề
0	1	2	3	4
Trong 2 hoặc 4 tuần qua, mề đay ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của bạn nhiều đến đâu?				
Rất nhiều	Nhiều	Phần nào	Chút ít	Không hề
0	1	2	3	4
Trong 2 hoặc 4 tuần qua, điều trị mề đay của bạn có khi nào không đủ để kiểm soát triệu chứng mề đay?				
Rất nhiều lần	Nhiều lần	Đôi khi	Ít khi	Không khi nào
0	1	2	3	4
Nhìn chung , trong 2 hoặc 4 tuần qua triệu chứng mề đay của bạn được kiểm soát tốt ra sao?				
Không chút nào	Chút ít	Phần nào	Tốt	Rất tốt
0	1	2	3	4

- Phân mức độ kiểm soát bệnh và thay đổi liều thuốc theo UCT:²

○ Không kiểm soát được bệnh (đáp ứng kém): UCT = 0–11. Tăng liều bilastin lên gấp 2 (nếu NB đang dùng liều 1 viên) hoặc gấp 4 (nếu NB đang dùng liều 2 viên).

- Kiểm soát tốt (đáp ứng tốt): UCT = 12–15. Giữ nguyên liều bilastin đang điều trị nếu không có tác dụng phụ.

- Kiểm soát hoàn toàn (đáp ứng hoàn toàn): UCT = 16. Giữ nguyên liều bilastin đang điều trị nếu không có tác dụng phụ.

- Cách kiểm soát tuân thủ điều trị bilastin và các can thiệp đồng thời trong thời gian dùng thuốc: nghiên cứu viên giải thích với NB tầm quan trọng của việc uống thuốc đúng quy trình tại mỗi lần thăm khám, đồng thời liên lạc với NB qua điện thoại hàng tuần, nhắc nhở tuân thủ điều trị và không sử dụng thêm các thuốc khác. Thực tế, tại T2, T4 và T8, nhóm nghiên cứu đều thu thập đủ 60 điểm số UCT.

- Kết thúc can thiệp, NB được tiếp tục điều trị dài hạn theo khuyến cáo của EAACI/ GA²LEN/EuroGuiDerm/APAAACI, nhằm đạt mục tiêu kiểm soát hoàn toàn triệu chứng và nâng cao chất lượng cuộc sống.

Bước 3: Thu thập mẫu máu và xét nghiệm

Lưu mẫu huyết thanh lần 2 sau 8 tuần điều trị (T8) và định lượng nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO lần 2 theo quy trình tương tự như mục tiêu 1. Thực tế tại T8, nhóm nghiên cứu chỉ thu thập 33 mẫu huyết thanh lần 2.

2.4. Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

Dữ liệu thu thập được nhập và quản lý trên REDCap nhằm đảm bảo tính chính xác và hệ thống hóa dữ liệu một cách khoa học. Quá trình nhập liệu được thực hiện cẩn thận, kèm theo kiểm tra và đối chiếu ngẫu nhiên để giảm thiểu sai sót. Sau khi hoàn tất, dữ liệu được xuất sang định dạng phù hợp để phân tích bằng phần mềm Stata phiên bản 17.0.

Thống kê mô tả: trình bày các đặc điểm cơ bản của mẫu nghiên cứu, bao gồm giá trị trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (đối với biến định lượng phân bố chuẩn), trung vị [tứ phân vị Q1-Q3] (đối với biến định lượng phân bố không chuẩn), tỷ lệ phần trăm (biến định tính). Kiểm định phân phối chuẩn bằng test Kolmogorov-Smirnov khi cỡ mẫu lớn hơn 50 hoặc test Shapiro-Wilk khi cỡ mẫu nhỏ hơn 50.

Thống kê phân tích:

– Phép kiểm Chi-squared: so sánh sự khác biệt giữa các biến định tính giữa hai nhóm độc lập; phép kiểm Friedman: so sánh sự khác biệt giữa các biến định tính giữa ba nhóm ghép cặp.

–Kiểm định Mann-Whitney và Kruskal-Wallis (hậu kiểm Dunn's test): so sánh sự khác biệt giữa các biến định lượng không phân phối chuẩn hoặc dữ liệu thứ bậc.

–Tương quan Spearman: xác định mối tương quan tuyến tính giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO với điểm UAS7, UCT (Tương quan rất mạnh với $0,9 < r \leq 1$; tương quan mạnh với $0,7 < r \leq 0,9$; tương quan trung bình với $0,5 < r \leq 0,7$; tương quan yếu với $0,3 < r \leq 0,5$ và tương quan rất yếu với $0 < r \leq 0,3$).¹²²

–Đường cong ROC xác định ngưỡng giá trị nồng độ MRGPRX2, SP phân biệt MĐMTTP nặng bằng chỉ số Youden (J-Index). Mức độ phân tách rất tốt với $0,8 < J \leq 1$; mức độ phân tách tốt với $0,6 < J \leq 0,8$; mức độ phân tách trung bình với $0,4 < J \leq 0,6$; mức độ phân tách thấp với $0,2 < J \leq 0,4$ và mức độ phân tách rất thấp với $0 < J \leq 0,2$. Sau đó, kiểm định nội bộ bằng phương pháp bootstrapping để đánh giá độ ổn định của ngưỡng cut-off và chỉ số Youden.¹²³

–Hồi quy logistic đơn biến và đa biến: đánh giá mối liên quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP với mức độ nặng của MĐMTTP, đồng thời điều chỉnh theo các yếu tố gây nhiễu tiềm năng như tuổi, giới tính, phù mạch, giảm BCAT, nồng độ CRP, IgE toàn phần, IgG kháng TPO (xây dựng mô hình hồi quy logistic đa biến bằng phương pháp lựa chọn có chủ đích).

–Kiểm định bằng Wilcoxon signed-rank test: xác định sự thay đổi nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO trước và sau điều trị.

Các kết quả được xem là có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.5. Sai số và cách khắc phục

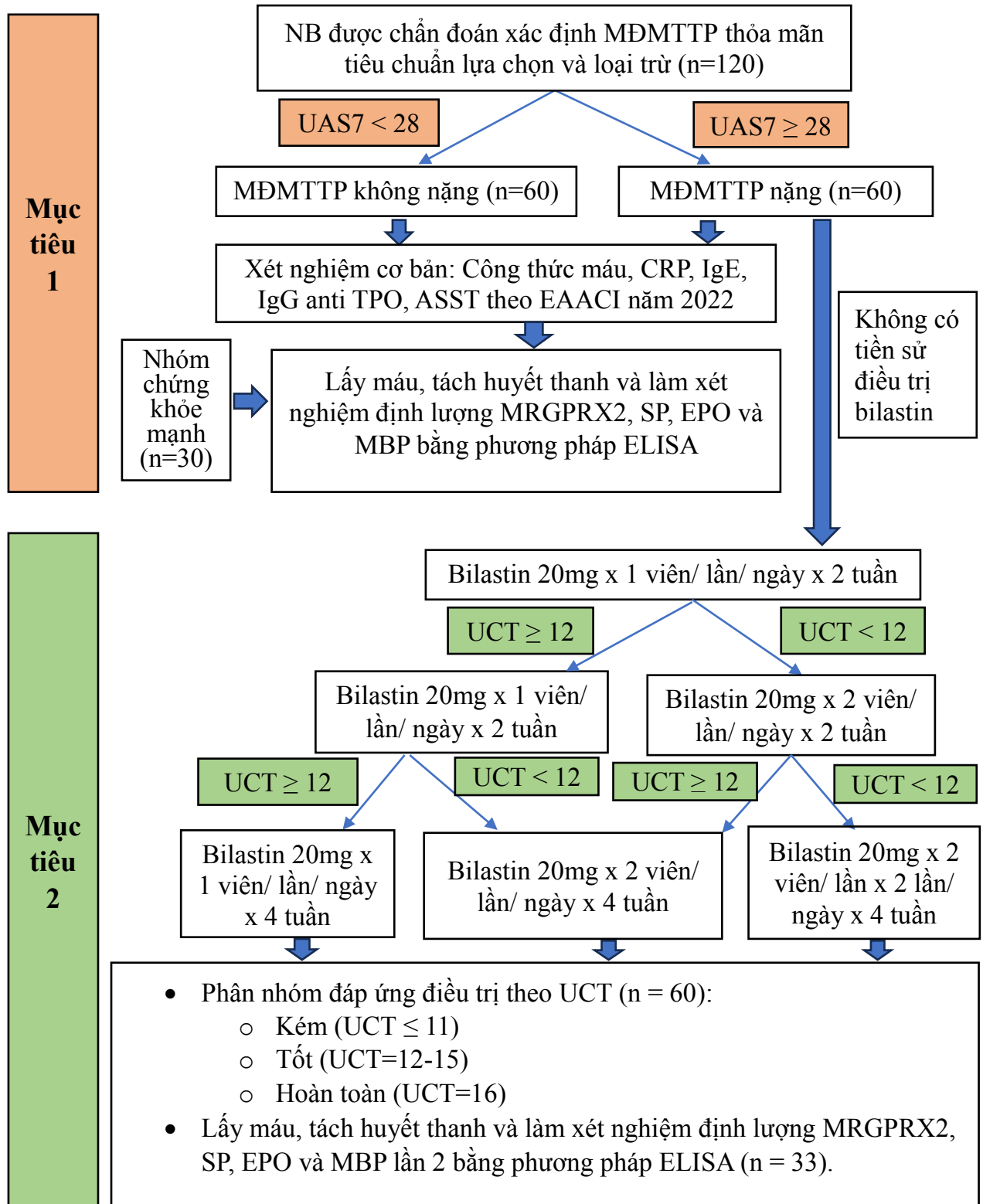
Bảng 2.4: Sai số và cách khắc phục

Loại sai số	Nguồn sai số	Cách khắc phục
Sai số do chọn mẫu	- Không đại diện đầy đủ cho quần thể chung. - Nguy cơ chọn mẫu thiên lệch (selection bias).	- Áp dụng phương pháp chọn mẫu dựa trên tiêu chí rõ ràng. - Đảm bảo cỡ mẫu đủ lớn theo tính toán thống kê.
Sai số do thu thập dữ liệu	- Sai lệch thông tin do trí nhớ kém của NB (recall bias). - Kết quả đo lường không chính xác do thiết bị không được kiểm chuẩn.	- Sử dụng công cụ thu thập dữ liệu tiêu chuẩn hóa. - Hướng dẫn NB trả lời rõ ràng. - Kiểm tra và hiệu chuẩn định kỳ thiết bị đo lường.
Sai số trong thực hiện	- Đánh giá UAS7 thiếu. - Sai sót trong ghi chép và nhập liệu.	- Chủ động gọi điện, nhắc nhở NB tích điểm UAS7 hàng ngày, giải đáp những vấn đề NB chưa hiểu rõ. - Sử dụng phần mềm quản lý dữ liệu và kiểm tra chéo để giảm thiểu sai sót.
Sai số do yếu tố gây nhiễu	- Yếu tố không kiểm soát được như tuổi, giới tính, bệnh kèm theo hoặc chế độ điều trị có thể ảnh hưởng đến kết quả.	- Sử dụng phân tích hồi quy đa biến để kiểm soát yếu tố gây nhiễu. - Thu thập thông tin chi tiết về các yếu tố nền và đưa vào phân tích.
Sai số trong phân tích	- Sai sót tính toán hoặc áp dụng sai phương pháp thống kê.	- Sử dụng phần mềm phân tích chuyên dụng (Stata) và các kiểm định phù hợp. - Kiểm tra chéo các bước phân tích bởi nhiều thành viên nhóm nghiên cứu.
Sai số trong công bố kết quả	- Nguy cơ công bố thiếu hoặc sai lệch kết quả, làm hiểu sai cộng đồng khoa học.	- Báo cáo đầy đủ cả kết quả đạt và không đạt ý nghĩa thống kê. - Minh bạch phương pháp và kết quả nghiên cứu theo các quy định về công bố khoa học.

2.6. Vấn đề đạo đức của nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện sau khi được Hội đồng đạo đức của Trường Đại học Y Hà Nội thông qua theo QĐ số 1145/GCN-HMUIRB, ngày 28 tháng 12 năm 2023 (phụ lục III). Tuân thủ đầy đủ các nguyên tắc đạo đức, đảm bảo tính minh bạch và công bằng trong thực hiện nghiên cứu. Ngoài ra, nghiên cứu đã nhận được sự chấp thuận từ Ban lãnh đạo Bệnh viện Da liễu Trung, tạo cơ sở pháp lý và chuyên môn cho việc triển khai. NB tham gia nghiên cứu được giải thích rõ ràng về mục tiêu và nội dung, đồng thời tham gia trên tinh thần tự nguyện. Quyền lợi của NB được bảo đảm, bao gồm quyền dừng tham gia bất cứ lúc nào mà không ảnh hưởng đến quyền lợi đã nhận. Trong quá trình nghiên cứu, tất cả NB đều được điều trị theo đúng tiêu chuẩn y khoa, đảm bảo không có sự phân biệt đối xử hay tổn hại đến sức khỏe của họ. NB MĐMTTP không nặng, mặc dù không nằm trong đối tượng theo dõi điều trị ở mục tiêu 2, vẫn được điều trị theo đúng khuyến cáo của EAACI năm 2022 tại phòng khám chuyên đề mày đay và mày đay mạn tính - Bệnh viện Da liễu Trung ương. NB MĐMTTP nặng không đáp ứng với bilasin liều gấp 4 được tư vấn điều trị ở bậc cao hơn (omalizumab hoặc ciclosporin tùy theo sự đồng thuận của NB)

Kết quả nghiên cứu được cam kết phục vụ cho mục đích khoa học và lợi ích cộng đồng, không sử dụng cho bất kỳ mục đích cá nhân hay thương mại nào. Các kết quả này sẽ được thông báo đến các bên liên quan nhằm đưa ra giải pháp khắc phục các vấn đề tồn tại, đồng thời làm cơ sở để triển khai các nghiên cứu tiếp theo trong lĩnh vực liên quan.



SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU

CHƯƠNG 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian từ 03/2024 đến 09/2024 tại Bệnh viện Da liễu Trung ương, chúng tôi thu thập được dữ liệu từ 120 NB MĐMTTP và 30 người khỏe mạnh làm nhóm chứng. Các kết quả như sau:

3.1. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP

3.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện trên 120 NB MĐMTTP (chia đều thành 2 nhóm: nặng và không nặng) và 30 người khỏe mạnh tương đồng về độ tuổi và giới tính. Nhóm chứng có độ tuổi trung bình là $37,5 \pm 12,7$ (năm) với tỉ lệ nữ là 63,3%, tương tự với nhóm MĐMTTP nặng và không nặng (ANOVA test, $p > 0,05$).

Bảng 3.1: Một số đặc điểm lâm sàng của nhóm MĐMTTP nặng và không nặng

Biến số	MĐMTTP nặng (n = 60)	MĐMTTP không nặng (n=60)	p
UAS7 (điểm)	29,5 [28–35]	20 [14–23,5]	< 0,0001*
Tuổi (năm)	40,1 $\pm$ 15,2	38,2 $\pm$ 15	0,49 ⁺
Giới nữ (n, %)	33 (55%)	40 (66,7%)	0,19**
Thời gian bị bệnh (tuần)	20 [12,4–52]	19,5 [11,5–29]	0,31*
Có phù mạch (n, %)	25 (41,7%)	19 (31,7%)	0,26**
ASST dương tính (n, %)	34 (56,7%)	36 (61%)	0,63**

(*Man-Whitney U test, ** χ^2 test, ⁺T-test)

Nhận xét:

Nhóm MĐMTTP nặng và không nặng có sự khác biệt rõ rệt về điểm UAS7, tương ứng là 29,5 [28–35] và 20 [14–23,5] điểm với $p < 0,0001$. Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về một số đặc điểm lâm sàng cơ bản như tuổi trung bình, tỉ lệ giới tính, thời gian diễn biến bệnh, tỉ lệ có triệu chứng phù mạch, tỉ lệ ASST dương tính giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng ($p > 0,05$).

Bảng 3.2: Một số đặc điểm cận lâm sàng của nhóm MĐMTTP nặng và không nặng

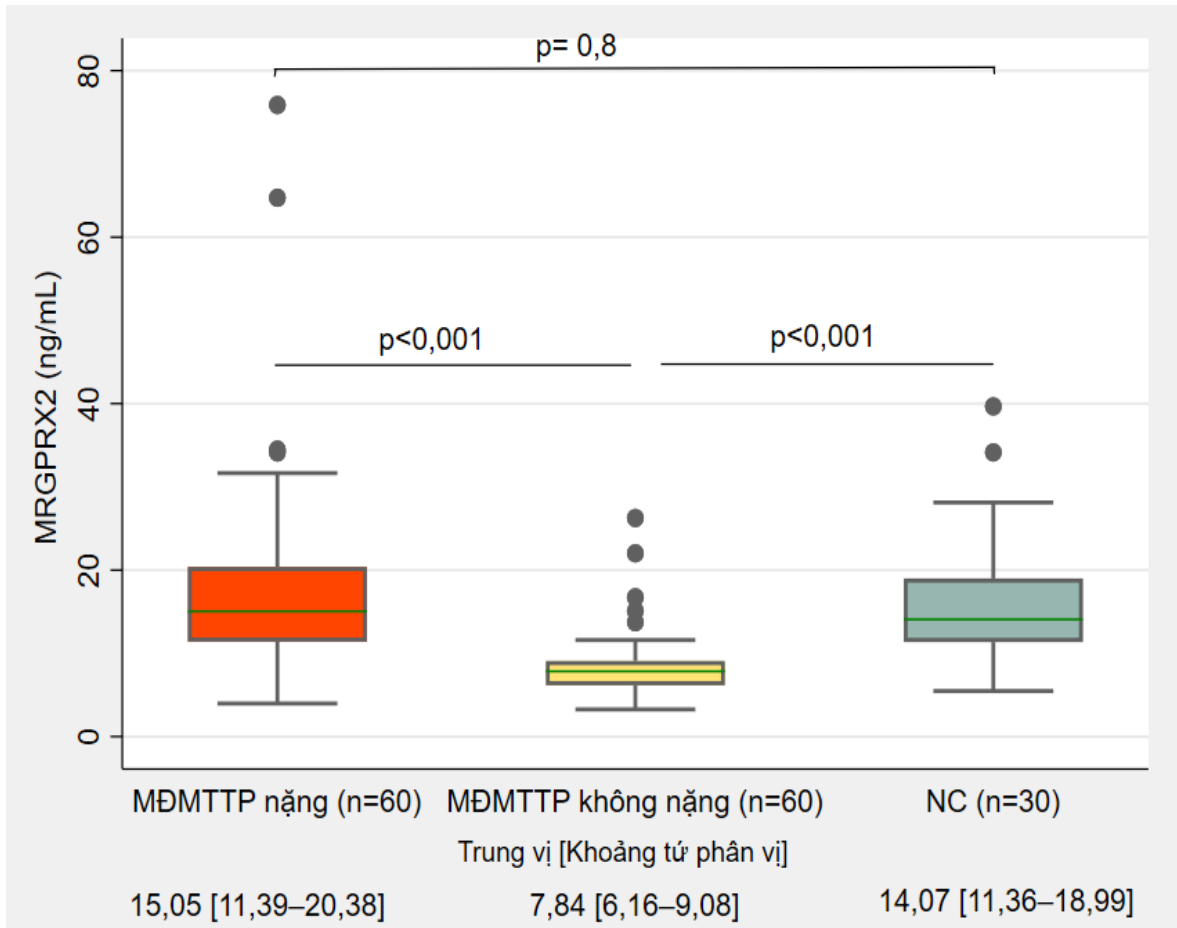
Biến số	MĐMTTP nặng (n = 60)	MĐMTTP không nặng (n=60)	p
Số lượng BCAA (tế bào x 10 ⁹ /L)	0,032 [0,021–0,045]	0,035 [0,025–0,054]	0,29*
Giảm BCAA (n, %) ($< 0,01 \times 10^9/L$)	1 (1,7%)	0 (0%)	1,0***
Số lượng BCAT (tế bào x 10 ⁹ /L)	0,085 [0,044–0,169]	0,11 [0,056–0,212]	0,19*
Giảm BCAT (n, %) ($< 0,05 \times 10^9/L$)	17 (28,3%)	13 (21,7%)	0,40**
Nồng độ CRP (mg/L)	1,8 [0,7–3,8]	0,9 [0,4–2,3]	0,02*
Tăng CRP (> 5 mg/L) (n, %)	8 (13,3%)	6 (10%)	0,57**
Nồng độ IgE toàn phần (IU/mL)	169,4 [130,5–331,1]	166,5 [83,2–347,6]	0,21*
Tăng IgE toàn phần (> 100 IU/mL) (n, %)	49 (81,7%)	42 (70%)	0,33***
Nồng độ IgG kháng TPO (U/mL)	0,34 [0,1–0,99]	0,42 [0,14–0,98]	0,75*
Tăng IgG kháng TPO (≥ 34 U/mL) (n, %)	3 (5%)	2 (3,3%)	1,0***

(*Man-Whitney U test, ** χ^2 test, ***Fisher Exact test)

Nhận xét:

Nhóm MĐMTTP nặng có nồng độ CRP cao hơn nhóm không nặng, tương ứng là 1,8 [0,7–3,8] mg/L và 0,9 [0,4–2,3] mg/L với $p = 0,02$. Tuy nhiên, tỉ lệ tăng CRP giữa hai nhóm không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Các đặc điểm cận lâm sàng khác, bao gồm số lượng BCAT, BCAA, nồng độ IgE toàn phần và IgG kháng TPO, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng ($p > 0,05$).

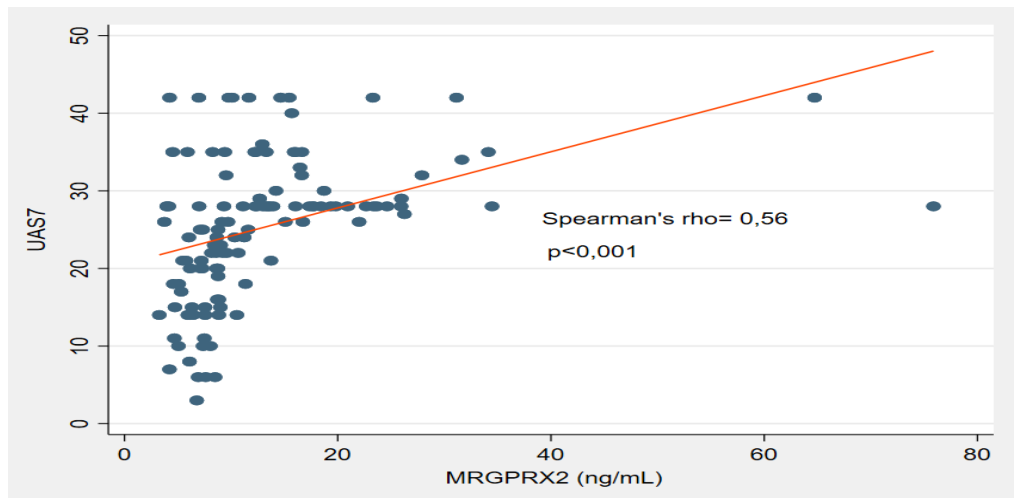
3.1.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP



Biểu đồ 3.1: Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng, không nặng và nhóm chứng (Kruskal-Wallis test với hậu kiểm Dunn test)

Nhận xét:

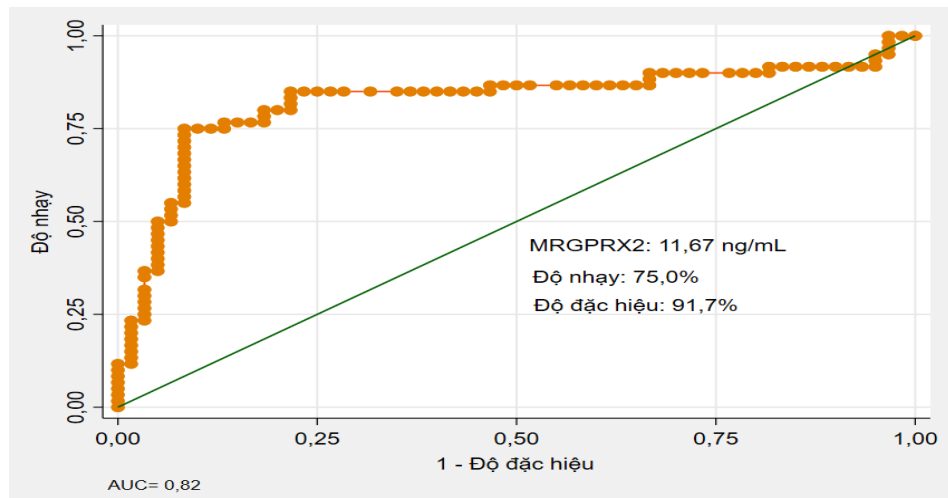
Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng ($p < 0,001$) nhưng không có sự khác biệt với nhóm chứng ($p > 0,05$). Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP không nặng thấp hơn so với nhóm chứng ($p < 0,001$).



Biểu đồ 3.2: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với điểm hoạt động bệnh UAS7 trong MĐMTTP

Nhận xét:

Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có mối tương quan thuận với mức độ trung bình với điểm UAS7 (hệ số tương quan Spearman bằng 0,56 với $p < 0,001$).



Biểu đồ 3.3: Đường cong ROC xác định ngưỡng nồng độ MRGPRX2 phân biệt MĐMTTP nặng và MĐMTTP không nặng

Nhận xét:

Phân tích đường cong ROC cho thấy giá trị 11,67 ng/mL của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh là điểm cắt tối ưu để xác định nhóm nặng trong MĐMTTP (AUC: 0,82; CI95%: 0,74–0,91) với độ nhạy là 75,0% và độ đặc hiệu là 91,7%. Kiểm định nội bộ Bootstrapping (1000 mẫu lại) cho thấy ngưỡng cut-off ổn định với CI95%: 9,7–13,5. Chỉ số Youden là 0,67 (CI95%: 0,54–0,79).

Bảng 3.3: Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng cơ bản trong MĐMTTP

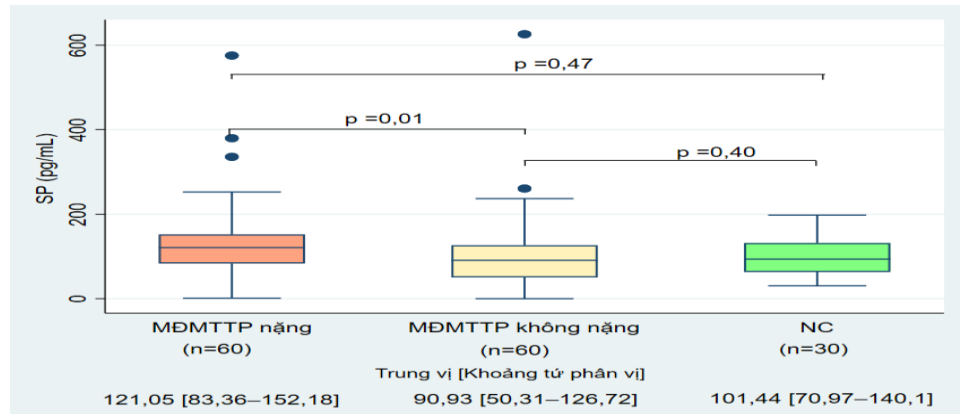
Biến số		Hệ số tương quan Spearman	p
Tuổi (năm)		0,04	0,68
Thời gian bị bệnh (tuần)		-0,11	0,24
BCAT (tế bào x 10 ⁹ /L)		0,09	0,31
CRP (mg/L)		0,21	0,02
IgE toàn phần (IU/mL)		0,02	0,85
IgG kháng TPO (U/mL)		0,02	0,8
Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh (ng/mL) Trung vị [khoảng tứ phân vị]			
Giới	Nam (n=47)	12,68 [7,1–18,71]	0,07*
	Nữ (n=73)	8,85 [7,21–13,58]	
Phù mạch	Có (n=44)	9,47 [7,26–14,95]	0,81*
	Không (n=76)	9,74 [7,15–16,35]	
ASST	Dương tính (n=70)	9,43 [7,34–13,93]	0,47*
	Âm tính (n=50)	11,18 [6,43–19,35]	
BCAT	Giảm (n=30)	8,96 [5,91–16,63]	0,42*
	Không giảm (n=90)	9,74 [7,56–15,91]	
CRP	Tăng (n=14)	13,29 [9,3–15,69]	0,16*
	Bình thường (n=106)	9,37 [7,0–16,46]	
IgE toàn phần	Không tăng (n=29)	8,85 [7,29–16,04]	0,8*
	Tăng (n=91)	10,1 [7,16–15,91]	
IgG kháng TPO	Bình thường (n=115)	9,71 [7,29–16,04]	0,41*
	Tăng (n=5)	6,91 [6,43–12,93]	

(*Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Có mối tương quan thuận mức độ rất yếu giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và CRP ($r = 0,21$; $p = 0,02$). Tuy nhiên, với điểm cut-off là 5 mg/L, không có sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP tăng CRP và không tăng CRP ($p > 0,05$). Không có mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với tuổi, thời gian diễn biến bệnh, số lượng BCAT, nồng độ IgE toàn phần, IgG kháng TPO trong MĐMTTP ($p > 0,05$). Đồng thời, không có sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa các nhóm theo phân loại về các tiêu chí như giới, phù mạch, ASST, BCAT, IgE toàn phần, IgG kháng TPO ($p > 0,05$).

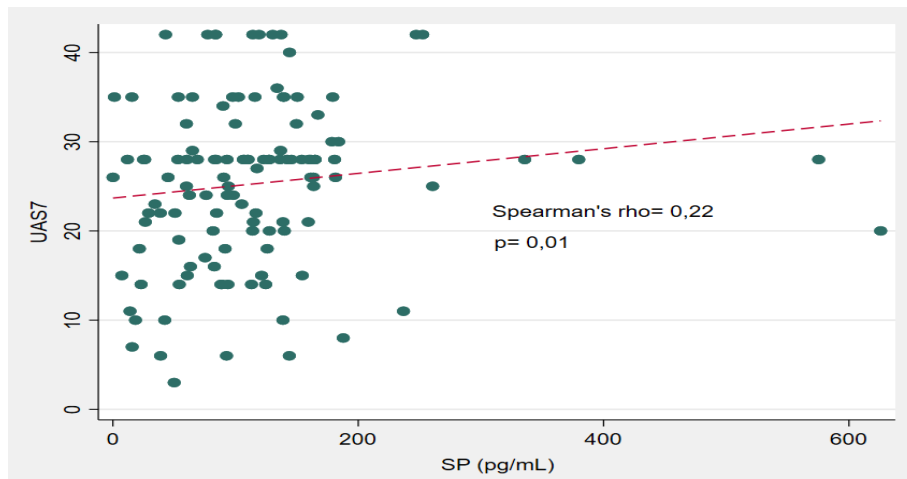
3.1.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP



Biểu đồ 3.4: Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng, không nặng và nhóm chứng (Kruskal-Wallis test với hậu kiểm Dunn test).

Nhận xét:

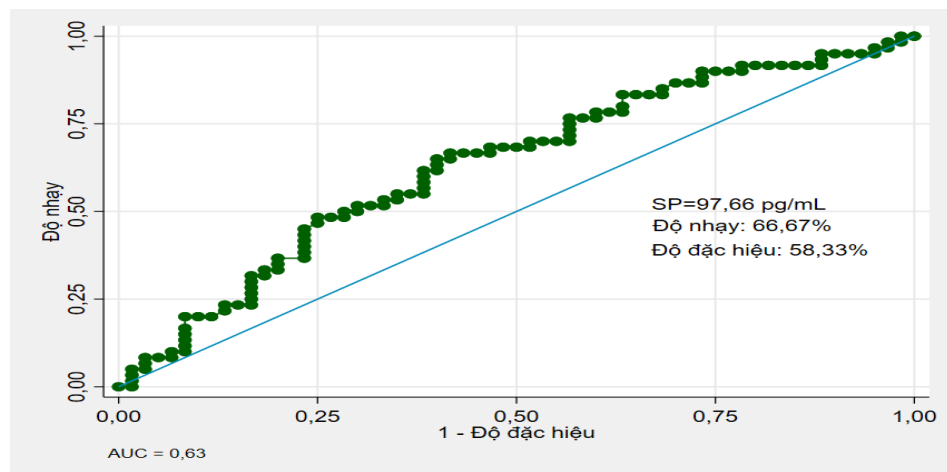
Nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng ($p < 0,05$), nhưng không có sự khác biệt với nhóm chứng ($p > 0,05$). Nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP không nặng tương tự với nhóm chứng ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.5: Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với điểm hoạt động bệnh UAS7 trong MĐMTTP

Nhận xét:

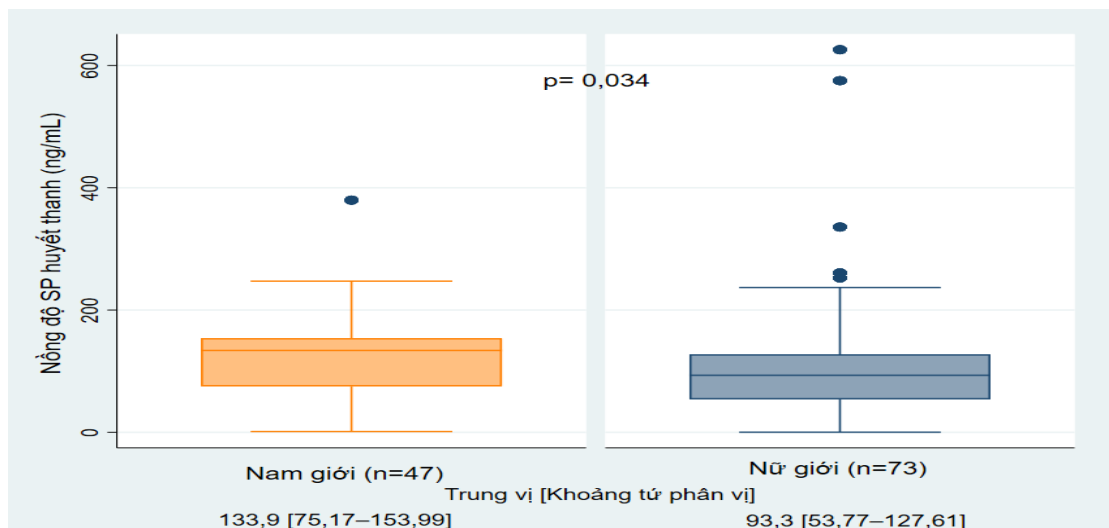
Nồng độ SP huyết thanh có mối tương quan thuận mức độ rất yếu với điểm hoạt động bệnh UAS7 (hệ số tương quan Spearman bằng 0,22 với $p < 0,05$).



Biểu đồ 3.6: Đường cong ROC xác định ngưỡng nồng độ SP huyết thanh phân biệt MĐMTTP nặng và MĐMTTP không nặng

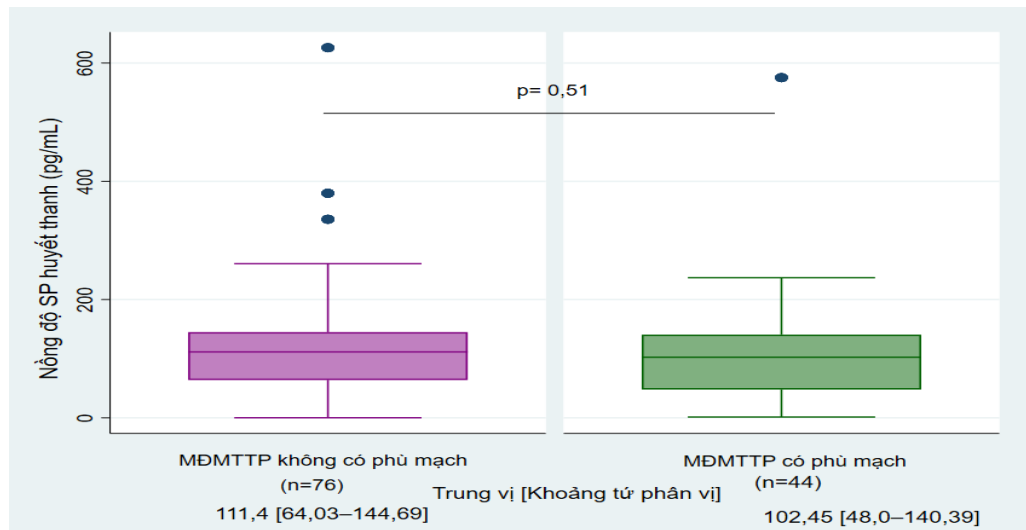
Nhận xét:

Phân tích đường cong ROC cho thấy giá trị 97,66 pg/mL của nồng độ SP huyết thanh là điểm cắt tối ưu để xác định nhóm nặng trong MĐMTTP (AUC: 0,63; CI95%: 0,53–0,73) với độ nhạy là 66,7% và độ đặc hiệu là 58,3%. Kiểm định nội bộ Bootstrapping (1000 mẫu lại) cho thấy ngưỡng cut-off biến động rộng, CI95%: 53,5–141,8. Chỉ số Youden là 0,25 (CI95%: 0,1–0,4).



Biểu đồ 3.7: Nồng độ SP huyết thanh giữa nam và nữ trong MĐMTTP (Mann-Whitney U test)

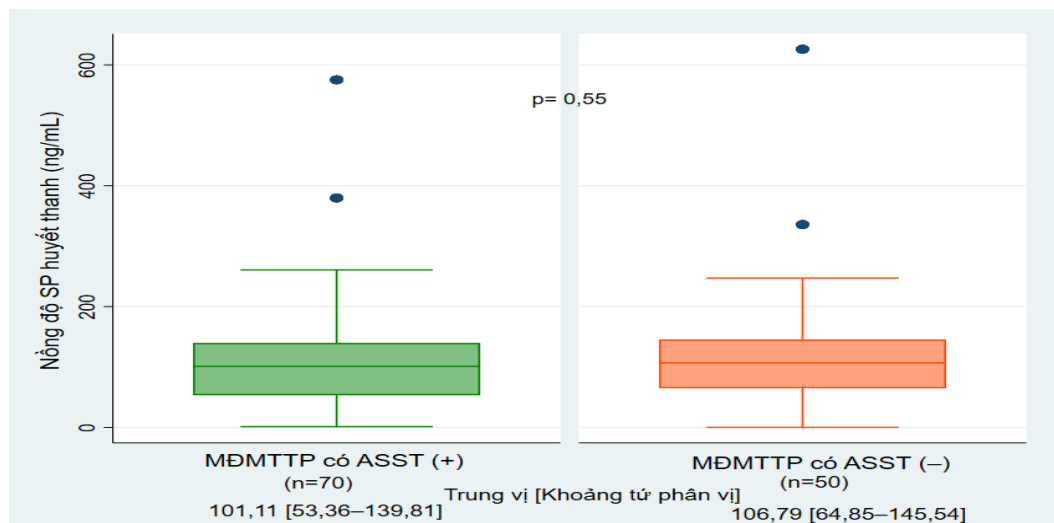
Nhận xét: Trong MĐMTTP, nồng độ SP huyết thanh ở nam giới cao hơn so với nữ giới ($p < 0,05$).



Biểu đồ 3.8: Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch (Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP không có phù mạch cao hơn nhóm MĐMTTP có phù mạch, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.9: Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST (+) và ASST (-) (Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP có ASST (+) và ASST (-) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.4: Nồng độ SP huyết thanh trong MĐMTTP theo một số đặc điểm lâm sàng/ cận lâm sàng khác

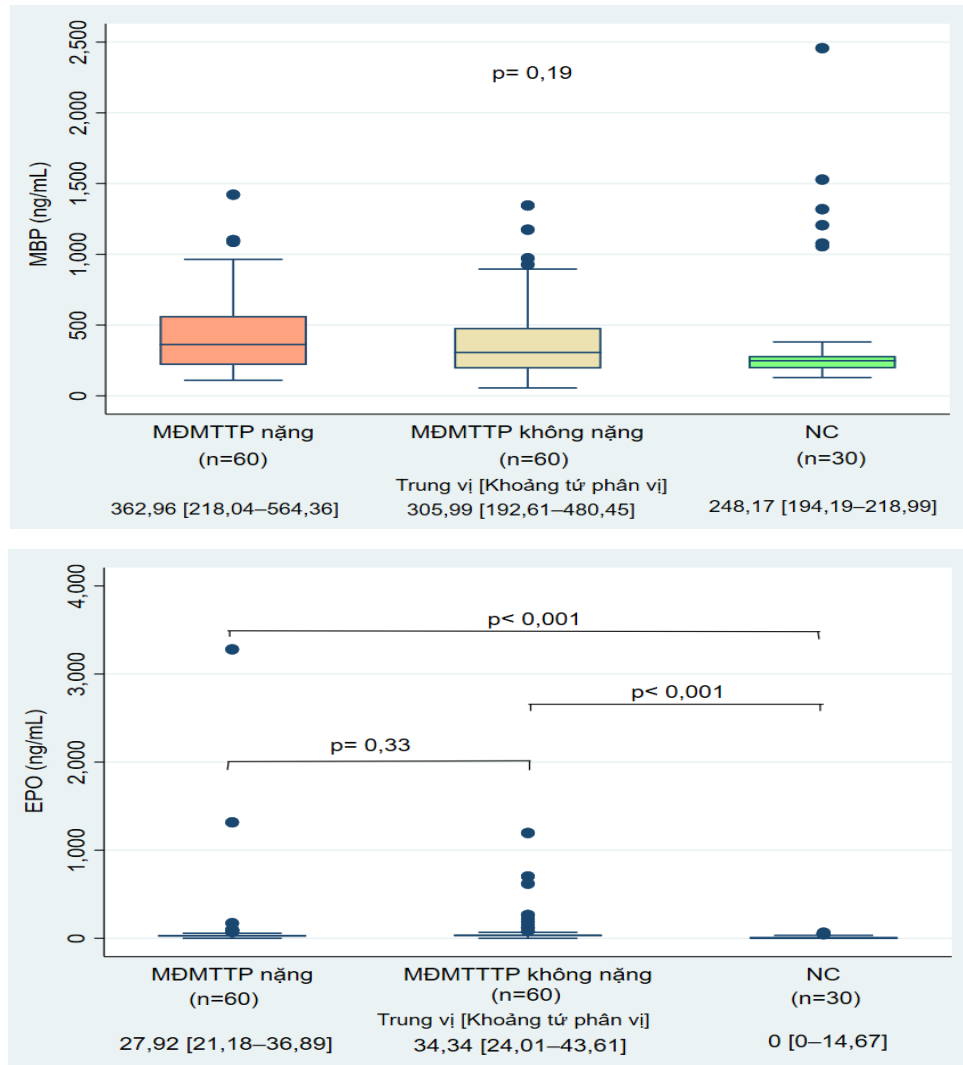
Biến số		Hệ số tương quan Spearman	p
Tuổi (năm)		0,10	0,26
Thời gian bị bệnh (tuần)		0,43	0,07
BCAT (tế bào x 10 ⁹ /L)		0,004	0,96
CRP (mg/L)		0,019	0,84
IgE toàn phần (IU/mL)		0,07	0,49
IgG kháng TPO (U/mL)		0,06	0,53
Nồng độ SP huyết thanh (pg/mL) Trung vị [khoảng tứ phân vị]			
BCAT	Giảm (n=30)	110,43 [77,3–138,65]	0,55*
	Không giảm (n=90)	103,71 [53,77–143,83]	
CRP	Tăng (n=14)	90,41 [64,85–139,42]	0,58*
	Bình thường (n=106)	106,79 [60,67–143,8]	
IgE toàn phần	Không tăng (n=29)	105,05 [82,71–139,81]	0,77*
	Tăng (n=91)	106,35 [60,0–143,83]	
IgG kháng TPO	Bình thường (n=115)	105,05 [60,67–142,13]	0,47*
	Tăng (n=5)	133,9 [83,74–143,83]	

(*Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Không có mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với tuổi, thời gian diễn biến bệnh, số lượng BCAT, nồng độ CRP, IgE toàn phần và IgG kháng TPO ($p > 0,05$). Đồng thời, không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về nồng độ SP huyết thanh giữa các nhóm theo phân loại về các tiêu chí như BCAT, CRP, IgE toàn phần, IgG kháng TPO ($p > 0,05$).

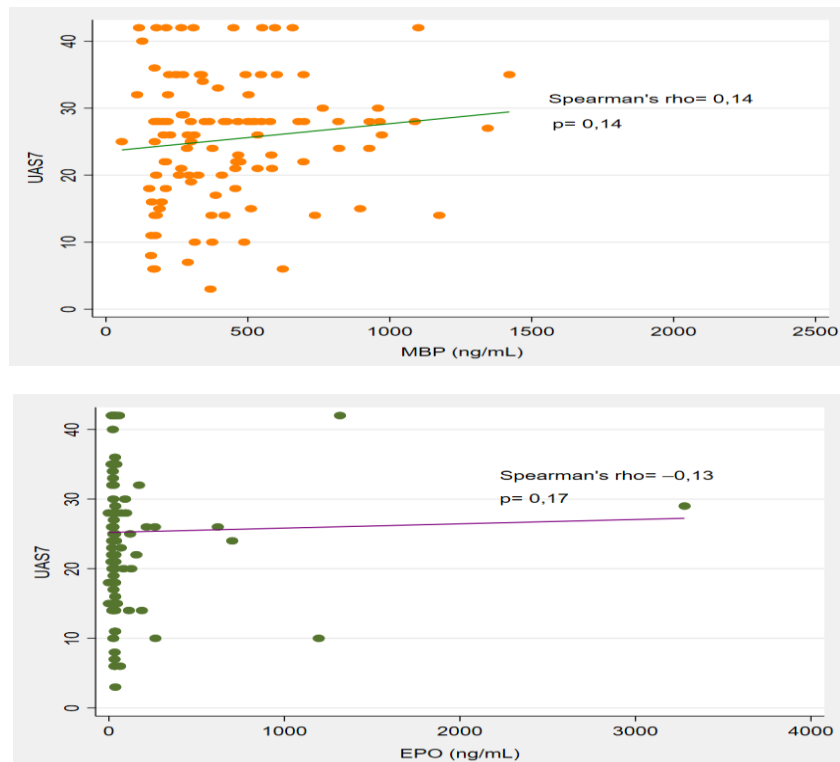
3.1.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP



Biểu đồ 3.10: Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng, không nặng và nhóm chứng (Kruskal-Wallis test với hậu kiểm Dunn test)

Nhận xét:

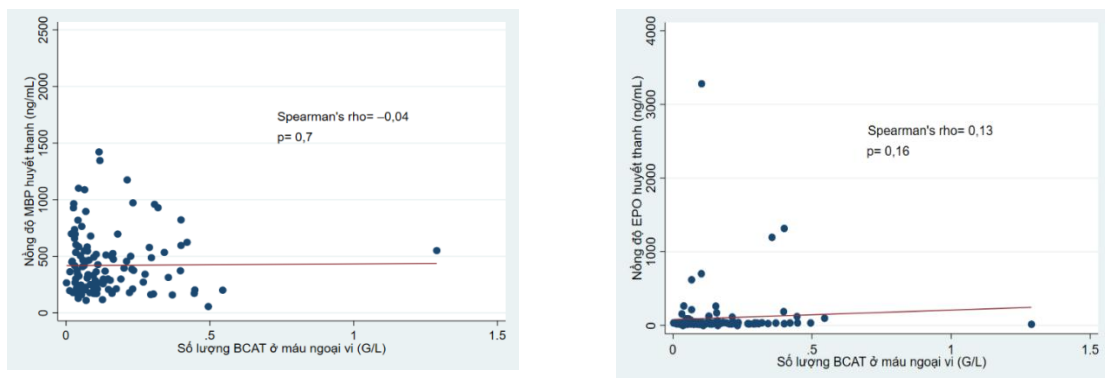
Nồng độ MBP huyết thanh của nhóm MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng và nhóm chứng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Trong khi đó, nồng độ EPO huyết thanh ở nhóm chứng hầu hết đều ở ngưỡng không phát hiện (0 ng/mL), thấp hơn so với nhóm MĐMTTP nặng và không nặng ($p < 0,001$). Không có sự khác biệt về nồng độ EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.11: Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với điểm hoạt động bệnh UAS7 trong MĐMTTP

Nhận xét:

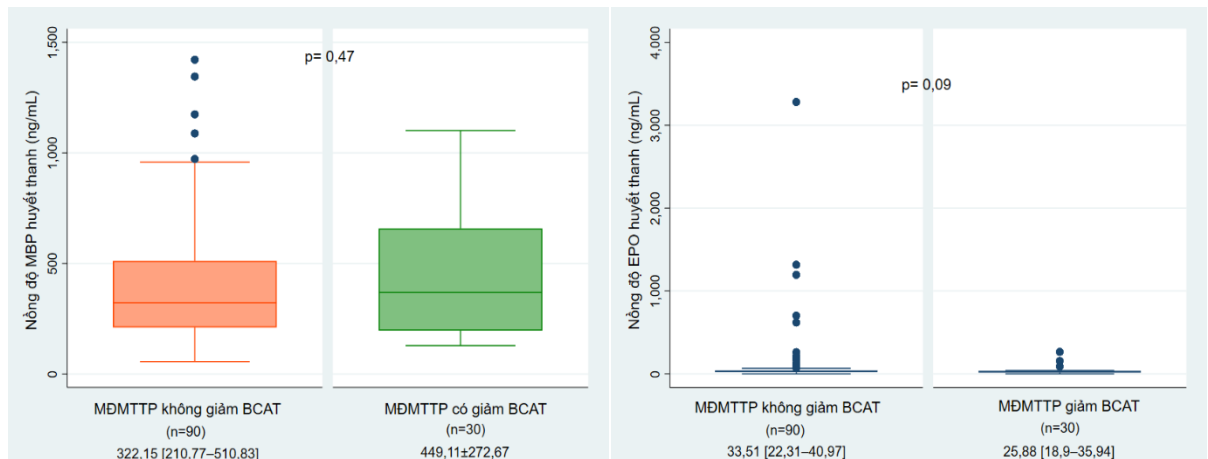
Nồng độ MBP và EPO huyết thanh đều không có mối tương quan với điểm UAS7 (hệ số tương quan Spearman tương ứng là 0,14 và -0,13 với $p > 0,05$).



Biểu đồ 3.12: Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với số lượng BCAT trong MĐMTTP

Nhận xét:

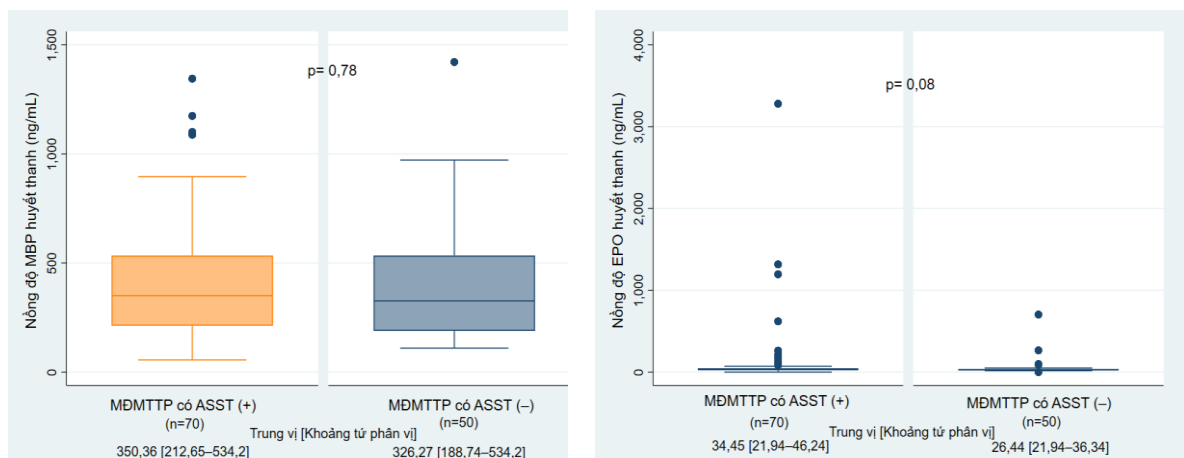
Nồng độ MBP và EPO huyết thanh đều không có mối tương quan với số lượng BCAT trong máu ngoại vi (hệ số tương quan Spearman tương ứng là -0,04 và 0,13 với $p > 0,05$).



Biểu đồ 3.13: Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP giảm BCAT và không giảm BCAT (Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Không có sự khác biệt về nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP giảm và không giảm BCAT ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.14: Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST (+) và MĐMTTP có ASST (-) (Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Không có sự khác biệt về nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST dương tính và nhóm ASST âm tính ($p > 0,05$). Tuy nhiên, phần lớn NB có nồng độ MBP và EPO cao (3/4 BN) đều nằm trong nhóm ASST dương tính.

**Bảng 3.5: Nồng độ EPO và MBP huyết thanh trong MĐMTTP
theo một số đặc điểm lâm sàng/ cận lâm sàng cơ bản khác**

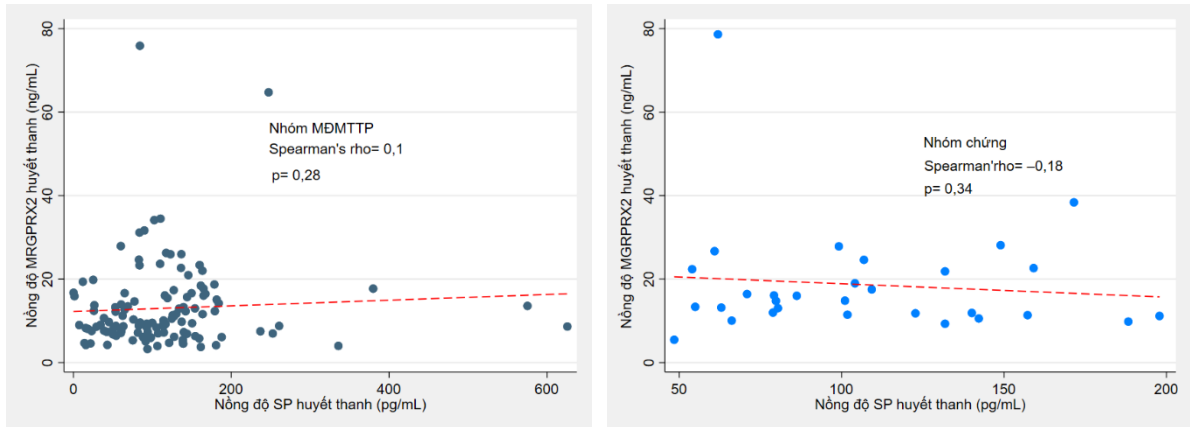
Biến số		Hệ số tương quan Spearman		p	
		MBP	EPO	MBP	EPO
Tuổi (năm)		0,07	-0,22	0,42	0,02
Thời gian bị bệnh (tuần)		-0,13	0,058	0,16	0,53
CRP (mg/L)		0,1	-0,14	0,3	0,12
IgE toàn phần (IU/mL)		0,12	-0,07	0,2	0,47
IgG kháng TPO (U/mL)		-0,43	0,19	< 0,001	0,038
		MBP (ng/mL)	EPO (ng/mL)		
		Trung vị [khoảng tứ phân vị]		MBP	EPO
Giới	Nam (n=47)	362,87 [211,21–696,04]	34,55 [22,31–42,73]	0,13*	0,51*
	Nữ (n=73)	331,32 [200,49–487,03]	30,87 [21,94–36,89]		
Phù mạch	Có (n=44)	355,43 [233,52–489,59]	30,62 [22,31–37,11]	0,78*	0,90*
	Không (n=76)	322,15 [198,32–564,36]	33,51 [20,61–38,26]		
CRP	Tăng (n=14)	353,61 [265,29–657,62]	25,13 [21,94–36,89]	0,58*	0,54*
	Bình thường (n=106)	339,5 [206,96–524,57]	33,3 [21,94–37,62]		
IgE toàn phần	Không tăng (n=29)	292,25 [196,15–458,94]	34,55 [20,42–39,5]	0,12*	1*
	Tăng (n=91)	363,05 [210,77–578,23]	32,33 [22,31–37,4]		
IgG kháng TPO	Bình thường (n=115)	341,15 [211,21–534,2]	31,83 [21,94–37,34]	0,41*	0,35*
	Tăng (n=5)	178,86 [171,24–595,25]	34,55 [33,42–35,09]		

(*Mann-Whitney U test)

Nhận xét:

Nồng độ EPO huyết thanh có mối tương quan nghịch mức độ yếu với tuổi ($r = -0,22$; $p < 0,05$), còn MBP thì không ($p > 0,05$). Với nồng độ IgG kháng TPO, nồng độ MBP có tương quan nghịch mức độ yếu ($r = -0,43$; $p < 0,001$), còn EPO lại có tương quan thuận mức độ rất yếu ($r = 0,19$; $p = 0,038$). Nồng độ MBP và EPO đều không có mối tương quan với thời gian bị bệnh ($p > 0,05$). Không có sự khác biệt về nồng độ EPO và MBP huyết thanh giữa các phân nhóm theo các đặc điểm như giới, phù mạch, ASST, BCAT, CRP, IgE toàn phần hay kháng thể IgG kháng TPO ($p > 0,05$).

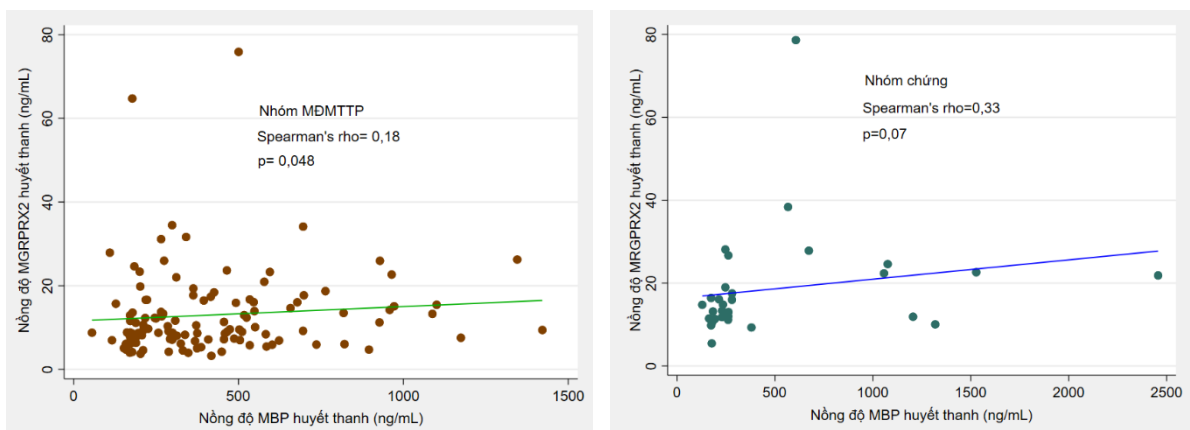
3.1.5. *Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với nồng độ các chất chủ vận trong MĐMTTP*



Biểu đồ 3.15: *Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 và SP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP và nhóm chứng*

Nhận xét:

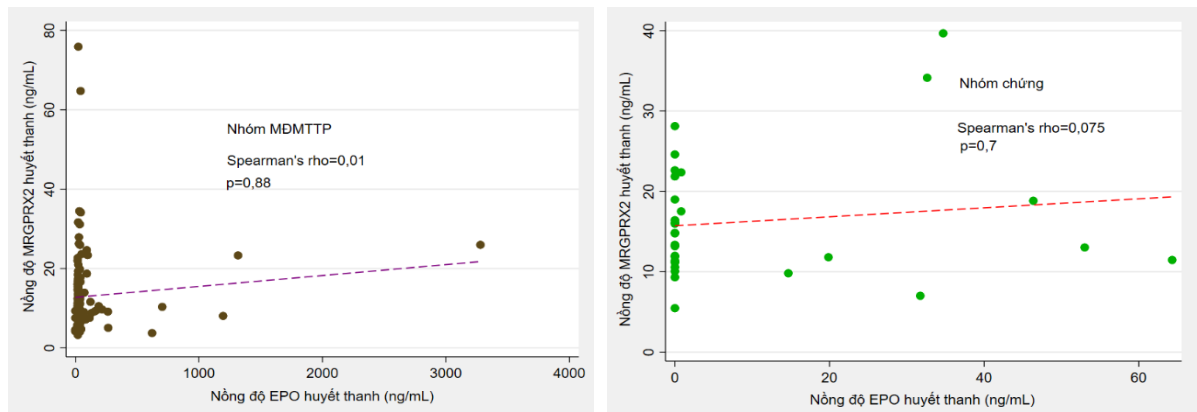
Không ghi nhận mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với nồng độ SP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP và nhóm chứng ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.16: *Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 và MBP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP và nhóm chứng*

Nhận xét:

Có mối tương quan thuận mức độ rất yếu giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với nồng độ MBP huyết thanh trong nhóm MĐMTTP ($r = 0,18$ với $p < 0,05$) nhưng không ghi nhận trong nhóm chứng ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.17: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 và EPO huyết thanh trong nhóm MDMTTP và nhóm chứng

Nhận xét:

Không ghi nhận mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với nồng độ EPO huyết thanh trong nhóm MDMTTP và nhóm chứng ($p > 0,05$).

3.1.6. Mô hình hồi quy logistic các yếu tố liên quan độc lập của MDMTTP nặng

Bảng 3.6: Phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến về yếu tố liên quan độc lập của MDMTTP nặng

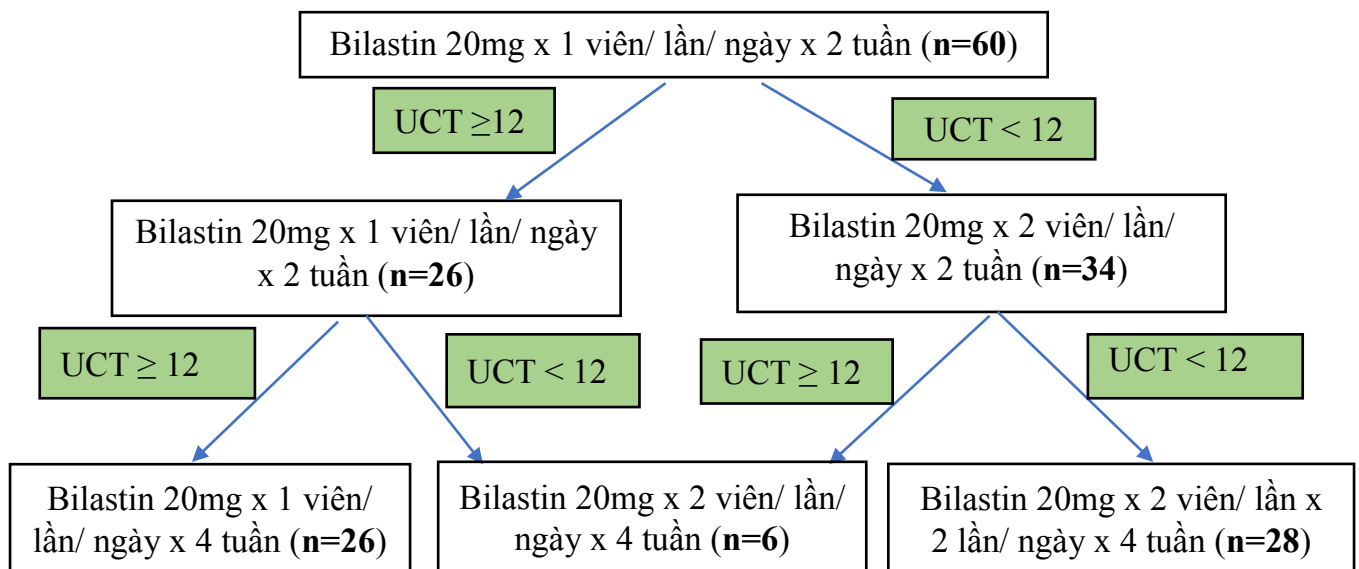
Biến	Hồi quy logistic đơn biến			Hồi quy logistic đa biến		
	OR	CI95%	p	OR	CI95%	p
Tuổi (mỗi năm)	1,01	0,98–1,03	0,49	1,01	0,98–1,05	0,53
Giới nữ (so với nam)	0,61	0,29–1,28	0,19	1,71	0,53–5,57	0,37
Có phù mạch (so với không có)	1,54	0,73–3,26	0,26	1,91	0,65–5,59	0,24
Giảm BCAT (so với không giảm)	1,43	0,62–3,29	0,4	1,26	0,39–4,07	0,70
Tăng IgE toàn phần (so với không tăng)	1,91	0,81–4,49	0,14	2,19	0,61–7,85	0,23
Tăng CRP (so với không tăng)	1,38	0,45–4,26	0,57	0,41	0,07–2,43	0,33
Tăng IgG kháng TPO (so với không tăng)	1,53	0,25–9,48	0,65	1,61	0,14–18,07	0,70
Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh $\geq 11,67$ ng/mL (so với không tăng)	30,25	10,28–89,04	< 0,001	48,21	13,00–178,82	< 0,001
Nồng độ SP huyết thanh $\geq 97,66$ pg/mL (so với không tăng)	2,6	1,24–5,44	0,011	3,19	1,10–9,24	0,03

Nhận xét:

Phân tích hồi quy logistic đơn biến và đa biến đều cho thấy ngưỡng giá trị 11,67 ng/mL đối với MRGPRX2 và ngưỡng 97,66 pg/mL đối với SP là yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng. Nguy cơ kết cục MĐMTTP nặng trong nhóm NB có ngưỡng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh $\geq 11,67$ ng/mL gấp 48,21 lần so với nhóm NB có ngưỡng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh $< 11,67$ ng/mL (CI95%: 13,00–178,82; $p < 0,001$) ở cùng các điều kiện khác. Nguy cơ kết cục MĐMTTP nặng trong nhóm NB có ngưỡng nồng độ SP huyết thanh $\geq 97,66$ pg/mL gấp 3,19 lần so với nhóm NB có ngưỡng nồng độ SP huyết thanh $< 97,66$ pg/mL (CI95%: 1,1–9,24; $p < 0,05$) ở cùng các điều kiện khác.

3.2. Mỗi tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

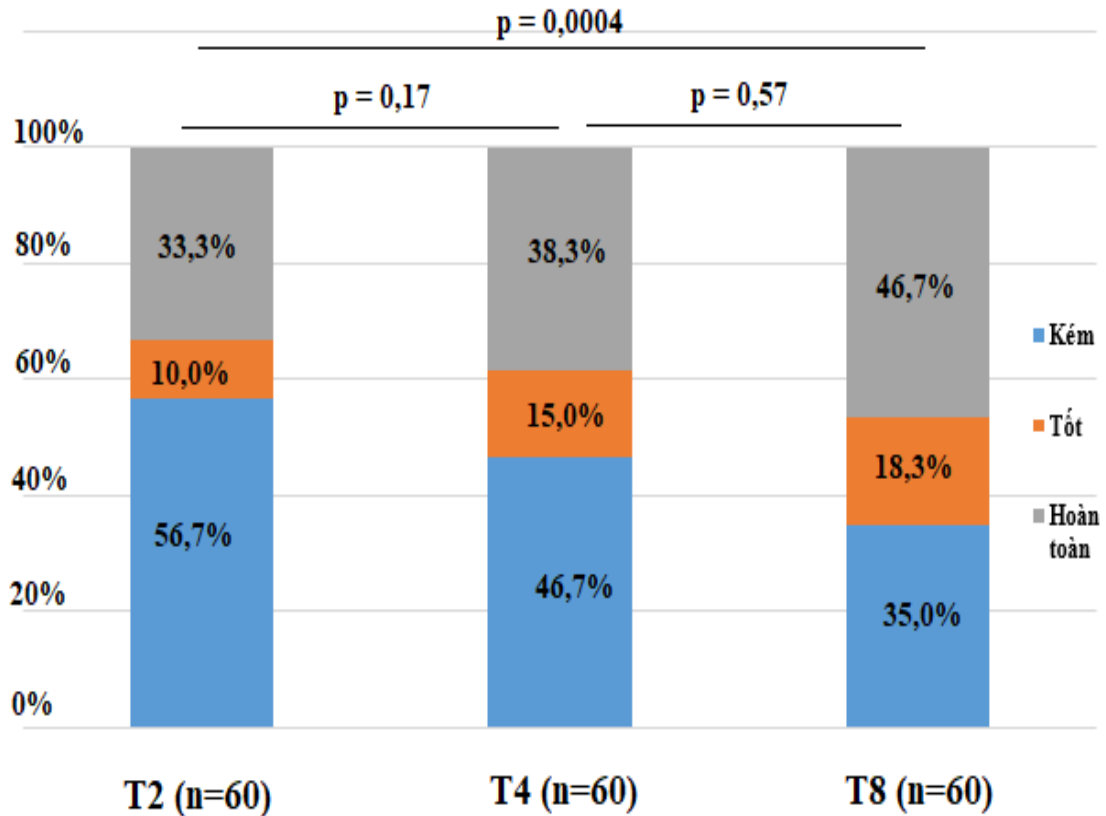
3.2.1. Kết quả điều trị MĐMTTP nặng bằng bilastin



Biểu đồ 3.18: Số lượng NB MĐMTTP nặng điều trị bằng bilastin theo các liều và các tuần

Nhận xét:

26 NB MĐMTTP nặng (43,3%) được điều trị bằng bilastin liều chuẩn trong suốt 8 tuần. Trong số 34 NB tăng liều bilastin gấp 2, số kiểm soát được bệnh chỉ là 6 (17,6%), có tới 28 NB phải sử dụng liều bilastin gấp 4.



Biểu đồ 3.19: Tỷ lệ đáp ứng với bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần, Friedman test với hậu kiểm Dunn test)

Nhận xét:

Sau 2 tuần điều trị với bilastin liều chuẩn, tỉ lệ đáp ứng hoàn toàn trong nhóm MĐMTTP nặng chỉ đạt 33,3%; tỉ lệ đáp ứng kém lên đến 56,7%. Sau khi tăng liều bilastin trong nhóm đáp ứng kém thì tỉ lệ đáp ứng kém sau 8 tuần chỉ còn lại 35% ($p < 0,001$).

Bảng 3.7: Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng giữa các nhóm đáp ứng với bilastin tại T8 trong nhóm MĐMTTP nặng

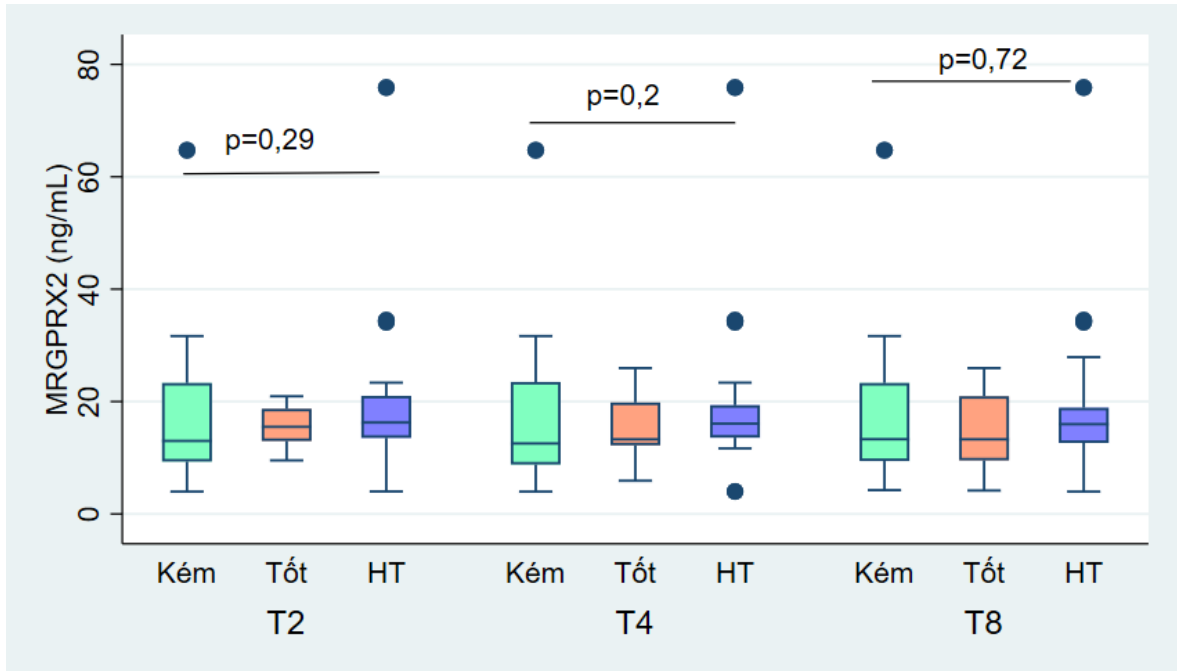
Biến số	Đáp ứng kém (n = 21)	Đáp ứng tốt (n=11)	Đáp ứng hoàn toàn (n=28)	p
Tuổi (năm)	39,5±16,6	37,6±15,5	41,5±14,5	0,81 ⁺⁺⁺
Giới nữ (n, %)	11 (52,4)	4 (36,4)	18 (64,3)	0,28***
UAS7 ban đầu (điểm)	35,5±5,6	29,2±2,3	31,4±4,8	0,02⁺⁺⁺
Thời gian bị bệnh (tuần)	18 [10–39]	52 [13–60]	20 [13–46]	0,45 ⁺⁺
ASST dương tính (n, %)	11 (52,4)	6 (54,6)	17 (60,7)	0,83**
Có phù mạch (n, %)	9 (42,9)	5 (45,5)	11 (39,3)	0,93**
Giảm BCAA (n, %) ($<0,01 \times 10^9/L$)	1 (4,8)	0 (0)	0 (0)	0,53***
Giảm BCAT (n, %) ($<0,05 \times 10^9/L$)	7 (33,3)	1 (9,1)	9 (32,1)	0,33***
Tăng CRP ($> 5 \text{ mg/L}$) (n, %)	3 (14,3)	1 (9,1)	4 (14,3)	1***
Tăng IgE toàn phần ($> 100 \text{ IU/mL}$) (n, %)	17 (80,9)	8 (72,7)	24 (85,7)	0,32***
Tăng IgG kháng TPO ($\geq 34 \text{ U/mL}$) (n, %)	1 (4,8)	0 (0)	2 (7,1)	1***

(** χ^2 test, ***Fisher Exact test, ⁺⁺⁺ Anova test, ⁺⁺ Krusal Wallis test)

Nhận xét:

Nhóm MĐMTTP nặng đáp ứng hoàn toàn với bilastin có điểm UAS7 tương tự với nhóm đáp ứng tốt và thấp hơn nhóm đáp ứng kém ($p < 0,05$). Không ghi nhận sự khác biệt giữa 3 nhóm về các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng khác như tuổi, giới tính, thời gian diễn biến bệnh, tỉ lệ phù mạch, tỉ lệ ASST dương tính, giảm BCAT, giảm BCAA, tăng IgE toàn phần, tăng CRP và tăng IgG kháng TPO ($p > 0,05$).

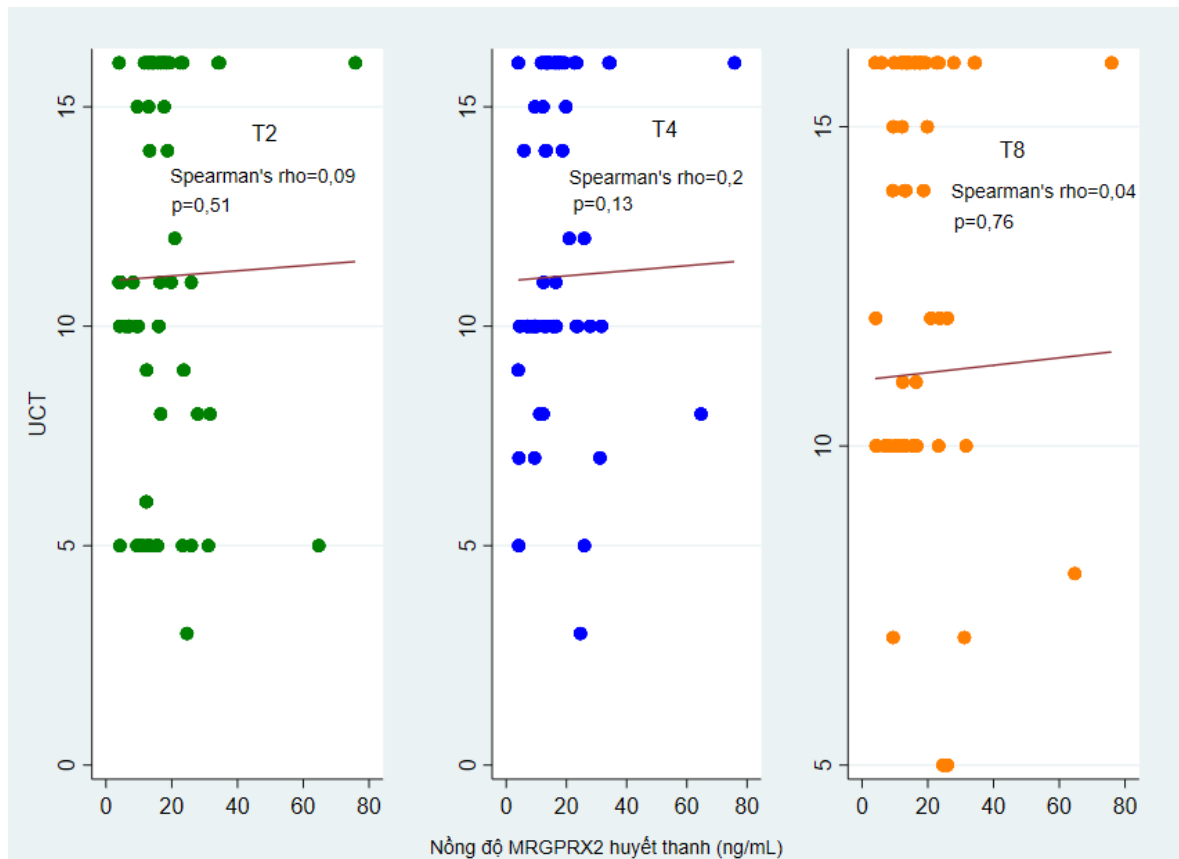
3.2.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng



Biểu đồ 3.20: Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ban đầu giữa các nhóm đáp ứng điều trị bằng bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (Kruskal-Wallis test) (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần, HT: hoàn toàn)

Nhận xét:

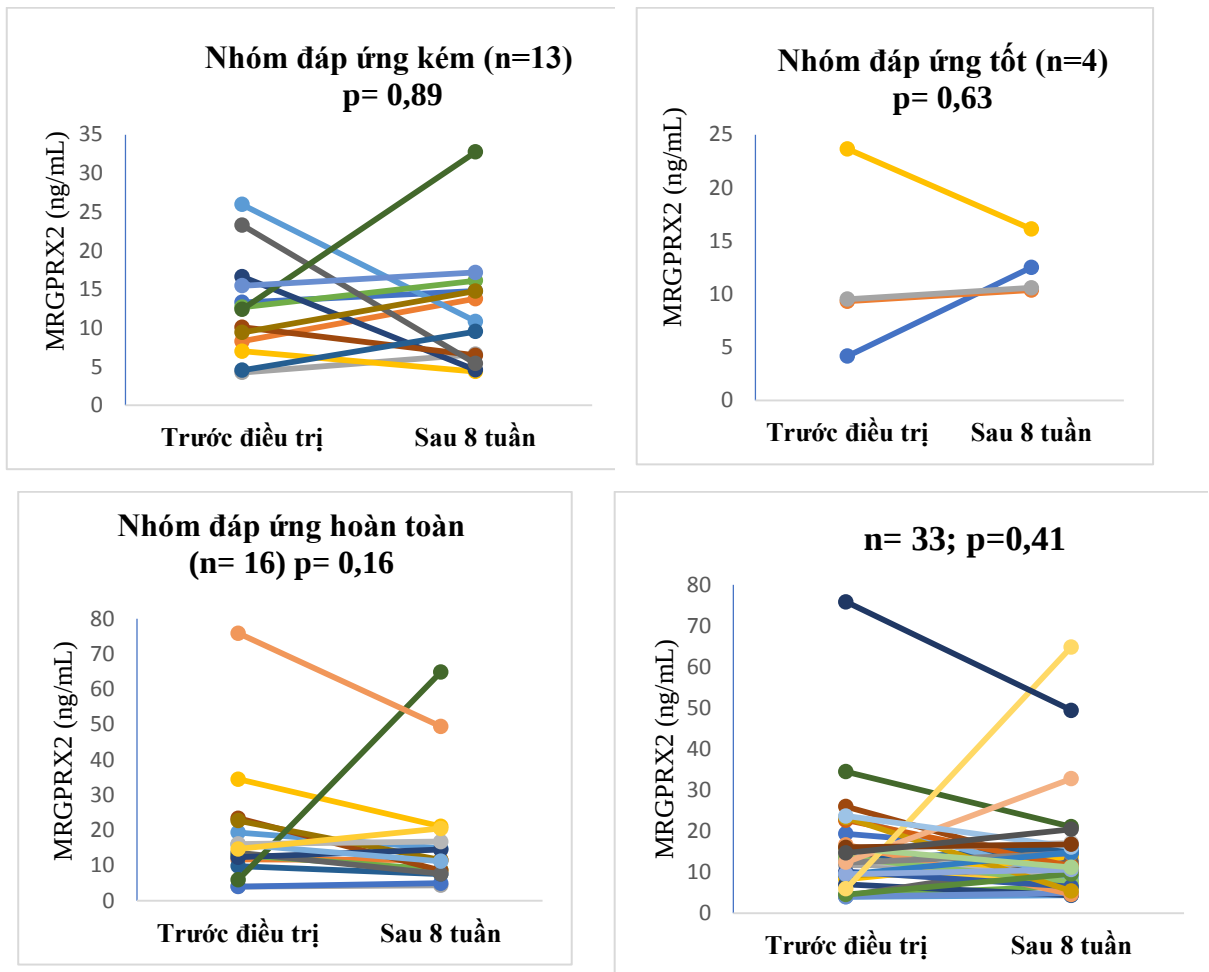
Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh trước điều trị ở nhóm kiểm soát kém với bilastin tại ba thời điểm T2 (12,99 [9,33–23,3] ng/mL), T4 (12,54 [8,8–23,48] ng/mL) và T8 (13,3 [9,41–23,3] ng/mL) đều thấp hơn hai nhóm còn lại, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). 3 NB có nồng độ MRGPRX2 huyết thanh cao nhất trong nhóm MĐMTTP nặng thì 2 NB đạt kiểm soát hoàn toàn với bilastin từ liều chuẩn, chỉ có 1 NB vẫn kiểm soát kém với bilastin dù đã tăng liều lên gấp 4 lần.



Biểu đồ 3.21: Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với điểm UCT theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần)

Nhận xét:

Không ghi nhận mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và điểm kiểm soát bệnh UCT tại ba thời điểm T2, T4 và T8 ($p > 0,05$).

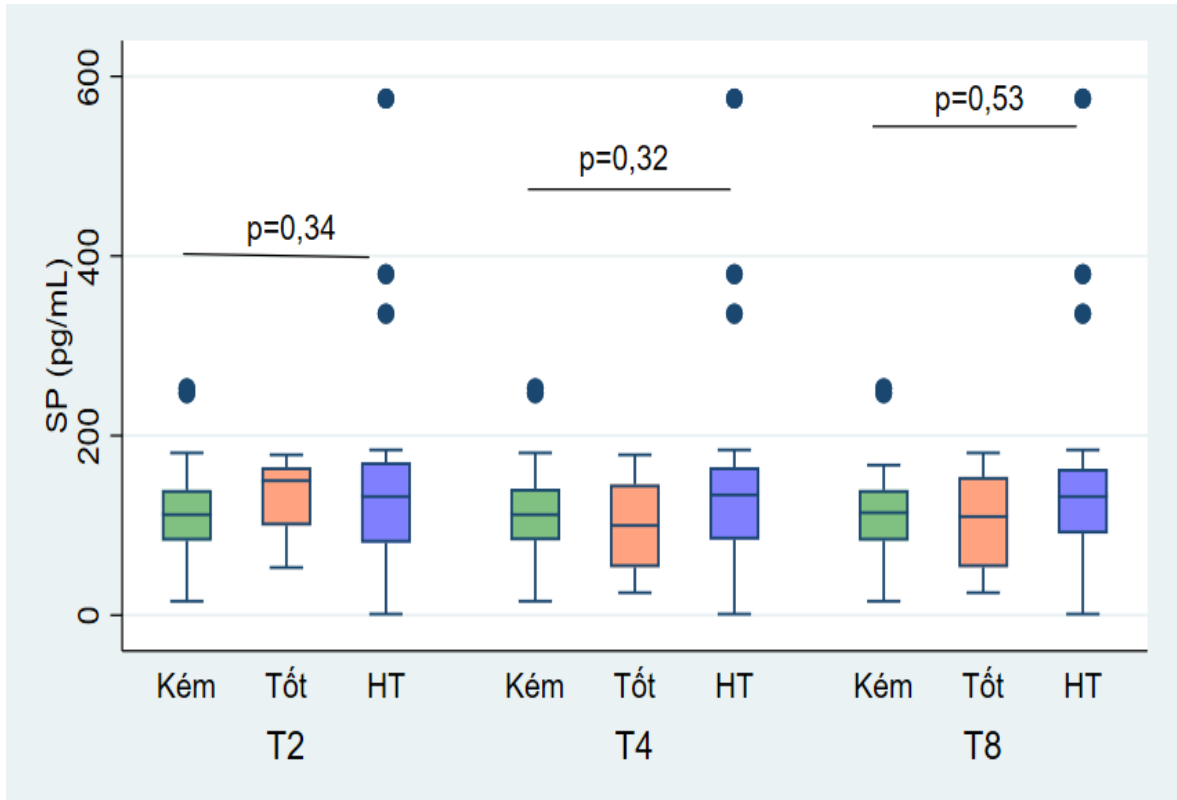


Biểu đồ 3.22: Sự thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng (Wilcoxon signed-rank test)

Nhận xét:

Tại T8, chúng tôi thu thập được 33 mẫu huyết thanh (13 NB trong nhóm đáp ứng kém, 4 NB trong nhóm đáp ứng tốt và 16 NB trong nhóm đáp ứng hoàn toàn). Mặc dù có giảm số lượng mẫu huyết thanh ở lần 2 (45%) nhưng hiện tượng mất mẫu này xảy ra đều ở tất cả các nhóm đáp ứng kém, đáp ứng hoàn toàn và đáp ứng tốt nên số liệu vẫn đạt độ tin cậy. Không có sự thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong ba nhóm này ($p > 0,05$). Có 2 NB MĐMTTP nặng tăng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh rõ rệt sau 8 tuần điều trị, từ 5,78 lên 64,86 ng/mL và từ 11,6 lên 32,77 ng/mL, nhưng nằm ở 2 nhóm đáp ứng điều trị khác nhau: NB đầu tiên ở nhóm kiểm soát hoàn toàn và NB thứ 2 ở nhóm kiểm soát kém. Đồng thời, có 2 NB MĐMTTP nặng giảm nồng độ MRGPRX2 huyết thanh rõ rệt sau 8 tuần điều trị, từ 75,88 xuống 49,4 ng/mL và từ 34,47 xuống 21,05 ng/mL, nhưng cùng thuộc nhóm kiểm soát hoàn toàn.

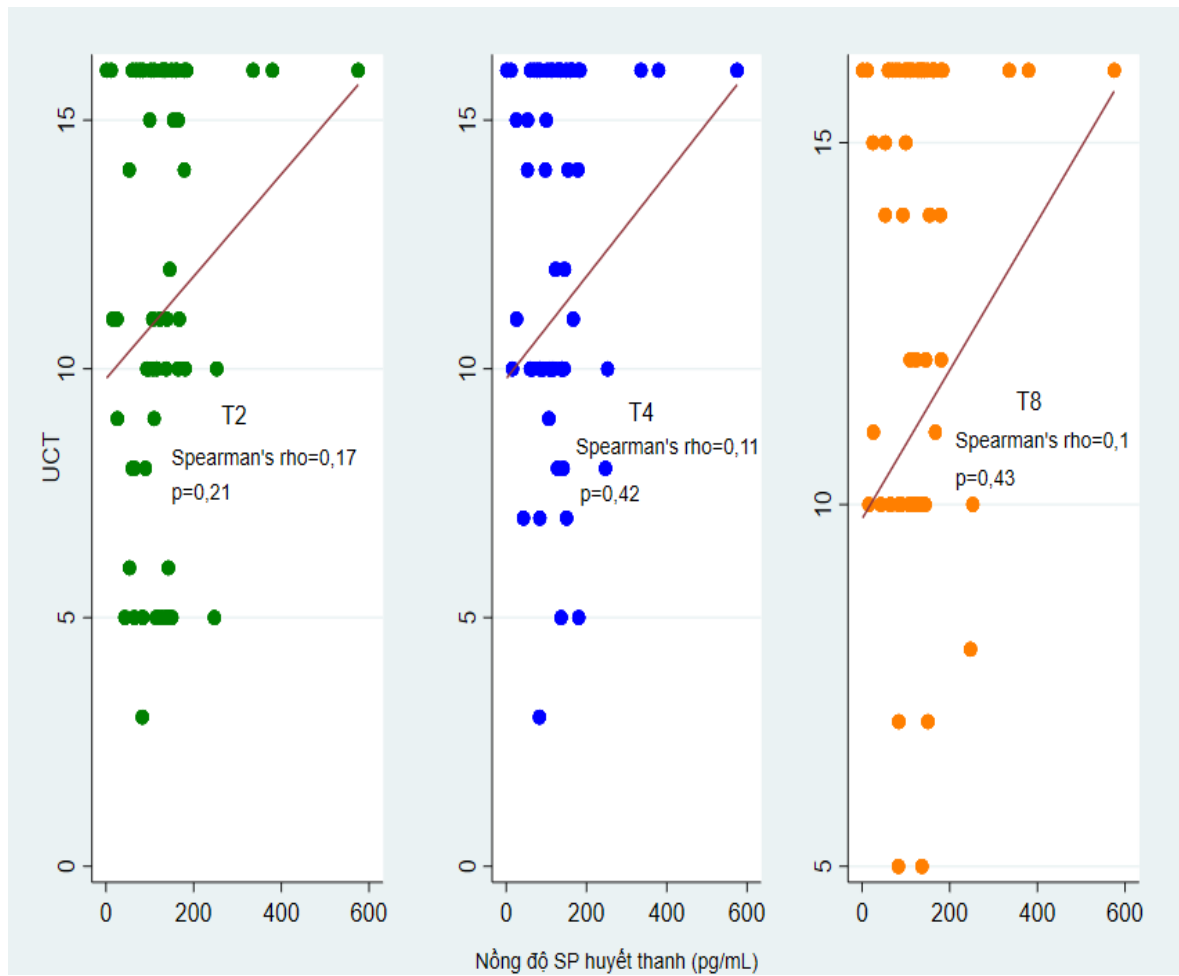
3.2.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng



Biểu đồ 3.23: Nồng độ SP huyết thanh ban đầu giữa các nhóm đáp ứng điều trị bằng bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (Kruskal-Wallis test) (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần, HT: hoàn toàn)

Nhận xét:

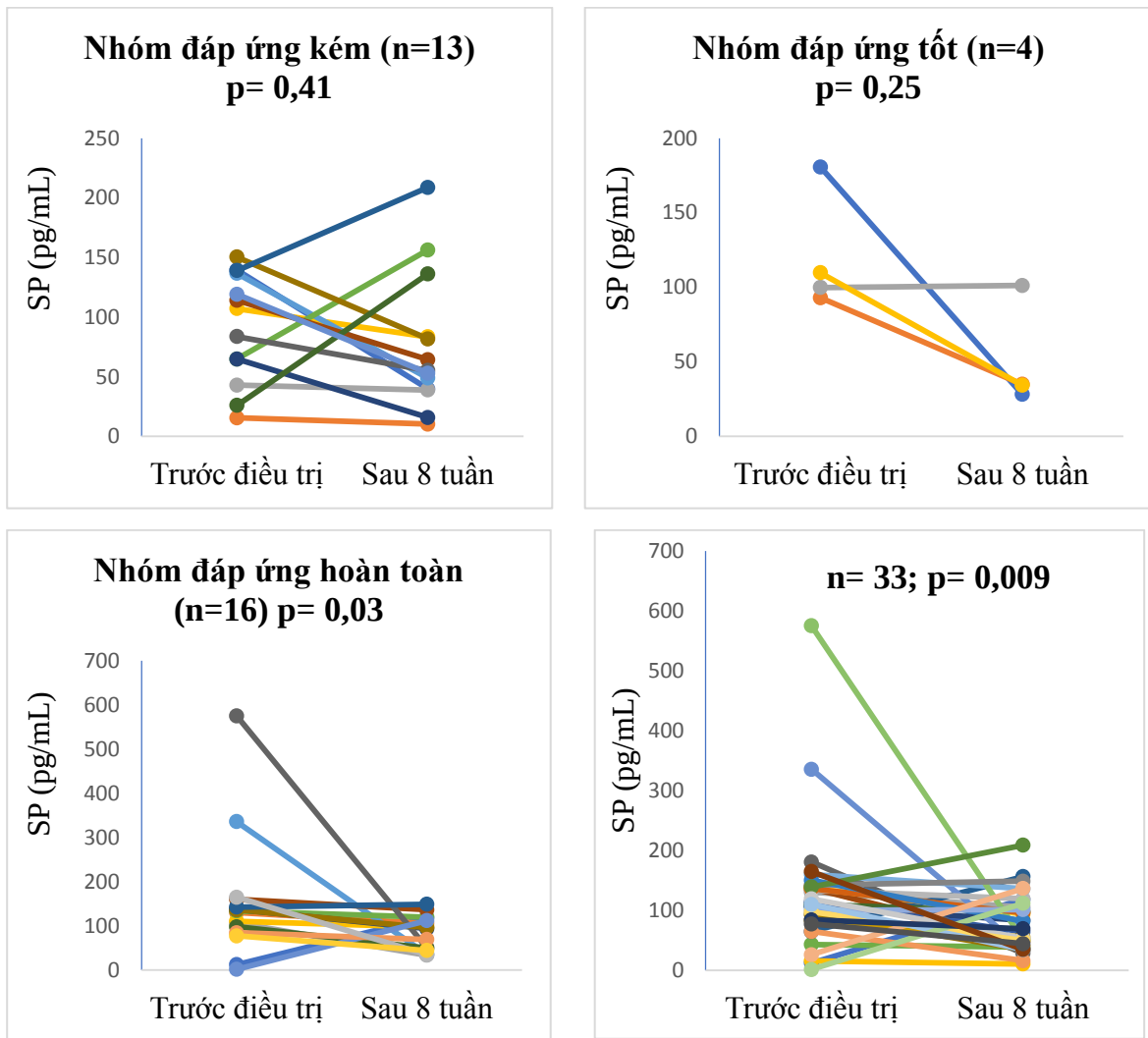
Nồng độ SP huyết thanh trước điều trị ở nhóm kiểm soát kém với bilastin tại ba thời điểm T2 ($111,99 \pm 54,59$ pg/mL), T4 ($115,29 \pm 55,75$ pg/mL) và T8 ($114,09 [82,97-139,42]$ pg/mL) đều thấp hơn nhóm kiểm soát hoàn toàn, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). 4 NB có nồng độ SP huyết thanh cao nhất trong nhóm MĐMTTP nặng thì 3 NB đạt kiểm soát hoàn toàn với bilastin từ liều chuẩn, chỉ có 1 NB vẫn kiểm soát kém với bilastin dù đã tăng liều lên gấp 4 lần.



Biểu đồ 3.24: Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với điểm UCT theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần)

Nhận xét:

Không ghi nhận mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh và điểm kiểm soát bệnh UCT tại ba thời điểm T2, T4 và T8 ($p > 0,05$).

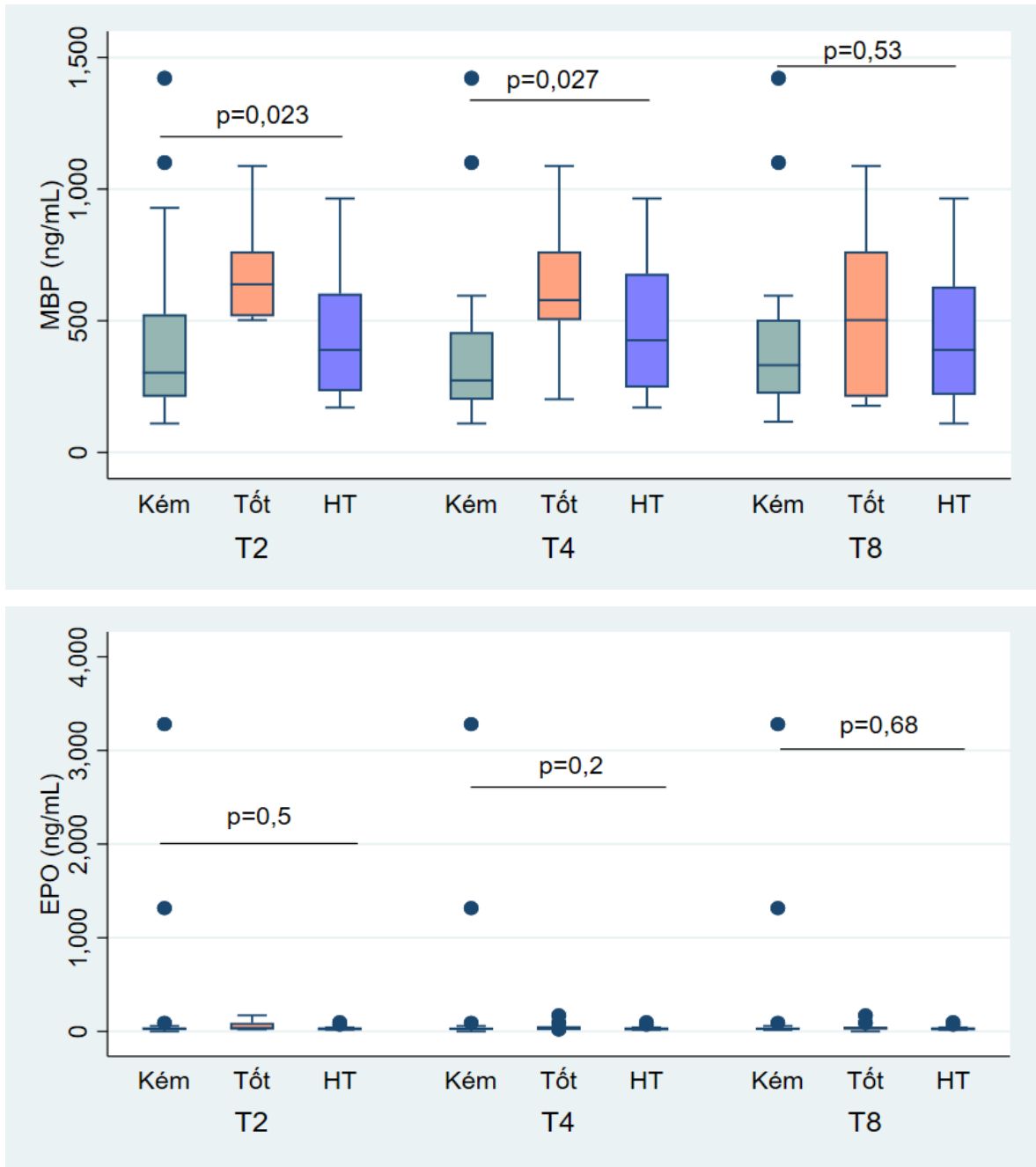


Biểu đồ 3.25: Sự thay đổi nồng độ SP huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng (Wilcoxon signed-rank test)

Nhận xét:

Trong 33 mẫu huyết thanh của nhóm MĐMTTP nặng lưu lần 2 tại T8, nồng độ SP huyết thanh có xu hướng giảm sau điều trị bằng bilastin, rõ ràng nhất ở nhóm đáp ứng hoàn toàn ($p < 0,05$). Trong nhóm đáp ứng kém, có 3/13 NB tăng nồng độ SP sau điều trị.

3.2.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng



Biểu đồ 3.26: Nồng độ MBP và EPO huyết thanh ban đầu giữa các nhóm đáp ứng điều trị bằng bilastin theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (Kruskal-Wallis test) (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần)

Nhận xét:

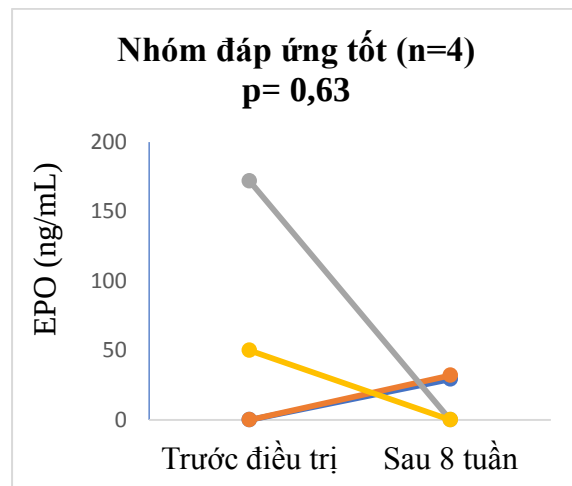
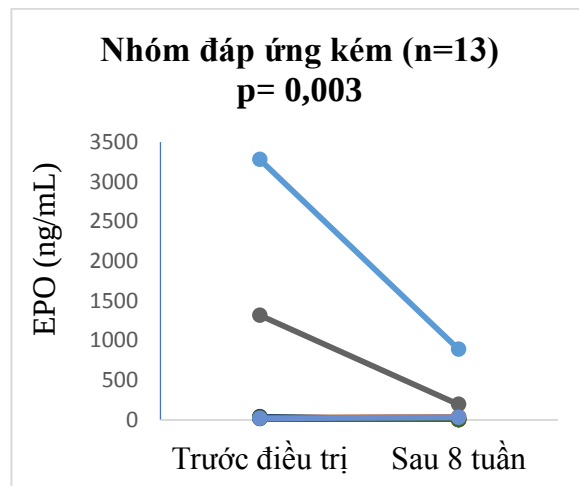
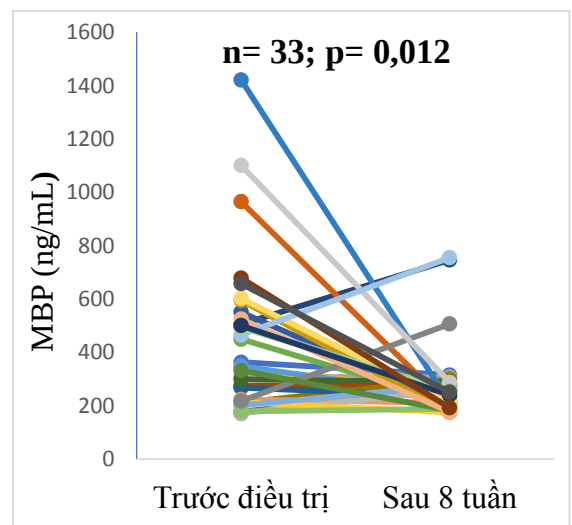
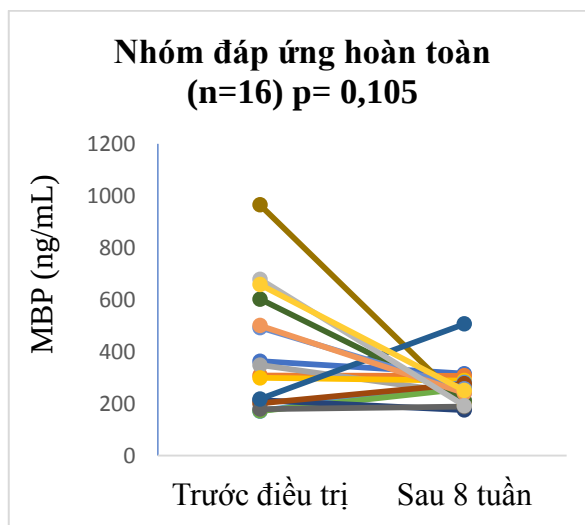
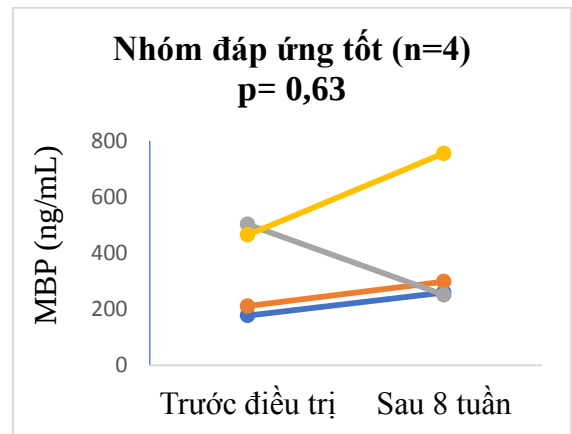
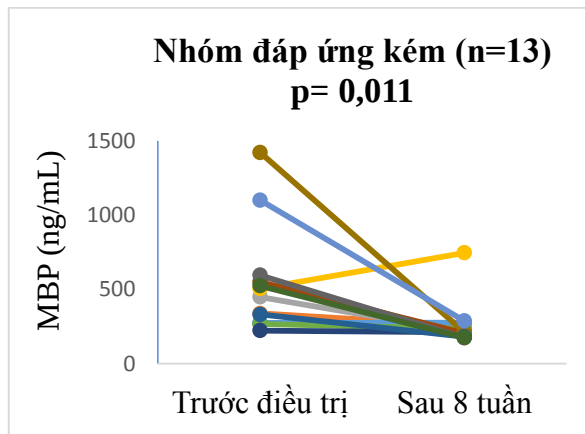
Nồng độ MBP huyết thanh trước điều trị ở nhóm kiểm soát kém với bilastin tại thời điểm T2 (302,95 [211,21–524,57] ng/mL) và T4 (273,14 [199,98–457,02] ng/mL) thấp hơn nhóm đáp ứng tốt ($p = 0,049$) và không khác biệt với nhóm đáp ứng hoàn toàn ($p = 0,79$ và $p = 0,37$, Kruskal-Wallis test, hậu kiểm Dunn test). Tuy nhiên, tại T8, nồng độ MBP huyết thanh trung bình của ba nhóm đều tương tự nhau ($p > 0,05$). Trong khi đó, nồng độ EPO huyết thanh trước điều trị ở nhóm kiểm soát kém với bilastin tại ba thời điểm T2 (30,49 [19,66–36,89] ng/mL), T4 (27,92 [19,09–38,19] ng/mL) và T8 (27,92 [19,66–39,5] pg/mL) đều không khác biệt với hai nhóm còn lại ($p > 0,05$). 2 NB có nồng độ MBP và EPO huyết thanh cao nhất trong nhóm MĐMTTP nặng đều kiểm soát kém với bilastin dù đã tăng liều lên gấp 4 lần.

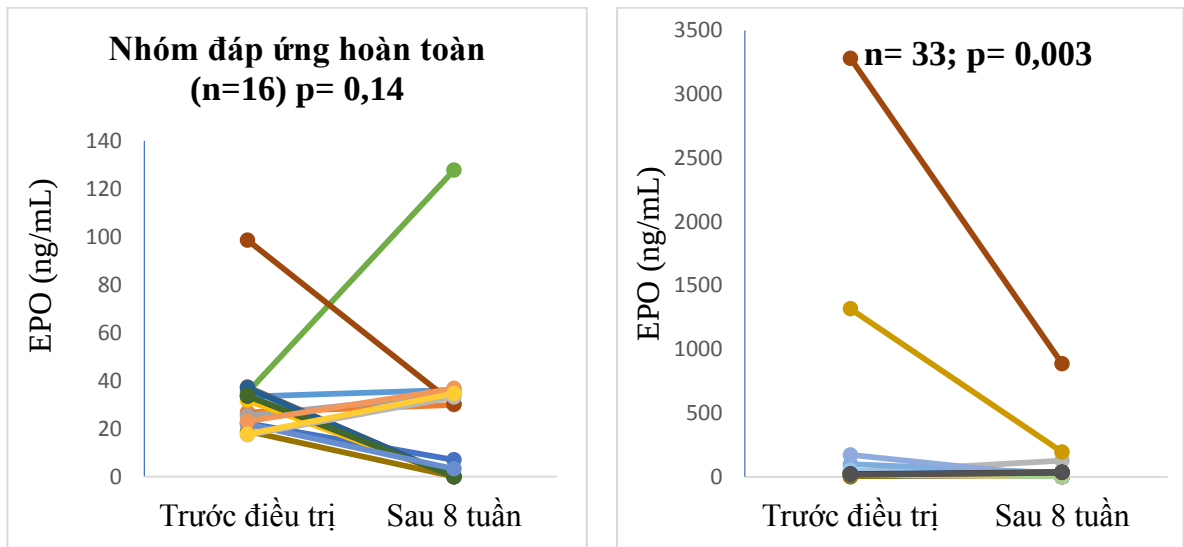
Bảng 3.8: *Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với điểm UCT theo thời gian trong nhóm MĐMTTP nặng (T2: sau 2 tuần, T4: sau 4 tuần, T8: sau 8 tuần)*

Thời điểm	MBP		EPO	
	Hệ số tương quan		Hệ số tương quan	
	Spearman	p	Spearman	p
T2	0,17	0,19	–0,1	0,44
T4	0,26	0,041	–0,11	0,4
T8	0,1	0,45	–0,1	0,43

Nhận xét:

Nồng độ MBP huyết thanh có mối tương quan thuận với mức độ rất yếu với điểm UCT tại thời điểm T4 ($r = 0,26$ với $p < 0,05$) nhưng không ghi nhận mối tương quan tại T2 và T8 ($p > 0,05$). Không ghi nhận mối tương quan giữa nồng độ EPO huyết thanh với điểm kiểm soát bệnh UCT tại ba thời điểm T2, T4 và T8 ($p > 0,05$).





Biểu đồ 3.27: Sự thay đổi nồng độ MBP và EPO huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng (Wilcoxon signed-rank test)

Nhận xét:

Nồng độ MBP và EPO huyết thanh có xu hướng giảm rõ rệt sau điều trị bằng bilastin ở nhóm MĐMTTP đáp ứng kém ($p < 0,05$) mà không ghi nhận sự thay đổi ở nhóm đáp ứng tốt và hoàn toàn ($p > 0,05$).

CHƯƠNG 4

BÀN LUẬN

4.1. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP

4.1.1. Một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

4.1.1.1. Tuổi và giới

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy MĐMTTP ở người trưởng thành chủ yếu gặp ở nữ giới với tuổi trung bình khoảng 40 (Bảng 3.1). Điều cũng được ghi nhận ở nhiều nghiên cứu dịch tễ của MĐMTTP.^{124,125} Sự phân bố về tuổi và giới trong MĐMTTP có ý nghĩa quan trọng cả về lâm sàng lẫn xã hội. Việc MĐMTTP chủ yếu xảy ra ở nhóm tuổi lao động không chỉ gây suy giảm chất lượng cuộc sống của người bệnh, ảnh hưởng đến nhiều lĩnh vực như chất lượng giấc ngủ, sức khỏe thể chất và tinh thần, mà còn đặt ra gánh nặng đáng kể cho xã hội khi xét đến chi phí điều trị định kỳ và mất ngày công lao động. Ngoài ra, áp lực trong công việc và cuộc sống cũng có thể là yếu tố khởi phát các đợt cấp của MĐMTTP.¹²⁶ Tỷ lệ nữ chiếm ưu thế trong MĐMTTP được cho là có liên quan đến hormone sinh dục và bệnh tự miễn, mặc dù các bằng chứng chưa thật sự được thuyết phục.¹²⁷

Bảng 3.1 cũng chỉ ra nhóm MĐMTTP nặng có độ tuổi trung bình cao hơn và tỷ lệ nữ thấp hơn nhóm MĐMTTP không nặng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Cao và cs ghi nhận kết quả tương tự, trong đó nhóm MĐMTTP nặng có tuổi trung bình là $38,7 \pm 8,7$ tỷ lệ giới nữ là 60,3%; không khác biệt với nhóm MĐMTTP không nặng, tương ứng là $40,2 \pm 9,7$ với tỷ lệ nữ là 67,4% ($p > 0,05$).¹¹ Nghiên cứu tổng quan về dấu ấn sinh học trong MĐMTTP cho thấy giới và tuổi không liên quan đến mức độ hoạt động của bệnh với bằng chứng mạnh.¹²⁸

4.1.1.2. Thời gian diễn biến bệnh

Mối liên quan giữa thời gian diễn biến bệnh với mức độ hoạt động bệnh trong MĐMTTP được khảo sát ở một số nghiên cứu, nhưng kết quả không thống nhất. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thời gian diễn biến bệnh giữa nhóm MĐMTTP

nặng và không nặng tương đồng nhau, khoảng 20 tuần ($p > 0,05$) (Bảng 3.1). Không ghi nhận sự khác biệt về thời gian diễn biến bệnh với mức độ nặng của MĐMTTP cũng là kết quả trong nghiên cứu của Cao và cs.¹¹ Ngược lại, nghiên cứu của Hiragun và Gregoriou cho thấy thời gian bị bệnh kéo dài thì mức độ bệnh nặng hơn.^{129,130} Sự khác biệt giữa các nghiên cứu cho thấy thời gian diễn biến bệnh không phải là dấu ấn sinh học đáng tin cậy đối với mức độ hoạt động của bệnh trong MĐMTTP.

4.1.1.3. Tỷ lệ phù mạch

Phù mạch là một triệu chứng của MĐMTTP, trong đó 33% NB có đồng thời sản phù và phù mạch và 6% NB chỉ có biểu hiện phù mạch.¹⁸ So với sản phù, phù mạch mang tính chất nặng nề hơn với biểu hiện sưng phù sâu đột ngột, rõ rệt ở lớp hạ bì và mô dưới da hoặc niêm mạc, triệu chứng cơ năng là nóng rát, căng tức và đôi khi đau thay vì ngứa, thường kéo dài hơn so với sản phù (có thể mất tới 72 giờ).²

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ phù mạch ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn nhóm MĐMTTP không nặng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (bảng 3.1). Kết quả này trái ngược với nhiều nghiên cứu trên thế giới. Nghiên cứu của Cao và cs cho thấy nhóm MĐMTTP nặng có tỷ lệ phù mạch cao gấp 2 lần so với nhóm không nặng (tương ứng là 49,3% và 22,5% với $p < 0,05$).¹¹ Nghiên cứu của Sussman trên hơn 600 NB ghi nhận điểm UAS7 và tỷ lệ mức độ hoạt động cao ($UAS7 \geq 28$) ở nhóm MĐMTTP có phù mạch là $17,6 \pm 10,55$ điểm và 18,9% cao hơn nhóm MĐMTTP không phù mạch là $14,6 \pm 8,97$ điểm và 12,4% ($p < 0,05$).¹³¹ Nghiên cứu khác tại Việt Nam với hơn 900 NB MĐMTTP cũng ghi nhận tỷ lệ NB có $UAS7 \geq 28$ điểm ở nhóm có phù mạch cao hơn so với nhóm không phù mạch (tương ứng là 71,5% và 48,2% với $p < 0,001$).¹³² Sự khác biệt giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến cỡ mẫu và sai số nhớ lại của người bệnh.

4.1.1.4. Tỷ lệ ASST dương tính

Test huyết thanh tự thân (ASST) là một dấu ấn sinh học chỉ điểm cho MĐMTTP đang hoạt động và phản ánh cơ chế tự miễn/tự phản ứng của MĐMTTP.¹³³ Mặc dù được thực hiện từ năm 1986 nhưng mối liên quan giữa ASST

dương tính với mức độ nặng của MĐMTTP chưa có sự thống nhất giữa các nghiên cứu. Chỉ có một nửa số nghiên cứu chỉ ra có sự liên quan có ý nghĩa thống kê giữa hai điều này.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỉ lệ ASST dương tính ở nhóm MĐMTTP nặng thấp hơn nhóm MĐMTTP không nặng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.1). Kết quả này cũng tương đồng với một nghiên cứu cắt ngang trên gần 400 NB MĐMTTP tại Việt Nam với tỉ lệ ASST dương tính trong nhóm MĐMTTP nặng và không nặng là 59,6%–54,3% ($p > 0,05$).¹³⁴ Một số nghiên cứu khác trên thế giới cũng ghi nhận kết quả tương tự. Nghiên cứu năm 2011 của Alyasin và cộng sự trên 69 NB MĐMTTP cho thấy nhóm MĐMTTP nặng có ASST dương tính là 54,5%, không khác biệt với MĐMTTP không nặng là 60,3% ($p = 0,09$).¹³⁵ Nghiên cứu của Cao và cs cho thấy có tỉ lệ ASST dương tính trong nhóm MĐMTTP nặng là 49,3%, tương tự với nhóm không nặng là 51,2% ($p > 0,05$).¹¹ Một số nghiên cứu khác lại ghi nhận có mối liên quan giữa tỉ lệ ASST dương tính và mức độ nặng của MĐMTTP. Phân tích cộng gộp trên 11 nghiên cứu tại châu Á từ năm 2005 đến năm 2017 (trong đó 9 nghiên cứu có cỡ mẫu nhỏ dưới 100) cho thấy điểm UAS ở nhóm MĐMTTP có ASST dương tính cao hơn nhóm ASST âm tính ($p < 0,05$).¹³⁶ Sự khác biệt trong kết quả giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến quy mô mẫu, tiêu chí lựa chọn NB và thời điểm đánh giá.

4.1.1.5. Số lượng BCAT

BCAT thuộc dòng tế bào miễn dịch bẩm sinh, chiếm 1-3% tổng số lượng bạch cầu trong máu ngoại vi.¹³⁷ Bằng chứng về thâm nhiễm BCAT tại tổn thương da của NB MĐMTTP được phát hiện từ những năm 1980 bởi Grattan và cộng sự.¹³⁸ Quá trình hóa ứng động của BCAT vào tổn thương da cùng với sự giáng hạt của nó trong MĐMTTP dẫn tới giảm tế bào này trong máu ngoại vi. Hiện tượng này được báo cáo lần đầu trên một số trường hợp nữ đồng mắc MĐMT và viêm mũi dị ứng vào năm 1981 hoặc đồng mắc bạch biến vào năm 1988.^{139,140} Năm 2020, một nghiên cứu lớn trên 1259 NB MĐMTTP đã ghi nhận khoảng 10% NB MĐMTTP có giảm BCAT ở máu ngoại vi ($< 0,05 \times 10^9/L$). Trong đó, nhóm MĐMTTP nặng có tới

17,6% NB giảm BCAT trong máu ngoại vi, cao hơn so với nhóm mức độ hoạt động bệnh trung bình và thấp (tương ứng là 9,2% và 7%) với $p < 0,05$. Ngược lại, nhóm NB giảm BCAT có tới hơn 40% NB có mức độ hoạt động bệnh cao, gấp gần 2 lần so với nhóm không giảm BCAT (hơn 20%).¹⁴¹ Nghiên cứu khác tại Việt Nam với hơn 1500 NB MĐMTTP cũng ghi nhận tỉ lệ NB có $UAS7 > 28$ ở nhóm MĐMTTP có giảm BCAT cao hơn so với nhóm không giảm BCAT (tương ứng là 76,1% và 70% với $p < 0,05$).¹⁴² Hiện tại, EAACI/GA²LEN/EDF/WAO đều khuyến cáo nên xét nghiệm thường quy công thức máu trong MĐMTTP.²

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy nhóm MĐMTTP nặng có số lượng BCAT ở máu ngoại vi thấp hơn và tỉ lệ giảm BCAT cao hơn nhóm MĐMTTP không nặng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Bảng 3.2). Sự khác biệt trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi so với các nghiên cứu trên có thể xuất phát từ cỡ mẫu nhỏ vì mục tiêu chính của nghiên cứu này không tập trung vào số lượng và tỉ lệ giảm BCAT ở máu ngoại vi trong MĐMTTP.

4.1.1.6. Số lượng BCAF

BCAF thuộc dòng tế bào miễn dịch bẩm sinh, chiếm dưới 1% tổng số lượng bạch cầu trong máu ngoại vi và có nhiều đặc điểm tương đồng với tế bào mast: chung dòng tế bào gốc tiền thân, bào tương chứa nhiều hạt mang histamin và có thụ thể với IgE là FcεRI trên màng tế bào. BCAF đã được xác định là tế bào hiệu ứng của MĐMTTP.¹⁴³ Cách đây hơn 60 năm, Rorsman và cộng sự đã chú ý đến hiện tượng giảm bạch cầu ái kiềm trong máu ngoại vi của NB MĐMTTP. Tác giả đã chỉ ra nguyên nhân của hiện tượng này là do BCAF bị hóa ứng động tại vị trí da tổn thương.¹⁴⁴ Giảm BCAF máu ngoại vi được định nghĩa là khi số lượng BCAF $< 0,01 \times 10^9/L$. Nghiên cứu của Kolkhir và cs. trên hơn 1000 NB MĐMTTP cho thấy tỉ lệ giảm BCAF trong bệnh lý này lên đến 14,4%. Hầu hết các NB giảm BCAF thì kèm theo giảm BCAT (81%), nhưng chỉ có 23% NB giảm BCAT là kèm theo giảm BCAF.¹⁴¹ Nghiên cứu của Grattan năm 2003 cho thấy có mối liên quan nghịch giữa số lượng BCAF trong máu và điểm UAS (hệ số tương quan Spearman $r = -0,612$; $p = 0,001$).¹⁴⁵ Các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn của Huang năm 2020 và Johal năm 2021 cũng cho nhận định tương tự.^{146,147}

Nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy nhóm MĐMTTP nặng có số lượng BCAA ở máu ngoại vi thấp hơn và tỉ lệ giảm BCAA cao hơn nhóm MĐMTTP không nặng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Bảng 3.2). Sự khác biệt về kết quả nghiên cứu của chúng tôi so với các nghiên cứu kể trên có thể xuất phát từ cỡ mẫu nhỏ vì mục tiêu chính của nghiên cứu này không tập trung vào số lượng và tỉ lệ giảm BCAA ở máu ngoại vi trong MĐMTTP.

4.1.1.7. Nồng độ CRP

CRP là một protein viêm được sản xuất ở gan và thường tăng trong nhiều bệnh lý liên quan đến nhiễm trùng, ung thư, bệnh tự miễn, bệnh lý tim mạch...^{148,149} Trong MĐMTTP, EAACI/GA²LEN/EDF/WAO đều khuyến cáo nên đánh giá CRP ở tất cả BN, không chỉ liên quan đến chẩn đoán phân biệt mà còn liên quan đến nhận định mức độ nặng của bệnh.² Hơn 20 nghiên cứu đánh giá vai trò của CRP trong MĐMTTP, đa số ($> 70\%$) đều chỉ ra sự tăng cao của CRP thường kết hợp với mức độ nặng của bệnh. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng cho thấy nồng độ CRP ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn nhóm MĐMTTP không nặng ($p = 0,02$) (Bảng 3.2). Tuy nhiên, với điểm cut-off là 5 mg/L, tỉ lệ CRP tăng ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn không có ý nghĩa thống kê so với nhóm MĐMTTP không nặng ($p = 0,57$). Cùng lấy điểm cut off như vậy, nghiên cứu lớn nhất trên 1253 bệnh nhân MĐMTTP của tác giả Kolkhir (2018) cho thấy khoảng 33% NB MĐMTTP có tăng CRP và nồng độ CRP có liên quan thuận với điểm UAS7 ($r = 0,759$, $p < 0,01$).¹⁵⁰ Cần có thêm các nghiên cứu đa trung tâm với cỡ mẫu lớn hơn để đánh giá một cách toàn diện mối liên quan giữa nồng độ CRP và mức độ nặng của MĐMTTP.

4.1.1.8. Nồng độ IgE toàn phần

IgE là globulin miễn dịch đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP thông qua con đường giáng hạt tế bào mast bằng cách hoạt hóa thụ thể có ái lực cao với IgE là FcεRI với hai endotype đã được công nhận là MĐMTTM type 1 (MĐMT tự dị ứng) và MĐMTTM type 2b.³ Nồng độ IgE toàn phần tăng cao (>100 IU/mL) được ghi nhận ở hơn 50% NB MĐMTTP.¹⁵¹ Nghiên cứu của chúng

tôi cũng cho thấy tỉ lệ tăng IgE toàn phần trong cả hai nhóm MĐMTTP nặng và không nặng đều trên 70%. Tuy nhiên, sự khác biệt giữa hai nhóm về tỉ lệ tăng IgE toàn phần không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Bảng 3.2). Nghiên cứu của Baek và cộng sự cũng cho kết quả tương tự với nồng độ IgE toàn phần không có sự khác biệt giữa các nhóm MĐMTTP nặng, trung bình và nhẹ; đồng thời không có mối tương quan giữa nồng độ IgE toàn phần và điểm UAS ($r < 0,01$; $p > 0,05$).¹⁵² Nghiên cứu của Bhatia cũng cho thấy không có mối tương quan giữa nồng độ IgE toàn phần và điểm UAS7 ($r = 0,07$; $p = 0,55$).¹⁵³ Một số nghiên cứu khác lại ghi nhận kết quả ngược lại. Nghiên cứu của Liu cho thấy có mối tương quan giữa nồng độ IgE toàn phần và điểm UAS7 ($r = 0,21$; $p = 0,038$).¹⁵⁴ Nghiên cứu của Kessel ghi nhận nhóm MĐMTTP nặng có tỉ lệ tăng IgE toàn phần là 59%, cao hơn nhóm trung bình và nhóm nhẹ (33% và 7%) với $p < 0,0001$.¹⁵⁵ Nghiên cứu của Cao và cs cho thấy nhóm MĐMTTP nặng có nồng độ IgE toàn phần cao hơn nhóm không nặng ($p < 0,001$).¹¹ Các phương pháp đo nồng độ IgE toàn phần khác nhau, tiêu chuẩn chọn mẫu và cỡ mẫu khác nhau giữa các nghiên cứu có thể là nguyên nhân gây ra sự khác biệt về mối liên quan giữa nồng độ IgE toàn phần và mức độ nặng của MĐMTTP.

4.1.1.9. Nồng độ IgG kháng TPO

TPO đã được công nhận là mục tiêu chung của cả bệnh tự dị ứng và tự miễn. Trong dân số nói chung, tỷ lệ tăng IgG kháng TPO là 3%–6%, trong khi ở MĐMTTP, tỷ lệ này tăng lên 17,7%–29%.¹⁵⁶ Nồng độ IgG kháng TPO được khuyến cáo xét nghiệm cho NB MĐMTTP theo EAACI/GA²LEN/ EuroGuiDerm/ APAAACI bởi giá trị sàng lọc bệnh lý tuyến giáp tự miễn, đồng thời đây cũng là một dấu ấn sinh học của MĐMTTM.² Tuy nhiên, xét nghiệm này dường như không có giá trị chỉ điểm mức độ hoạt động của bệnh trong MĐMTTP. Nhiều nghiên cứu cho thấy không có mối tương quan giữa nồng độ IgG kháng TPO và điểm UAS7.^{153,157} Nghiên cứu của Jang ghi nhận điểm UAS7 giữa nhóm MĐMTTP có tăng IgG kháng TPO tương tự như nhóm không tăng IgG kháng TPO ($18,6 \pm 10,9$ điểm và $19,5 \pm 10,9$ điểm với $p = 0,69$).¹⁵⁸ Nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra không có sự khác biệt giữa hai nhóm MĐMTTP không nặng và nặng về tỉ lệ tăng IgG kháng TPO ($p > 0,05$) (Bảng 3.2).

4.1.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP

4.1.2.1. Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP và nhóm chứng

Biểu đồ 3.1 cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng không có sự khác biệt với nhóm chứng. Kết quả này trái ngược với ghi nhận trong nghiên cứu của Cao và cs: nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn nhóm chứng, tương ứng là 16,5 [10,8–24,8] ng/mL và 11,7 [6,5–21,2] ng/mL với $p = 0,036$.¹¹ Một nghiên cứu khác của Asero lại cho kết quả đối lập: nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1 có điểm UAS7 ≥ 20 thấp hơn nhóm chứng, tương ứng là 16 [10–76] ng/mL và 26 [15–41] ng/mL với $p = 0,009$.⁷¹ Các kết quả không thống nhất giữa các nghiên cứu có thể xuất phát từ tiêu chuẩn chọn mẫu. Nghiên cứu của chúng tôi và Cao khá tương đồng về tiêu chuẩn chọn mẫu, chỉ khác về tiêu chuẩn loại trừ. Chúng tôi loại trừ những NB MĐMTTP đồng mắc các bệnh lý có liên quan đến tăng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh như hen phế quản, viêm mũi dị ứng, còn nghiên cứu của Cao và cs thì không. Nghiên cứu của Asero thì lấy NB MĐMTTP có điểm UAS7 ≥ 20 dù đang được điều trị với AH1, chứ không tính điểm UAS7 tại thời điểm ngừng AH1 ít nhất 5 ngày như nghiên cứu của chúng tôi. Nghiên cứu của Asero cũng chưa đề cập đến tác động của AH1 lên sự thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh. Do đó, để có thể xác định rõ sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP với nhóm chứng, cần thêm các nghiên cứu khác với cỡ mẫu lớn, chia nhiều nhóm nhỏ (có và không có bệnh cơ địa, trước và sau điều trị).

Một vấn đề nữa cần làm rõ là nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có mối tương quan như thế nào với sự biểu hiện của thụ thể này trên màng tế bào mast? Nghiên cứu của Fujisawa và cs cho thấy có sự tăng biểu hiện của thụ thể MRGPRX2 trên màng tế bào mast tại tổn thương da của các NB MĐMTTP kháng trị với AH1 có điểm UAS7 ≥ 30 . Cụ thể số lượng tế bào mast ở da có biểu hiện MRGPRX2 (116 ± 19 tế bào/mm²) và tỉ lệ phần trăm tế bào mast biểu hiện MRGPRX2 ở đối tượng này ($47,0\% \pm 6,9\%$) cao hơn hẳn so với nhóm chứng khỏe mạnh (tương ứng là

68,5±51,1 tế bào/mm² và 21,6%±7,8%) với $p < 0,05$.¹⁰ Tuy nhiên, như đã đề cập ở trên, cùng đánh giá trên nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1, nghiên cứu Asero chọn NB có điểm UAS7 ≥ 20 thì lại ghi nhận nồng độ MRGPRX2 huyết thanh thấp hơn so với nhóm chứng ($p < 0,05$). Do đó, Asero cho rằng trong MĐMTTP sự biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast và trong huyết thanh có mối tương quan nghịch.⁷¹ Theo chúng tôi, suy luận này cần phải được kiểm chứng trên cùng một nhóm đối tượng (NB và nhóm chứng) để có thể đưa ra kết luận chính xác. Thực tế, trong bệnh lý sản cục mạn tính, nghiên cứu của Kolahir và cs ghi nhận số lượng tế bào mast có biểu hiện MRGPRX2 tại vị trí tổn thương da là 4,0±0,7 tế bào/mm², tương đồng với nhóm chứng khỏe mạnh ($p > 0,05$). Tương đương với sự biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast, nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm NB sản cục và nhóm chứng cũng không có sự khác biệt ($p > 0,05$).¹⁵⁹ Nguồn gốc của MRGPRX2 trong huyết thanh vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn. Nghiên cứu của Fujisawa và cs cho thấy MRGPRX2 có mặt ở màng tế bào mast, ở trong bào tương, thậm chí có cả ở trong hạt nội bào của tế bào này.¹⁰ MRGPRX2 có thể được giải phóng bởi quá trình xuất bào và được phát hiện trong huyết thanh dưới dạng các túi nhỏ. Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có thể phản ánh sự hoạt hóa và giáng hạt của tế bào mast tại da hoặc ở một số cơ quan khác. Trong bệnh mastocytosis hệ thống, nồng độ các túi nhỏ mang MRGPRX2 có mối tương quan thuận với nồng độ tryptase, IL-6, phosphatase kiềm và sự phì đại của gan/lách.¹⁶⁰

Từ những kết quả không thống nhất về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và sự biểu hiện của thụ thể này trên màng tế bào mast giữa nhóm MĐMTTP nặng và nhóm chứng, chúng tôi cho rằng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không phải là dấu ấn sinh học để phân biệt giữa nhóm MĐMTTP và nhóm chứng. Một số nghiên cứu gợi ý rằng sự thay đổi cấu trúc của MRGPRX2 mới chính là yếu tố quyết định sự khác biệt này. Cấu trúc của thụ thể MRGPRX2 gồm có 3 phần: miền ngoại bào, các vòng nội bào và miền nội bào. Trong đó, miền ngoại bào là nơi gắn các phối tử và quyết định đáp ứng của thụ thể (tăng hoạt hóa, im lặng hay bị nội bào hóa). Một số đột biến của gen MRGPRX2 gây nên sự thay đổi cấu trúc ở túi phụ của miền ngoại

bào của thụ thể MRGPRX2, làm ảnh hưởng đến sự gắn kết của các phối tử, kết quả là gây mất tác dụng của phối tử hoặc tăng hoạt hóa của thụ thể. Trong các phản ứng giả dị ứng thuốc, một số đột biến gen của MRGPRX2 đã được chứng minh là nguyên nhân của hiện tượng giả dị ứng thuốc này.⁵⁶ Còn trong MĐMTTP, hiện tại, chỉ có một nghiên cứu của Ye và cs trên đối tượng NB Trung Quốc phân tích ý nghĩa của đột biến gen MRGPRX2. Nghiên cứu cho thấy đột biến gen MRGPRX2 tại vị trí nucleotid 185 thay thế Adenin bằng Guanin (185A>G) dẫn đến thay thế N62S (Asparagin tại vị trí 62 thay thế bằng Serin) tại thụ thể MRGPRX2 tương ứng. Đột biến 185A>G làm tăng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh so với nhóm không đột biến gen, tương ứng là $162,00 \pm 78,10$ ng/mL và $52,81 \pm 7,30$ ng/mL, $p = 0,0054$. Đồng thời, đột biến này cũng làm tăng biểu hiện của MRGPRX2 trên màng tế bào mast, tăng chức năng của MRGPRX2, tăng giải hạt tế bào mast, tăng huy động canxi, tăng tổng hợp cytokin, do đó gây tăng mức độ hoạt động của bệnh MĐMTTP. Điều đặc biệt là đột biến đồng thời 185A>G và 46A>C lại không gây ra ảnh hưởng như đột biến 185A>G đơn thuần. Để so sánh tần suất đột biến được phát hiện ở NB MĐMTTP và người khỏe mạnh, nhóm tác giả đã phân tích tần suất alen phụ của rs10833049 (185A>G) và rs11024970 (46A>C) bằng nhiều tập dữ liệu, chủ yếu từ những người khỏe mạnh được lấy từ cơ sở dữ liệu dbSNP của Trung tâm Thông tin Công nghệ Sinh học Quốc gia (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp/>). Kết quả cho thấy NB MĐMTTP có tần suất đột biến 185A>G cao hơn đáng kể, trong khi đó, đột biến 46A>C lại xuất hiện ít hơn so với quần thể đối chứng khỏe mạnh. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, tỉ lệ đột biến 185A>G đơn thuần trong MĐMTTP chỉ là 10%; đột biến đồng thời 185A>G và 46A>C là 29%. Như vậy, vẫn còn tới hơn 60% NB MĐMTTP không mang đột biến gen MRGPRX2. Cơ chế nào gây MĐMTTP ở nhóm này thì nghiên cứu lại không đề cập tới.¹³ Cần thêm các nghiên cứu trong tương lai liên quan đến các nhóm NB lớn hơn, đa dân tộc để xác nhận sự phổ biến và ý nghĩa lâm sàng của đột biến MRGPRX2 trong MĐMTTP.

4.1.2.2. Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng

Xét riêng trong nhóm MĐMTTP, nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm

MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng và có mối tương quan thuận với mức độ trung bình với điểm hoạt động bệnh UAS7 ($r=0,56$; $p<0,001$) (biểu đồ 3.1 và 3.2). Mối tương quan này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Cao và cs. ($r = 0,255$; $p = 0,006$).¹¹ Sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng so với nhóm MĐMTTP không nặng với điều kiện ngừng điều trị trên 1 tháng cũng là kết quả trong nghiên cứu của Lao và cs, tương ứng là $58,15 \pm 38,53$ ng/mL và $25,91 \pm 15,07$ ng/mL; $p = 0,034$.¹² Tuy nhiên, một điều thú vị mà nghiên cứu này ghi nhận là không có sự khác biệt trong nhóm đã điều trị bệnh (tương ứng nhóm nặng là $36,79 \pm 22,98$ ng/mL và nhóm nhẹ là $27,64 \pm 17,15$ ng/mL với $p = 0,092$). Do đây là nghiên cứu cắt ngang nên tác giả cũng chưa đưa ra được lý do của sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP đã điều trị và chưa điều trị.¹² Có thể xem xét hai nguyên nhân. Thứ nhất là các thuốc điều trị MĐMTTP có thể tác động đến quá trình xuất bào những túi nhỏ chứa MRGPRX2 của tế bào mast, làm giảm nồng độ của chất này trong huyết thanh. Thứ hai là các thuốc điều trị MĐMTTP làm thay đổi điểm UAS7 không giống nhau giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng, tạo nên sự chênh lệch nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP đã điều trị và chưa điều trị là khác nhau. Do đó, cần có một nghiên cứu thuần tập để làm rõ sự thay đổi của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh trong MĐMTTP trước và sau điều trị.

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trên đối tượng NB Việt Nam ngưỡng 11,67 ng/mL của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có giá trị xác định MĐMTTP nặng với độ nhạy 75% và độ đặc hiệu 91,7% (Biểu đồ 3.3). Đây mới là ngưỡng thăm dò (ngưỡng nội bộ), và kiểm định bootstrapping cũng cho thấy CI95% của ngưỡng cut-off còn rộng (9,7–13,5 ng/mL) nên cần xác nhận lại bằng tập xác nhận độc lập. Không nhiều nghiên cứu đề cập tới ngưỡng giá trị của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh để xác định MĐMTTP nặng. Trên đối tượng NB Hàn Quốc, ngưỡng giá trị của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh để xác định MĐMTTP nặng lại là 12 ng/mL với độ nhạy và độ đặc hiệu thấp hơn (67,1% và 60,5%).¹¹ Cần thêm các nghiên cứu trên các dân tộc khác nhau để tìm ra ngưỡng giá trị tối ưu của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh xác định MĐMTTP nặng.

4.1.2.3. Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng trong MĐMTTP

Bảng 3.3 cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh trong MĐMTTP không có mối tương quan với tuổi, thời gian diễn biến bệnh, số lượng BCAT, nồng độ IgE toàn phần, IgG kháng TPO. Đồng thời cũng không có sự khác biệt về nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa các nhóm theo phân loại về các tiêu chí như giới, phù mạch, ASST, BCAT, IgE toàn phần, IgG kháng TPO ($p > 0,05$). Kết quả này cũng tương đồng với một số ghi nhận trong nghiên cứu của Cao và cs. Nghiên cứu này cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không có mối tương quan với nồng độ IgE toàn phần, thời gian diễn biến bệnh và tuổi ($p > 0,05$). Nồng độ huyết thanh của thụ thể này cũng không có sự khác biệt giữa nhóm MĐMTTP có ASST dương tính và âm tính (tương ứng là 15,5 [8,3–24,2] ng/mL và 14,3 [7,9–21,5] ng/mL với $p=0,85$), giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch (tương ứng là 15,0 [9,1–24,1] ng/mL và 13,8 [8,0–21,6] ng/mL với $p=0,52$).¹¹ Như đã đề cập ở trên, trong nghiên cứu của Ye và cs., nồng độ MRGPRX2 huyết thanh được quyết định bởi đột biến của gen tương ứng. Nồng độ thụ thể này trong huyết thanh tăng cao ở nhóm MĐMTTP có đột biến gen MRGPRX2 tại vị trí 185A>G so với nhóm không có đột biến gen. Hai nhóm này không có sự khác biệt về tỉ lệ giới tính ($p = 0,81$), thời gian diễn biến bệnh ($p = 0,67$), tỉ lệ phù mạch ($p = 0,67$), số lượng BCAT máu ngoại vi ($p > 0,05$).¹³ Suy rộng ra, đột biến gen MRGPRX2 không liên quan đến các yếu tố này, do đó nồng độ MRGPRX2 huyết thanh cũng tương tự.

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên ghi nhận trong MĐMTTP có mối tương quan thuận mức độ rất yếu giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và nồng độ CRP ($r = 0,21$; $p = 0,02$), mặc dù điểm cut-off là 5 mg/L thì nồng độ MRGPRX2 giữa nhóm tăng CRP và không tăng CRP ($p > 0,05$) (Bảng 3.3). Kết quả này phản ánh tăng nồng độ của thụ thể MRGPRX2 trong huyết thanh có thể cũng góp một phần nhỏ vào tăng đáp ứng viêm chung của cơ thể.

4.1.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP

4.1.3.1. Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP và nhóm chứng

SP là chìa khóa của sự tương tác hai chiều giữa tế bào mast và hệ thần kinh trong bệnh MĐMTTP.^{91,161} Nghiên cứu của chúng tôi không thấy sự khác biệt về nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm bệnh và nhóm chứng ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.4). Kết quả này cũng đã từng được ghi nhận bởi Tedeschi khi nghiên cứu trên 117 NB MĐMTTP và 24 người khỏe mạnh⁹³ và nghiên cứu của Nishimori trên 151 NB MĐMTTP và 114 người khỏe mạnh.¹⁶ Điều này dường như phủ nhận vai trò thiết yếu của SP với tư cách là yếu tố giải phóng histamin trong MĐMTTP, nhưng cũng không loại trừ hoàn toàn khả năng liên quan. Vấn đề không tăng nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP và nhóm chứng có thể do việc giải phóng SP chủ yếu ở cấp độ da, hoặc do quá trình bất hoạt SP nhanh chóng, hoặc do SP liên kết nhanh với thụ thể MRGPRX2 trên tế bào mast. Điều đặc biệt trong nghiên cứu của Tedeschi là có 3 NB MĐMTTP có nồng độ SP huyết thanh rất cao (từ 910–1100 pg/mL) nằm trong nhóm ASST dương tính và BHRA âm tính. Những ca lâm sàng này gợi ý SP có thể liên quan đến cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP trong một vài trường hợp nhất định.⁹³ Hiện tượng này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi với 5 trường hợp MĐMTTP có nồng độ SP huyết thanh cao > 300 pg/mL, còn trong nhóm chứng khỏe mạnh, ngưỡng giá trị này chỉ dưới 200 pg/mL. Một số nghiên cứu khác cho thấy nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP cao hơn hẳn nhóm chứng ($p < 0,05$) như nghiên cứu của Metz (nhóm MĐMTTP có nồng độ SP huyết thanh gấp 4 lần nhóm chứng),¹⁵ Zheng (nhóm MĐMTTP có nồng độ SP huyết thanh gấp 3 lần nhóm chứng)⁹⁴ hoặc Fadaee (nhóm MĐMTTP có nồng độ SP huyết thanh gấp 2 lần nhóm chứng).¹⁴ Sự khác biệt về kết quả nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm bệnh và nhóm chứng giữa các nghiên cứu có thể liên quan đến quá trình thu thập và xử lý mẫu máu. Điều này ảnh hưởng đến sự thoái hóa nhanh của SP.¹⁵ Để hạn chế sự thoái hóa này, nghiên cứu của chúng tôi đã tuân thủ chặt chẽ quy định về xử lý và bảo quản mẫu huyết thanh trước khi tiến hành định lượng SP của nhà sản xuất (bảo quản ở -80°C trong thời gian tối đa 2 tháng và chỉ rã đông mẫu 1 lần).

4.1.3.2. Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng

Xét riêng trong nhóm MĐMTTP, nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm không nặng ($p = 0,014$) và có mối tương quan thuận mức độ yếu với điểm UAS7 (hệ số tương quan Spearman = 0,22 với $p = 0,014$) (Biểu đồ 3.4 và 3.5). Mối liên quan này cũng được chứng minh bởi Metz (hệ số tương quan Spearman = 0,52 với $p < 0,0001$)¹⁵ và Nishimori (hệ số tương quan Spearman = 0,18 với $p = 0,043$)¹⁶ nhưng không được ghi nhận trong nghiên cứu của Fadaee (hệ số tương quan Spearman = 0,014; $p = 0,9$).¹⁴ Sự khác biệt này có thể liên quan đến tiêu chuẩn lựa chọn và tiêu chuẩn loại trừ đối tượng nghiên cứu giữa các nghiên cứu khác nhau. Nghiên cứu của chúng tôi và Metz khá giống nhau về tiêu chuẩn lựa chọn BN, trong khi đó, nghiên cứu của Fadaee đã loại trừ đi các NB MĐMTTP có bất kỳ bệnh lý toàn thân gì hoặc có biểu hiện lo lắng hoặc trầm cảm.

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên đưa ra ngưỡng giá trị nồng độ SP huyết thanh để xác định MĐMTTP nặng trên người Việt Nam, mặc dù độ nhạy và độ đặc hiệu chưa cao (tương ứng 66,7% và 58,3%) (Biểu đồ 3.6). Đây mới là ngưỡng thăm dò (ngưỡng nội bộ). Hơn nữa, kiểm định bootstrapping cho thấy CI95% của ngưỡng cut-off còn rộng (53,5–141,8 pg/mL), cho thấy tính ổn định kém và chỉ số Youden thấp (0,25; CI95%: 0,1–0,4), cho thấy khả năng phân biệt hạn chế nên cần xác nhận lại bằng tập xác nhận độc lập.

4.1.3.3. Nồng độ SP huyết thanh theo giới tính trong MĐMTTP

Một điều đặc biệt trong nghiên cứu của chúng tôi là nồng độ SP huyết thanh ở nam giới 133,9 [75,17–153,99] pg/mL cao hơn so với nữ giới 93,3 [53,77–127,61] pg/mL ($p = 0,034$) (Biểu đồ 3.7). Điều này có thể giải thích tại sao tỉ lệ nam trong nhóm MĐMTTP nặng (45%) cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng (33,3%) (Bảng 3.1). Tuy nhiên, nghiên cứu của Fadaee và Metz lại không ghi nhận sự khác biệt về nồng độ SP huyết thanh giữa nam và nữ ($p > 0,05$).^{14,15} Trong nghiên cứu của Fadaee, nam giới chiếm tỉ lệ 34,5% với nồng độ SP huyết thanh trung bình là $400,13 \pm 184,95$ pg/mL; trong khi đó nữ giới chiếm 65,5% với nồng độ SP huyết

thanh trung bình là $452,39 \pm 247,18$ pg/mL ($p > 0,05$).¹⁴ Chúng tôi cho rằng tỉ lệ nam và nữ giữa các nghiên cứu khác nhau và nồng độ SP giữa các dân tộc cũng khác nhau có thể gây nên sự không tương đồng về nồng độ SP huyết thanh theo giới tính trong MĐMTTP.

4.1.3.4. Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch

Nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận sự khác biệt về nồng độ SP giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.8). Kết quả này cũng tương tự với nghiên cứu của Fadaee và Metz.^{14,15} Trong nghiên cứu của Fadaee, nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP có phù mạch và nhóm không phù mạch tương ứng là $429,64 \pm 216,54$ pg/mL và $437,7 \pm 237,69$ pg/mL ($p = 0,87$).¹⁴ Những kết quả này gợi ý cơ chế gây phù mạch trong MĐMTTP có thể không theo con đường giải hạt tế bào mast bởi SP. Hiện tại, cơ chế chính xác của phù mạch trong MĐMTTP vẫn còn là thách thức đối với y học. Y văn ghi nhận phù mạch là do sự giải hạt của tế bào mast ở trung bì sâu và/hoặc hạ bì, khác với sản phù là do sự giải hạt của tế bào mast ở trung bì nông.² Tuy nhiên, yếu tố nào và cơ chế nào gây sự khác biệt về vị trí tế bào mast được kích hoạt thì vẫn chưa được hiểu rõ. Nghiên cứu của Ornek và cs trên 556 NB MĐMTTP cho thấy nhóm có phù mạch khác biệt với nhóm không phù mạch bởi thời gian diễn biến bệnh kéo dài, tỉ lệ nhập viện và không dung nạp với thuốc kháng viêm không steroid cao, tỉ lệ ASST dương tính, tăng CRP cũng cao hơn, đồng thời đáp ứng kém với AH1 liều chuẩn ($p < 0,05$).¹⁶² Nghiên cứu khác của Kolkhir và cs trên hơn 1000 NB MĐMTTP cho thấy trong nhóm có phù mạch có tới 15% NB đồng thời có tăng IgG kháng TPO (≥ 34 kU/L) và giảm IgE (< 40 IU/mL), cao hơn nhóm không phù mạch là 6% ($p < 0,001$).¹⁶³ Như vậy, hai nghiên cứu này gợi ý phù mạch trong MĐMTTP có thể liên quan đến MĐMTTM type 2b. Tuy nhiên, trên các NB thỏa mãn đầy đủ tiêu chuẩn của MĐMTTM type 2b: ASST dương tính, test hoạt hóa BCAF dương tính và có IgG kháng IgE hoặc FcεRI trong huyết thanh, nghiên cứu PURIST ghi nhận tỉ lệ phù mạch của nhóm này là 80%, cao hơn nhóm không phải MĐMTTP type 2b

(76%) và nhóm MĐMTTM type 2b một phần (chỉ đáp ứng 1 hoặc 2 trong 3 tiêu chuẩn của MĐMTTM type 2) (56%) nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).¹⁶⁴ Sự không đồng nhất về các kết quả này cho thấy cần tiến hành thêm các nghiên cứu để làm sáng tỏ cơ chế bệnh sinh của phù mạch trong MĐMTTP.

4.1.3.5. Nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST dương tính và âm tính

Theo lý thuyết, nồng độ SP ở nhóm MĐMTTP có ASST dương tính có khả năng cao hơn nhóm ASST âm tính bởi SP đã được chứng minh gây sản phù có đường kính lớn hơn khi tiêm trong da NB MĐMTTP so với người khỏe mạnh.⁹² Nghiên cứu của Fadaee cho thấy nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP có ASST dương tính cao hơn nhóm ASST âm tính, tương ứng là $483,23 \pm 234,65$ pg/mL và $358,21 \pm 196,98$ pg/mL ($p = 0,012$).¹⁴ Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi lại không ghi nhận sự khác biệt này (Biểu đồ 3.9), tương tự như nghiên cứu của Tedeschi, Basak và Nishimori.^{16,93,165} Ngoài SP, còn có nhiều chất khác trong huyết thanh cũng có thể gây giáng hạt tế bào mast, tạo sản phù như các tự kháng thể IgG kháng IgE, IgG kháng FcεRI, C5a, MBP, EPO...¹⁶⁶ Do các nghiên cứu không loại trừ được những NB MĐMTTP có những yếu tố này dẫn đến sự khác biệt về kết quả nồng độ SP giữa nhóm ASST âm tính và dương tính.

4.1.3.6. Nồng độ SP huyết thanh với một số đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng khác trong MĐMTTP

Bảng 3.4 cho thấy nồng độ SP trong MĐMTTP không có mối tương quan với tuổi, thời gian bị bệnh, số lượng BCAT, nồng độ IgE toàn phần, IgG kháng TPO; cũng không có sự khác biệt giữa các phân nhóm theo số lượng BCAT, IgE toàn phần và IgG kháng TPO ($p > 0,05$). Kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Nishimori, Metz và Fadaee.¹⁴⁻¹⁶ Trong nghiên cứu của Nishimori và cs., nồng độ SP huyết thanh không có mối tương quan với thời gian diễn biến bệnh ($r = 0,12$; $p = 0,14$), số lượng BCAT ($r = 0,16$; $p = 0,08$), nồng độ IgE toàn phần ($r = 0,17$; $p = 0,051$) và nồng độ IgG kháng TPO ($r = -0,16$; $p = 0,27$).¹⁶ Còn trong nghiên cứu của Fadaee và cs., nồng độ SP cao nhất ở nhóm tuổi 41–60 tuổi ($540,46 \pm 189,59$ pg/mL) và thấp nhất ở nhóm tuổi 60–80 tuổi ($110,3 \pm 436,76$ pg/mL), nhưng sự

khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p = 0,054$).¹⁴ Tất cả các kết quả này gợi ý nồng độ SP trong MĐMTTP độc lập với tuổi, thời gian diễn biến bệnh, số lượng BCAT, IgE toàn phần và IgG kháng TPO.

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên ghi nhận trong MĐMTTP, nồng độ SP huyết thanh không có mối tương quan với nồng độ CRP, và không có sự khác biệt về nồng độ SP huyết thanh giữa nhóm có tăng CRP và không tăng CRP ($p > 0,05$) (Bảng 3.4). Một số nghiên cứu về nồng độ SP và CRP huyết thanh trong bệnh lý viêm khớp dạng thấp cũng cho thấy nồng độ hai chất này không có mối tương quan với nhau ($p > 0,05$).^{84,167} Trong khi đó, ở bệnh lý động mạch ngoại vi có kèm đau mạn tính, tác giả Paplaczyk-Serednicka lại cho thấy có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa nồng độ SP huyết thanh và CRP ($r = 0,64$; $p < 0,001$) mà không có ở nhóm xơ vữa động mạch ngoại vi không kèm đau mạn tính ($r = -0,15$; $p = 0,2$).¹⁶⁸ Các kết quả này cho thấy mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh và CPR thay đổi tùy theo tình trạng bệnh lý. Điều này phản ánh đóng góp của phản ứng viêm thần kinh ở mỗi bệnh lý là khác nhau đối với phản ứng viêm chung của toàn cơ thể.

4.1.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP

4.1.4.1. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP và nhóm chứng

EPO và MBP đều là các protein trong hạt của BCAT, được giải phóng ra khi BCAT giáng hạt và thể hiện một phần sự tương tác giữa BCAT và tế bào mast trong MĐMTTP.¹⁶⁹ Trong khi EPO chỉ được sản xuất bởi BCAT thì MBP gồm MBP1 (có trong BCAT và BCK) và MBP2 (chỉ có trong BCAT). Hơn nữa, EPO cũng là protein có số lượng nhiều nhất ở phần matrix của hạt BCAT.⁹⁸ Do đó, nồng độ EPO huyết thanh phản ánh sự giáng hạt của BCAT chính xác hơn so với MBP.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ EPO huyết thanh của nhóm bệnh cao hơn hẳn nhóm chứng ($p < 0,001$), trong khi đó, nồng độ MBP huyết thanh của nhóm bệnh có cao hơn nhóm chứng, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.10). Kết quả này một lần nữa khẳng định có sự giáng

hạt của BCAT trong MĐMTTP gây ra sự tăng nồng độ của hai protein này trong huyết thanh của người bệnh. Điều này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Khanna và cs với nồng độ MBP nhóm bệnh (1329,23 ng/mL) cao hơn hẳn so với nhóm chứng (399,55 ng/mL) ($p < 0,05$), tương tự với nồng độ EPO (nhóm bệnh là 54,96 ng/mL và nhóm chứng: không phát hiện được).¹⁷

4.1.4.2. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng, giữa nhóm MĐMTTP có giảm BCAT và không giảm BCAT

Nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra không có mối liên quan giữa nồng độ EPO và MBP huyết thanh với điểm hoạt động của bệnh UAS7 và số lượng BCAT máu ngoại vi (Biểu đồ 3.11 và 3.12). Đồng thời, nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP giảm BCAT và nhóm MĐMTTP không giảm BCAT không có sự khác biệt ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.13). Nghiên cứu của Khanna và cs. cũng ghi nhận kết quả tương tự.¹⁷ Điều này cho thấy mặc dù BCAT có tham gia vào cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP nhưng có thể không đóng vai trò quan trọng trong toàn bộ nhóm NB MĐMTTP nặng. Nghiên cứu hồi cứu trên gần 1300 NB MĐMTTP cho thấy trong nhóm nặng ($UAS7 \geq 28$), tỉ lệ giảm BCAT cũng chỉ có gần 20%. Ngược lại, trong nhóm có giảm BCAT, chỉ có hơn 40% người bệnh có điểm $UAS7 \geq 28$, gấp gần 2 lần so với nhóm không giảm BCAT. Điều này có nghĩa là tới gần 60% NB MĐMTTP giảm BCAT vẫn có mức độ hoạt động bệnh nhẹ và trung bình ($UAS7 < 28$). Nghiên cứu này cũng chỉ ra rằng giảm BCAT thường kết hợp với các đặc điểm của MĐMTM type 2b như ASST dương tính, BHRA dương tính, giảm nồng độ IgE toàn phần, giảm B2AK và tăng IgG kháng TPO.¹⁴¹

Mối tương quan giữa nồng độ EPO và MBP huyết thanh với mức độ hoạt động của bệnh và số lượng BCAT là điểm khác biệt thú vị giữa MĐMTTP và các bệnh lý có tăng BCAT máu ngoại vi như hen phế quản. Trong hen phế quản, BCAT đóng vai trò quan trọng. Nồng độ các protein của tế bào này, đặc biệt là EPO, có mối tương quan mạnh với số lượng BCAT trong máu với $r = 0,74$; $p < 0,001$ và được xem là một chỉ số phản ánh mức độ hoạt động của BCAT.¹¹⁰ Như vậy, cùng tham gia vào cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP và hen phế quản, nhưng vai trò của BCAT lại hoàn

toàn khác nhau: trong MĐMTTP, BCAT chỉ là tế bào hiệu ứng phụ, đóng vai trò nhất định trong một nhóm nhỏ NB, còn trong hen phế quản, BCAT lại là tế bào hiệu ứng chính. Đó cũng có thể là nguyên nhân mà các thuốc sinh học nhắm mục tiêu vào BCAT đạt hiệu quả trong điều trị hen phế quản và được khuyến cáo là liệu pháp điều trị hỗ trợ với tất cả các trường hợp hen nặng có tăng BCAT nhưng lại thất bại trong MĐMTTP.³⁷ IL-5 là interleukin chính ảnh hưởng đến quá trình biệt hóa và hóa ứng động của BCAT.¹⁰⁶ Kháng thể đơn dòng kháng lại IL-5 như benralizumab, mepolizumab đã được thử nghiệm trong điều trị MĐMTTP kháng trị với sgAH1 và được mong đợi có hiệu quả cải thiện điểm UAS7 bằng cách gây chết BCAT. Tuy nhiên, kết quả từ thử nghiệm pha 2b ARROYA Trial D3259C00001 cho thấy benralizumab chưa đạt được mục tiêu chính về giảm điểm ngứa ISS7 (Itch Severity Score over 7 days) và UAS7.³⁷ Nghiên cứu này tiến hành trên 155 NB MĐMTTP với các phác đồ dùng benralizumab tiêm dưới da liều 30 mg, 60 mg và giả dược. Mức độ giảm ISS7 tại tuần 12 ở nhóm benralizumab 30 mg so với giả dược là -1,01 điểm (CI95%: -3,28 đến 1,26; $p = 0,38$), nhóm benralizumab 60 mg so với giả dược là -1,79 điểm (CI95%: -4,09 đến 0,5; $p = 0,12$). Không có sự khác biệt về thay đổi điểm UAS7 tại tuần 12 so với ban đầu giữa nhóm benralizumab 30 mg và giả dược (-2,07 điểm CI95%: -6,95 đến 2,8; $p = 0,4$), giữa nhóm benralizumab 60 mg và giả dược (-4,36 điểm CI95%: -9,28 đến 0,56; $p = 0,08$).³⁷ Kết quả của nghiên cứu này một lần nữa nhấn mạnh tính phức tạp trong cơ chế bệnh sinh của MĐMTTP. Mặc dù BCAT có một vai trò nhất định trong bệnh này, nhưng việc gây chết tế bào này chưa đủ để kiểm soát triệu chứng bệnh.

4.1.4.3. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh theo tuổi trong MĐMTTP

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên cho thấy trong MĐMTTP nồng độ EPO huyết thanh có mối tương quan nghịch mức độ rất yếu với tuổi trong khi MBP thì không (Bảng 3.5). Kết quả này phản ánh có thể có sự giảm một số chức năng của BCAT theo độ tuổi như giảm kết dính, giảm hóa ứng động hoặc giảm giáng hạt. Nghiên cứu về BCAT trong hen phế quản cho thấy tuổi càng cao thì chức năng giáng hạt của BCAT càng giảm. Cụ thể, trên 2 nhóm hen phế quản, một nhóm

có độ tuổi từ 20–40 tuổi và một nhóm có độ tuổi từ 55–80 tuổi ghi nhận chức năng kết dính, hóa ứng động của BCAT tương tự nhau, nhưng chức năng giáng hạt của BCAT đối với IL-5 ở nhóm lớn tuổi hơn giảm rõ rệt so với nhóm trẻ tuổi ($p = 0,025$).¹⁷⁰ Suy rộng ra thì trong MĐMTTP cũng có thể xảy ra hiện tượng này, dẫn tới giảm nồng độ EPO huyết thanh theo tuổi.

4.1.4.4. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nam và nữ trong MĐMTTP

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trong MĐMTTP nồng độ EPO và MBP huyết thanh ở nhóm nam cao hơn nhóm nữ, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (Bảng 3.5). Sự khác biệt về nồng độ các protein của BCAT trong huyết thanh giữa nam và nữ trong các bệnh lý khác liên quan như hen phế quản, ung thư, nhiễm ký sinh trùng... cho kết quả không thống nhất. Có nghiên cứu ghi nhận nồng độ các chất này ở nam cao hơn nữ, nhưng đa số nghiên cứu cho thấy không có sự khác biệt.¹⁷¹ Ảnh hưởng của học môn sinh dục đến chức năng giáng hạt của BCAT là vấn đề còn nhiều tranh cãi.

4.1.4.5. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch

Nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận sự khác biệt về nồng độ EPO và MBP giữa nhóm MĐMTTP có phù mạch và không phù mạch ($p > 0,05$) (Bảng 3.5). Kết quả này gợi ý cơ chế gây phù mạch trong MĐMTTP có thể không theo con đường giáng hạt tế bào mast bởi hai chất này. Cơ chế phù mạch trong MĐMTTP vẫn là một thách thức với y học (xem phần bàn luận mục 4.1.3 chất P ở trên).

4.1.4.6. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP có ASST dương tính và âm tính

Theo lý thuyết, nồng độ EPO và MBP ở nhóm MĐMTTP có ASST dương tính có khả năng cao hơn nhóm ASST âm tính bởi hai chất này đã được chứng minh gây giáng hạt tế bào mast giải phóng histamin.^{10,117} Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ EPO và MBP ở nhóm MĐMTTP có ASST dương tính cao hơn nhóm ASST âm tính, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.14). Ngoài MBP, EPO, còn có nhiều chất khác trong huyết thanh cũng có thể gây giáng

hạt tế bào mast, tạo sản phù như các tự kháng thể IgG kháng IgE, IgG kháng FcεRI, C5a, SP...¹⁶⁶ Do nghiên cứu của chúng tôi không phân nhỏ nhóm NB MĐMTTP theo từng yếu tố này, dẫn đến không làm nổi bật sự khác biệt về nồng độ EPO và MBP giữa nhóm ASST âm tính và dương tính. Một điều cần chú ý nữa là mặc dù trên mẫu sinh thiết tổn thương sản phù tạo bởi ASST, Grattan và cs đã chứng minh có sự thâm nhiễm của BCAT tại da sau 30 phút, trở nên dày đặc hơn sau 2 giờ và có thể kéo dài đến 48 giờ, nhưng sự giáng hạt của BCAT lại được ghi nhận muộn hơn và được quan sát thấy ở thời điểm 2 giờ.¹⁷² Trong khi đó, ASST lại chỉ được ghi nhận kết quả tại thời điểm 30 phút. Do đó, so sánh nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm ASST dương tính và âm tính tại thời điểm này có thể chưa mang lại một cái nhìn toàn diện, có thể xem xét đánh giá thêm kết quả ASST tại thời điểm 2 giờ, thời điểm giáng hạt của BCAT để xác định một cách đầy đủ hơn.

4.1.4.7. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh theo nồng độ IgE toàn phần trong MĐMTTP

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận trong MĐMTTP không có mối tương quan giữa nồng độ EPO và MBP huyết thanh với nồng độ IgE toàn phần, đồng thời không có sự khác biệt về nồng độ hai chất này giữa các nhóm có tăng, giảm hoặc nồng độ IgE bình thường (bảng 3.5). Kết quả này gợi ý không có mối liên quan giữa nồng độ IgE toàn phần và cơ chế giáng hạt của BCAT trong MĐMTTP. Trong hen phế quản, nghiên cứu trên 13 bệnh nhi lại cho thấy có mối tương quan thuận giữa nồng độ IgE toàn phần và EPO huyết thanh ($p < 0,05$).¹⁷³ Điều này phản ánh sự tham gia của BCAT trong MĐMTTP không giống với bệnh lý khác có cùng tăng IgE như hen phế quản.

4.1.4.8. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh theo nồng độ CRP trong MĐMTTP

Nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra trong MĐMTTP không có mối tương quan giữa nồng độ EPO và MBP huyết thanh với nồng độ CRP, đồng thời không có sự khác biệt về nồng độ hai chất này giữa các nhóm tăng và không tăng CRP (Bảng 3.5). Kết quả này gợi ý rằng sự giáng hạt của BCAT không làm tăng phản ứng viêm toàn thân trong MĐMTTP. Trong hen phế quản, nghiên cứu trên 30 NB cho thấy

nồng độ huyết thanh của Eosinophil Cation Protein, một protein mang điện tích dương trong hạt của BCAT, có mối tương quan thuận mức độ trung bình với nồng độ CRP ($r = 0,67$; $p < 0,01$).¹⁷⁴ Như vậy, rõ ràng là có sự tham gia của BCAT, nhưng sự giáng hạt của tế bào này trong MĐMTTP không đóng góp nhiều vào phản ứng viêm toàn thân như trong hen phế quản.

4.1.4.9. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh theo nồng độ IgG kháng TPO trong MĐMTTP

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên ghi nhận mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với nồng độ IgG kháng TPO trong MĐMTTP. Điều ngạc nhiên là trong khi MBP có mối tương quan nghịch mức độ yếu với IgG kháng TPO ($r = -0,43$) thì EPO lại có mối tương quan thuận mức độ rất yếu với IgG kháng TPO ($r = 0,19$). Với điểm cut off là 34 U/mL, đều không có sự khác biệt về nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa nhóm tăng và không tăng IgG kháng TPO ($p > 0,05$) (Bảng 3.5). Như đã trình bày ở trên, EPO phản ánh sự giáng hạt của BCAT chính xác hơn MBP. Nghiên cứu của Zhang và cs cho thấy có mối tương quan thuận mức độ yếu giữa nồng độ IgG kháng TPO và IgE kháng TPO ($r = 0,3$ với $p < 0,001$).¹⁷⁵ Nghiên cứu khác của Sánchez và cs ghi nhận có mối tương quan thuận mức độ trung bình giữa IgE kháng TPO và IgE kháng EPO ($r = 0,54$ với $p < 0,001$). Điều thú vị nữa trong nghiên cứu này là đã chứng minh có phản ứng chéo giữa TPO và EPO với hai tự kháng thể IgE tương ứng từ 40–60%.¹¹⁷ Còn mối liên quan giữa EPO và IgE kháng EPO thì sao? Hiện tại chưa có nghiên cứu nào xác định mối tương quan này, nhưng chúng tôi cho rằng EPO có mối tương quan thuận với IgE kháng EPO bởi vì EPO chính là nguồn gốc để cơ thể sản sinh ra tự kháng thể IgE kháng EPO. Thực vậy, như đã trình bày ở trên, nghiên cứu của Khanna và cs cho thấy nồng độ EPO huyết thanh trong MĐMTTP cao hơn nhóm chứng khỏe mạnh.¹⁷ Nghiên cứu của Sanchez và cs cho thấy tỉ lệ phát hiện IgE kháng EPO trong máu của NB MĐMTTP là 28,8%; cao hơn so với nhóm chứng khỏe mạnh là 3,3% ($p < 0,001$).¹¹⁷ Từ tất cả các nghiên cứu trên, suy rộng ra, EPO có mối tương quan với IgG kháng TPO, phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Điều này

một lần nữa khẳng định sự giáng hạt của BCAT liên quan đến nhóm MĐMTTM type 2b, tương tự như ghi nhận trong nghiên cứu của Rojanapremasuk và cs: tỉ lệ BCAT thâm nhiễm tại tổn thương da ở nhóm MĐTTP có tự kháng thể IgG kháng FcεRI là 72%, cao hơn nhóm không có tự kháng thể là 53%.¹⁷⁶

4.1.5. Môi tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với một số chất chủ vận trong bệnh MĐMTTP

Trong MĐMTTP, có 3 chất chủ vận của MRGPRX2 đã được xác định là SP, MBP và EPO.¹⁰ Các chất chủ vận này có ảnh hưởng đến sự biểu hiện của MRGPRX2 giống như IgE ảnh hưởng đến FcεRI hay không là một vấn đề cần đặt ra. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không có mối tương quan với nồng độ SP, EPO ở nhóm bệnh và nhóm chứng ($p < 0,05$) (Biểu đồ 3.15 và 3.17). Trong khi đó, lại có mối tương quan rất yếu với nồng độ MBP ở nhóm bệnh ($r = 0,18$; $p = 0,048$) (Biểu đồ 3.16). Cho đến hiện tại, sự hiểu biết về các yếu tố điều hòa sự biểu hiện và/hoặc chức năng của MRGPRX2 chưa nhiều. Một số nghiên cứu cho thấy yếu tố tế bào gốc (SCF), IL-4, IL-33, a-xit retinoid và SP ảnh hưởng đến sự biểu hiện của MRGPRX2 phụ thuộc vào thời gian tiếp xúc hoặc nồng độ các yếu tố đó.^{65-67,69,70} Trong đó, sự tiếp xúc với SCF trên 16 giờ, IL-4 trên 16 giờ, IL-33 trong 5 tuần và a-xit retinoid trong 7 ngày đều gây giảm mRNA MRGPRX2, từ đó làm giảm tổng hợp thụ thể MRGPRX2 và giảm quá trình giáng hạt của tế bào mast qua thụ thể này. Còn với SP, một chất chủ vận cân bằng của MRGPRX2, có tác dụng tăng biểu hiện của thụ thể này khi ngưỡng nồng độ SP $EC_{50} < 1,47 \mu M$ và làm giảm biểu hiện của thụ thể này khi $EC_{50} = 1,47 \mu M$ (tương đương 1981,1 pg/mL) do làm tăng quá trình nội bào hóa thụ thể, một hiện tượng giải mãn cảm tự nhiên của MRGPRX2.

Như đã trình bày ở trên (phần 4.1.1), nghiên cứu của Ye và cs cho thấy trong MĐMTTP, nồng độ MRGPRX2 huyết thanh có thể liên quan thuận với biểu hiện của thụ thể này trên màng tế bào mast.¹³ Còn nồng độ SP, MBP và EPO huyết thanh có liên quan với nồng độ các chất này tại tổn thương da hay không vẫn chưa có câu trả lời. Điều này có thể giải thích vì sao nghiên cứu của chúng tôi không tìm ra mối

liên quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với nồng độ SP huyết thanh, trong khi SP ảnh hưởng đến sự biểu hiện của thụ thể MRGPRX2 trên màng tế bào mast phụ thuộc vào ngưỡng nồng độ như trong nghiên cứu của West và cs.⁷⁰

4.1.6. Mô hình hồi quy logistic các yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng

Trong nghiên cứu của chúng tôi, mô hình hồi quy logistic đơn biến và đa biến đều khẳng định ngưỡng giá trị 11,67 ng/mL đối với MRGPRX2 và ngưỡng 97,66 pg/mL đối với SP trên người Việt Nam là yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng (Bảng 3.6). Với ngưỡng giá trị 12 ng/mL của MRGPRX2 huyết thanh trên người Hàn Quốc, nghiên cứu của Cao và cs ghi nhận độ chênh của kết cục MĐMTTP nặng trong nhóm NB có ngưỡng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ≥ 12 ng/mL gấp 6,4 lần so với nhóm có ngưỡng nồng độ MRGPRX2 huyết thanh < 12 ng/mL (CI95%: 2,15–19,18; $p < 0,001$). Các kết quả này một lần nữa khẳng định vai trò của MRGPRX2 trong MĐMTTP nặng. Sự tăng biểu hiện của MRGPRX2 dẫn đến tăng giải phóng hạt tế bào mast theo con đường không phụ thuộc IgE, giải phóng histamin và các chất trung gian viêm khác; do đó, làm tăng triệu chứng sẩn phù và ngứa, tăng mức độ nặng của MĐMTTP.

4.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

4.2.1. Kết quả điều trị MĐMTTP nặng bằng bilastin

sgAH1 là liệu pháp điều trị đầu tay trong điều trị MĐMTTP. Nghiên cứu tổng quan của Fok và cs cho thấy điểm UAS7 là dấu ấn sinh học có bằng chứng mạnh liên quan đến đáp ứng điều trị với sgAH1.³⁰ Mặc dù không đưa ra được ngưỡng điểm UAS7 cụ thể, đa số các nghiên cứu ghi nhận điểm UAS7 cao thường đáp ứng kém với sgAH1. Nhóm không kiểm soát được triệu chứng bệnh với sgAH1 là đối tượng cho các thử nghiệm lâm sàng với các thuốc mới trong MĐMTTP. Đó là lý do mà chúng tôi lựa chọn nhóm MĐMTTP nặng ($UAS7 \geq 28$) để theo dõi đáp ứng điều trị với bilastin, một sgAH1 mới đã được chứng minh có hiệu quả cao và ít tác dụng phụ hơn các sgAH1 khác. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy liều chuẩn của thuốc này vẫn còn tới gần 60% NB kiểm soát bệnh kém. Trong khi đó, tỉ lệ này ở liều cao

chỉ còn 35%. Liều cao của bilastin đem lại hiệu quả kiểm soát bệnh tốt so với liều chuẩn ($p < 0,05$) (Biểu đồ 3.18 và 3.19). Đồng thời, nhóm MĐMTTP nặng đáp ứng kém với bilastin có điểm UAS7 cao hơn so với nhóm đáp ứng tốt và hoàn toàn ($p < 0,05$) (Bảng 3.7). Kết quả này tương đồng với các nghiên cứu tổng quan và các phân tích cộng gộp về hiệu quả của liều cao thuốc AH1 so với liều chuẩn và mối liên quan giữa điểm UAS7 và đáp ứng điều trị của AH1 trong MĐMTTP.^{30,39,177} Trong quần thể NB MĐMTTP nói chung, không phân biệt nặng nhẹ thì tỉ lệ đáp ứng với liều chuẩn AH1 chỉ khoảng 38,6%, tỉ lệ này thay đổi trong từng loại AH1. Với liều cao AH1, tỉ lệ đáp ứng trong nhóm không đáp ứng với liều chuẩn AH1 có thể lên đến 63,2%. Như vậy, có đến 30% NB MĐMTTP cần phải thêm một phương pháp điều trị khác để kiểm soát được bệnh.^{39,177} Về mối liên quan giữa điểm UAS7 với đáp ứng điều trị của AH1 trong MĐMTTP, 6/8 nghiên cứu đã chỉ ra điểm UAS7 càng cao thì đáp ứng điều trị với AH1 càng kém.³⁰ Trong đó, có 2 nghiên cứu với cỡ mẫu lớn nhất đều chỉ ra mối liên quan giữa điểm UAS7 và đáp ứng điều trị với AH1. Nghiên cứu hồi cứu của Magen và cs trên 385 NB MĐMTTP cho thấy nhóm kháng AH1 có điểm UAS trung bình là $5,28 \pm 0,81$ điểm, cao hơn nhóm đáp ứng là $3,32 \pm 1,25$ điểm với $p < 0,001$.¹⁷⁸ Nghiên cứu thuần tập khác của Curto-Barredo và cs trên 549 NB MĐMTTP cũng ghi nhận nhóm đáp ứng với AH1 liều chuẩn có điểm UAS7 là $15,1 \pm 12,0$ điểm, thấp hơn nhóm cần AH1 liều gấp 4 để kiểm soát bệnh, tương ứng là $21,8 \pm 11,8$ điểm ($p < 0,0001$).¹⁷⁹

Bảng 3.7 còn cho thấy không có sự khác biệt về tuổi, thời gian diễn biến bệnh, giới, tỉ lệ phù mạch, ASST dương tính, tỉ lệ giảm BCAT, giảm BACK, tỉ lệ tăng CPR, tỉ lệ tăng IgE toàn phần và IgG kháng TPO giữa các phân nhóm đáp ứng kém, đáp ứng tốt và đáp ứng hoàn toàn trong nhóm MĐMTTP nặng. Hiện tại, mối liên quan giữa các đặc điểm này với đáp ứng điều trị với AH1 trong MĐMTTP không có sự thống nhất giữa các nghiên cứu. Chúng ta vẫn chưa có một dấu ấn sinh học tiềm năng nào cho vấn đề này để có thể cá thể hóa điều trị cho người bệnh ngay từ bậc điều trị thứ nhất. Phân tích tổng quan của Fox cho thấy tuổi, giới và thời gian diễn biến bệnh không có mối liên quan với bằng chứng mạnh, trong khi đó tỉ lệ phù

mạch, ASST dương tính, giảm BCAT, giảm BACK, tăng IgE toàn phần thì có mối liên quan với bằng chứng yếu, ngược lại tăng CRP là dấu ấn sinh học có bằng chứng mạnh với đáp ứng kém với AH1 trong MĐMTTP bởi nhiều nghiên cứu ghi nhận nhóm MĐMTTP không kiểm soát được với AH1 có nồng độ CRP cao hơn so với nhóm kiểm soát tốt và hoàn toàn, nhưng điểm cut off giữa các nghiên cứu này không thống nhất.³⁰ Nghiên cứu lớn nhất trên hơn 1000 NB MĐMTTP với điểm cut-off CRP là 5 mg/L cho thấy nhóm có tăng CRP thì tỉ lệ đáp ứng kém với AH1 liều chuẩn là 65,4% và liều cao là 32,7%; cao hơn so với nhóm không tăng CRP là 34,9% và 16,3% ($p < 0,05$). Độ nhạy của tăng CRP trong dự báo đáp ứng kém với AH1 liều chuẩn là 54,5% và liều cao là 56,2%; độ đặc hiệu tương ứng là 74,7% và 66,1%.¹⁵⁰

4.2.2. Mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

4.2.2.1. Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa các nhóm đáp ứng kém, đáp ứng tốt và đáp ứng hoàn toàn với bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh ban đầu giữa ba nhóm đáp ứng hoàn toàn, đáp ứng tốt và đáp ứng kém với bilastin tại 3 thời điểm T2, T4, T8 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.19). Đồng thời, nồng độ MRGPRX2 huyết thanh cũng không có mối tương quan với điểm kiểm soát bệnh UCT (Biểu đồ 3.21). Điều này cho thấy không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa trong mẫu hiện tại giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin. Tuy nhiên, có một trường hợp với nồng độ MRGPRX2 cao (>60 ng/mL) đáp ứng kém với bilastin dù đã tăng liều gấp 4. Điều này phản ánh cơ chế giáng hạt tế bào mast qua thụ thể này có thể liên quan đến một nhóm nhỏ NB MĐMTTP kháng trị với bilastin. Trên các mẫu sinh thiết da tại tổn thương sẩn phù của 9 NB MĐMTTP kháng trị với AH1 có mức độ hoạt động bệnh nặng ($UAS7 > 30$ điểm), nghiên cứu Fujisawa và cs cũng ghi nhận có sự tăng biểu hiện của thụ thể MRGPRX2 trên màng tế bào mast so với nhóm chứng khỏe mạnh. Cụ thể số lượng tế bào mast ở da có biểu hiện MRGPRX2 (116 ± 19 tế bào/mm²) và tỉ lệ phần trăm tế bào mast biểu hiện MRGPRX2 ở NB MĐMTTP ($47,0\% \pm 6,9\%$)

cao hơn hẳn so với nhóm chứng khỏe mạnh (tương ứng là $68,5 \pm 51,1$ tế bào/mm² và $21,6\% \pm 7,8\%$) với $p < 0,05$.¹⁰ Điểm hạn chế của nghiên cứu này là không đề cập đến sự biểu hiện của thụ thể MRGPRX2 trong nhóm MĐMTTP kiểm soát hoàn toàn, kiểm soát tốt và nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1 có mức độ hoạt động bệnh nhẹ và trung bình, đồng thời cũng chưa đánh giá được tác động của AH1 đối với sự biểu hiện của thụ thể này. Do đó, chưa thể khẳng định được sự tăng biểu hiện MRGPRX2 liên quan đến toàn bộ nhóm MĐMTTP kháng trị hay chỉ một phần.

4.2.2.2. Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên ghi nhận nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không bị ảnh hưởng bởi bilastin (Biểu đồ 3.22). Trước đó, Lao và cs cho rằng các thuốc điều trị MĐMTTP (AH1, omalizumab...) có thể tác động đến quá trình xuất bào những túi nhỏ chứa MRGPRX2 của tế bào mast, làm giảm nồng độ của chất này trong huyết thanh bởi nghiên cứu của nhóm tác giả này cho thấy nồng độ MRGPRX2 huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng có sự khác biệt ở các NB chưa điều trị (không sử dụng thuốc trong ít nhất 1 tháng), tương ứng nhóm nặng là $58,15 \pm 38,53$ ng/mL và nhóm nhẹ là $25,91 \pm 15,07$ ng/mL; $p = 0,034$) mà không thấy sự khác biệt trong nhóm đã điều trị bệnh (tương ứng nhóm nặng là $36,79 \pm 22,98$ ng/mL và nhóm nhẹ là $27,64 \pm 17,15$ ng/mL với $p = 0,092$).¹² Tuy nhiên, đây chỉ là giả định của nhóm tác giả này vì nghiên cứu này chỉ là nghiên cứu cắt ngang, không phải nghiên cứu thuần tập, nên không thể xác định được chính xác sự thay đổi của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh sau điều trị trong MĐMTTP. Thực tế, nghiên cứu thuần tập của chúng tôi đã chứng minh nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không bị ảnh hưởng bởi bilastin, một sgAH1 (Biểu đồ 3.22). Do đó, theo chúng tôi, điều trị làm thay đổi điểm UAS7 chứ không phải làm thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh. Nhận định này của chúng tôi được củng cố bởi kết quả nghiên cứu của Asero và cs. Nghiên cứu này ghi nhận nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không thay đổi sau 1 tuần điều trị bằng omalizumab ở cả 3 nhóm MĐMTTP đáp ứng sớm, đáp ứng muộn và không đáp ứng ($p > 0,05$).⁷¹

Không có nhiều nghiên cứu đánh giá sự thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh trong MĐMTTP. Một thử nghiệm lâm sàng pha 2 trên 160 NB MĐMTTP kháng trị với AH1 nhằm hiệu quả của rilzabrutinib, một thuốc ức chế BTK (Bruton tyrosine kinase) cho thấy với liều 1200 mg/ngày, rilzabrutinib không những đạt mục tiêu giảm điểm ngứa ISS7 và điểm hoạt động bệnh UAS7 tại tuần thứ 12 mà còn có tác dụng làm giảm nồng độ MRGPRX2 huyết thanh tới 22,8% [−57,7 đến −6,4%], trong khi đó nhóm MĐMTTP chỉ dùng AH1 và giả dược thì tỉ lệ giảm chỉ là 4,5% [−47,6% đến 59,0%].¹⁸⁰ Tuy nhiên, nghiên cứu này không chỉ ra được cơ chế gây giảm nồng độ MRGPRX2 huyết thanh của Rilzabrutinib. BTK là một protein kinase đóng vai trò trung tâm của con đường tín hiệu nội bào của tế bào mast khi thụ thể FcεRI được hoạt hóa (tức là con đường giáng hạt của tế bào mast phụ thuộc IgE).¹⁸¹ Do đó, có thể đưa ra giả thuyết liên quan là ức chế giáng hạt tế bào mast qua thụ thể FcεRI bằng thuốc ức chế BTK có thể gián tiếp làm giảm quá trình xuất bào của các hạt nhỏ chứa MRGPRX2 trong bào tương tế bào mast và từ đó gây giảm nồng độ thụ thể này trong huyết thanh. So sánh với nghiên cứu của Asero và cs về tác động của omalizumab đối với nồng độ MRGPRX2 huyết thanh đã nêu ở trên, chúng tôi nhận thấy khi con đường giáng hạt tế bào mast qua FcεRI bị ức chế hoàn toàn bằng thuốc ức chế BTK mới có tác dụng làm giảm nồng độ MRGPRX2 huyết thanh, còn nếu con đường này chỉ bị ức chế 1 phần bằng omalizumab thì không làm thay đổi nồng độ MRGPRX2 huyết thanh. Omalizumab gắn với IgE tự do trong huyết thanh, ức chế sự gắn kết của IgE với FcεRI và làm giảm biểu hiện của thụ thể này trên màng tế bào mast, qua đó làm giảm sự giáng hạt của tế bào mast qua thụ thể này mà không tác động đến các globulin miễn dịch khác có thể hoạt hóa FcεRI như IgG, IgM hoặc IgA kháng FcεRI.¹⁸²

Như vậy, tổng hợp tất cả các nghiên cứu trên cho thấy trong MĐMTTP, nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không chịu sự tác động của AH1 và omalizumab nhưng lại suy giảm bởi thuốc ức chế BTK.

4.2.3. Mối tương quan giữa nồng độ SP huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

4.2.3.1. Nồng độ SP huyết thanh giữa các nhóm đáp ứng kém, đáp ứng tốt và đáp ứng hoàn toàn với bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ SP huyết thanh ban đầu giữa ba nhóm đáp ứng hoàn toàn, đáp ứng tốt và đáp ứng kém với bilastin tại 3 thời điểm T2, T4, T8 đều không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$) (Biểu đồ 3.23). Đồng thời, nồng độ SP huyết thanh cũng không có mối tương quan với điểm kiểm soát bệnh UCT (Biểu đồ 3.24). Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa trong mẫu hiện tại giữa nồng độ SP huyết thanh và đáp ứng điều trị bằng bilastin. Kết quả này cũng được ghi nhận trong nghiên cứu của Fadaee (hệ số tương quan Spearman = 0,18; $p = 0,09$).¹⁴

4.2.3.2. Nồng độ SP huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ SP huyết thanh giảm sau hai tháng điều trị bằng bilastin, biểu hiện giảm rõ ràng nhất ở nhóm đáp ứng hoàn toàn (Biểu đồ 3.25). Chúng tôi cho rằng cơ chế của hiện tượng này là bilastin duy trì thụ thể histamin H1 trên tế bào thần kinh cảm giác ở trạng thái không hoạt động nên ức chế giải phóng các peptid thần kinh như SP từ các tế bào thần kinh này. Tuy nhiên, kết quả này lại không tương đồng với ghi nhận của Basak và cộng sự năm 2014. Nghiên cứu này ghi nhận không có sự thay đổi nồng độ SP trong huyết thanh NB MĐMT bởi AH1 như cetirizin hoặc loratadin liều chuẩn trong 7 ngày mặc dù lại làm thay đổi nồng độ các peptid thần kinh khác như VIP (vasoactive intestinal peptide), yếu tố tăng trưởng thần kinh NGF (nerve growth factor)⁹⁷... Sự khác biệt về kết quả giữa nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của Basak và cs. có thể liên quan đến loại thuốc AH1, liều thuốc và thời gian điều trị. Các thuốc AH1 đều có chung cơ chế tác động lên thụ thể histamin H1 là tạo mối liên kết giữa chuỗi IV và chuỗi VI của thụ thể và do đó, duy trì thụ thể này ở trạng thái không hoạt động. Tuy nhiên, ái lực của từng AH1 với thụ thể histamin H1 là khác nhau, điều này phần nào

ảnh hưởng đến hiệu quả kháng histamin của các thuốc này.¹⁸³ Ái lực của thuốc với thụ thể histamin H1 tỉ lệ nghịch với K_i (hằng số ức chế cân bằng của thuốc). Nghiên cứu cho thấy K_i của bilastin là $44,15 \pm 6,08$ nM, thấp hơn so với cetirizin và loratadin ($143,12 \pm 16,35$ nM). Do đó, ái lực của bilastin với thụ thể histamin H1 cao hơn so với cetirizin và loratadin. Suy rộng ra, tác dụng ức chế thụ thể histamin H1 của bilastin cao hơn hai chất này, đặc biệt ở liều cao. Các nghiên cứu đối đầu giữa bilastin, cetirizin và loratadin trong MĐMTTP cũng cho thấy kết quả phù hợp: Bilastin làm giảm điểm ngứa và điểm sẩn phù tốt hơn hai thuốc này.⁴³ Vì vậy, chúng tôi cho rằng bilastin có thể tác động lên thụ thể histamin H1 ở tế bào thần kinh cảm giác mạnh hơn cetirizin và loratadin, dẫn đến giảm bài tiết SP của tế bào thần kinh cảm giác trong khi hai thuốc kia thì không. Trong khi đó, ở nhóm đáp ứng kém với bilastin, nồng độ SP huyết thanh không có sự thay đổi, thậm chí còn tăng lên ở 3/13 NB. Điều này một lần nữa khẳng định ngoài histamin còn những chất trung gian viêm khác được giải phóng từ tế bào mast có tác dụng kích thích tế bào thần kinh cảm giác giải phóng SP và duy trì tổn thương sẩn phù và/hoặc phù mạch trong MĐMTTP đáp ứng kém với AH1.

Còn đối với Omalizumab, nghiên cứu của Asero cho thấy nồng độ SP huyết thanh tăng lên ở cả 3 nhóm đáp ứng sớm, đáp ứng muộn và không đáp ứng với Omalizumab sau 1 tuần. Đặc biệt ở nhóm không đáp ứng với Omalizumab, nồng độ SP huyết thanh ban đầu là 119 [20–321] pg/mL, tăng lên đến 591 [134–1060] pg/mL ($p < 0,05$).⁷¹ Điều này cũng được ghi nhận bởi 2 nghiên cứu khác ở Thổ Nhĩ Kỳ.^{95,96} Chưa có câu trả lời chính xác cho hiện tượng này, nhưng các tác giả này cho rằng việc điều hòa giảm chức năng tế bào mast gián tiếp bằng Omalizumab có thể gây giải phóng SP khỏi thụ thể MRGPRX2 và làm tăng nồng độ SP trong máu. Theo chúng tôi, vấn đề tăng nồng độ SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1 và Omalizumab cho thấy vai trò của các con đường giáng hạt tế bào mast không phụ thuộc tự kháng thể IgE. Các con đường này gây giải phóng các chất trung gian viêm khác ngoài histamin, từ đó kích thích tế bào thần kinh cảm giác giải phóng SP và làm tăng nồng độ SP huyết thanh.

4.2.4. Mối tương quan giữa nồng độ MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

4.2.4.1. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh giữa các nhóm đáp ứng kém, đáp ứng tốt và đáp ứng hoàn toàn với bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

Nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu đầu tiên so sánh nồng độ EPO và MBP huyết thanh với đáp ứng điều trị MĐMTTP bằng bilastin. Kết quả cho thấy sau 2 tháng điều trị, không có sự khác biệt giữa các nhóm đáp ứng hoàn toàn, đáp ứng tốt và đáp ứng kém với bilastin về nồng độ EPO và MBP huyết thanh ban đầu (Biểu đồ 3.26) và không có mối tương quan giữa nồng độ hai chất này với điểm UCT ($p > 0,05$) (Bảng 3.8). Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa trong mẫu hiện tại giữa nồng độ EPO và MBP huyết thanh và đáp ứng điều trị bằng bilastin. Tuy nhiên, có 2 trường hợp MĐMTTP nặng có nồng độ EPO và MBP huyết thanh rất cao (> 1000 ng/mL) đều đáp ứng kém với bilastin. Điều này cho thấy BCAT chỉ đóng một vai trò nhất định trong một số nhỏ NB MĐMTTP kháng trị với bilastin nói riêng và với AH1 nói chung. Đây có thể là một trong các lí do mà thuốc gây chết BCAT như benralizumab (ức chế thụ thể của IL-5) và lilelrelimab (kích hoạt thụ thể ức chế Siglec-8) đều đạt hiệu quả đối với nhóm nhỏ NB MĐMTTP kháng trị AH1 (thử nghiệm lâm sàng pha IIa) nhưng lại thất bại khi cỡ mẫu lớn hơn (thử nghiệm lâm sàng pha IIb).^{37,38}

4.2.4.2. Nồng độ MBP và EPO huyết thanh sau điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng

Nghiên cứu của chúng tôi đã chỉ ra nồng độ EPO và MBP huyết thanh đều có xu hướng giảm sau điều trị bằng bilastin, rõ ràng nhất ở nhóm đáp ứng kém (Biểu đồ 3.27). Tương tự như các AH1 khác, bilastin tác động lên thụ thể histamin H1 bằng cách duy trì thụ thể này ở trạng thái bất hoạt, đối nghịch lại với histamin (duy trì thụ thể H1 ở trạng thái hoạt động).¹⁸⁴ Histamin tác động trên thụ thể H1 ở màng BCAT, làm tế bào này tăng tổng hợp peroxidase.¹⁸⁵ Do vậy, khi sử dụng bilastin, BCAT không còn nhận được tín hiệu tăng tổng hợp peroxidase từ thụ thể H1 nữa, gây ra giảm nồng độ của EPO trong huyết thanh. Còn về MBP, chỉ tồn tại ở dạng đã thủy phân từ MBP tiền chất và được đóng gói ở lõi các hạt trong BCAT trưởng

thành.^{99,100} Một nghiên cứu về vai trò của MBP và BCAT trong viêm da cơ địa cho thấy ketotifen, một AH1 thế hệ 1, gây giảm nồng độ MBP huyết thanh sau 8 tuần điều trị, từ $774,98 \pm 48,64$ ng/mL xuống còn $660,11 \pm 34,52$ ng/mL ($p < 0,05$).¹⁸⁶ Nghiên cứu sau đó đã chứng minh ketotifen ức chế hóa ứng động của BCAT bởi fMLP (formyl-methionine-leucine-phenylalanine), IL-5 và eotaxin tại vị trí mô viêm trong phản ứng dị ứng.¹⁸⁷ Một AH1 thế hệ 2 là cetirizin, cũng đã được chứng minh có khả năng ức chế hóa ứng động của BCAT bởi các chất hóa ứng động như yếu tố hoạt hóa tiểu cầu (PAF: platelet-activating factor) và N-formyl methionyl leucyl phenyl alanyl.¹⁸⁸ PAF, IL-5 và eotaxin cũng chính là các chất trung gian viêm được giải phóng từ sự giáng hạt tế bào mast, có tác dụng hóa ứng động và giáng hạt BCAT trong MDMTTP.³ Nghiên cứu sau đó của Gyoten và cs. đã chứng minh cấu trúc của các AH1 khác nhau có ảnh hưởng đến tác động ức chế hóa ứng động của BCAT tại da. Dựa trên cấu trúc phân tử, thuốc AH1 được chia thành 7 nhóm chính là alkylamin, piperazin, piperidin, ethanolamin, ethylenediamin, phenothiazin và nhóm khác. Trong đó, cetirizin thuộc nhóm piperazin, ketotifen và bilastin thuộc nhóm piperidin. Các thuốc thuộc hai nhóm này đã được ghi nhận có cả hai tác dụng là kháng histamin H1 và ức chế hóa ứng động của BCAT khi chứa nhóm thế benzhydryl để tạo hợp chất mới gọi là pyridazin.¹⁸⁹ Như vậy, bilastin ngoài tác động chính lên thụ thể histamin H1 còn có thể ức chế hóa ứng động của BCAT. Điều này có thể gián tiếp làm giảm giáng hạt của BCAT, do đó làm giảm nồng độ MBP và EPO huyết thanh, phù hợp với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Thực tế, đã có báo cáo ca lâm sàng về tác dụng ức chế hóa ứng động BCAT của bilastin trong điều trị hội chứng tăng BCAT. Đây là hội chứng có tổn thương nhiều cơ quan, trong đó có tổn thương da do sự thâm nhiễm của BCAT. Với liều điều trị 20 mg/ngày trong 2 tuần, tổn thương da và số lượng BCAT máu ngoại vi của NB nam 66 tuổi bị hội chứng tăng BCAT đều có sự cải thiện: sưng nề và ngứa ở hai cẳng chân giảm, số lượng BCAT máu ngoại vi từ $9,2 \times 10^9/L$ xuống còn $0,504 \times 10^9/L$. Sau 8 tuần điều trị, tổn thương da thoái triển hoàn toàn, BCAT máu ngoại vi vẫn duy trì số lượng trong giới hạn bình thường. Theo dõi 2 tuần sau kết thúc điều trị vẫn duy trì được đáp ứng.¹⁹⁰

Như vậy, việc nồng độ MBP và EPO huyết thanh giảm chủ yếu ở nhóm đáp ứng kém với bilastin cho thấy mặc dù thuốc này có thể đã ức chế hóa ứng động BCAT tại da, từ đó làm giảm giáng hạt của tế bào này trong MĐMTTP, nhưng cũng không làm thay đổi đáp ứng điều trị. Kết quả này gợi ý rằng BCAT không phải là tế bào hiệu ứng chính trong nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1. Điều này có thể giải thích lý do cho sự thất bại của các thuốc gây chết BCAT trong các thử nghiệm lâm sàng pha IIb trên nhóm MĐMTTP kháng trị với AH1.^{37,38}

4.3. Hạn chế của nghiên cứu

Nghiên cứu này đã mang lại những hiểu biết có giá trị về mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và ba chất chủ vận của nó là SP, MBP và EPO với mức độ nặng và đáp ứng điều trị trong MĐMTTP. Tuy nhiên, vẫn tồn tại một số hạn chế cần được xem xét để cải thiện độ chính xác và tính khái quát hóa của kết quả.

Thứ nhất, trong mục tiêu 1, nghiên cứu mô tả cắt ngang chỉ giúp hình thành giả thuyết về mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP.

Thứ hai, nghiên cứu chưa đề cập tới sự biểu hiện của thụ thể MRGPRX2 trên màng tế bào mast và nồng độ của SP, MBP và EPO tại vị trí tổn thương sản phù. Liệu sự biểu hiện tại chỗ của các chất này có tương quan với nồng độ của chúng trong huyết thanh hay không vẫn chưa được kiểm chứng.

Thứ ba, nghiên cứu chưa đề cập tới đột biến gen MRGPRX2. Sự ảnh hưởng của MRGPRX2 đến MĐMTTP là do tăng biểu hiện về số lượng của thụ thể này hay chỉ là tăng chức năng đơn thuần của thụ thể cũng cần phải xác định rõ. Đặc biệt, liệu đột biến gen MRGPRX2 trong MĐMTTP trên đối tượng người bệnh Việt Nam có tương đồng với các nghiên cứu đã ghi nhận trên thế giới không? Vấn đề này cần phải được làm sáng tỏ bởi các nghiên cứu tiếp theo trong tương lai.

Thứ tư là giá trị thống kê của mục tiêu 2. Trong mục tiêu này, nhóm nghiên cứu lấy toàn bộ đối tượng MĐMTTP nặng để theo dõi đáp ứng điều trị mà không có công thức tính cỡ mẫu cụ thể. Do đó, giá trị thống kê trong mục tiêu 2 chỉ có giá trị mô tả cho nhóm đối tượng nghiên cứu, khó có thể suy rộng ra toàn bộ quần thể MĐMTTP một cách chắc chắn.

Thứ năm, nghiên cứu này là nghiên cứu đơn trung tâm, chỉ được thực hiện tại Bệnh viện Da liễu Trung ương, dẫn đến khả năng có sự thiên lệch trong đặc điểm của người bệnh. Những người bệnh đến khám tại bệnh viện có thể có tình trạng bệnh nghiêm trọng hơn, dẫn đến các kết quả không phản ánh đầy đủ thực trạng bệnh MĐMTTP trong cộng đồng nói chung.

Thứ sáu, nghiên cứu này chỉ được thực hiện trên đối tượng thanh niên và người trưởng thành với tuổi ≥ 16 , do đó, chưa xác lập được mối tương quan giữa nồng độ MRGPRX2 huyết thanh và các chất chủ vận của nó với mức độ nặng và đáp ứng điều trị trong nhóm MĐMTTP trẻ em.

KẾT LUẬN

1. Môi tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với mức độ nặng của bệnh MĐMTTP:

– Nhóm MĐMTTP nặng và không nặng không có sự khác biệt về tuổi, thời gian bị bệnh, giới tính, tỉ lệ có phù mạch, tỉ lệ ASST dương tính, tỉ lệ tăng CRP, tăng IgE toàn phần và tăng IgG kháng TPO. Điểm UAS7 ở nhóm MĐMTTP nặng là 29,5 [28-35] điểm, nhóm không nặng là 20 [14-23,5] điểm.

– Nồng độ MRGPRX2 và SP huyết thanh ở nhóm MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng, nhưng không có sự khác biệt với nhóm chứng.

– Nồng độ MRGPRX2 và SP huyết thanh có mối tương quan thuận với điểm hoạt động của bệnh UAS7 trong MĐMTTP.

– Giá trị 11,67 ng/mL của nồng độ MRGPRX2 huyết thanh là điểm cắt tối ưu để xác định MĐMTTP nặng với độ nhạy là 75,0% và độ đặc hiệu là 91,7%. Ngưỡng cut-off ổn định với CI95%: 9,7–13,5. Chỉ số Youden là 0,67 (CI95%: 0,54–0,79).

– Giá trị 97,66 pg/mL của nồng độ SP huyết thanh là điểm cắt tối ưu để xác định MĐMTTP nặng với độ nhạy là 66,7% và độ đặc hiệu là 58,3%. Ngưỡng cut-off kém ổn định (CI95%: 53,5–141,8) và chỉ số Youden thấp (0,25; CI95%: 0,1–0,4).

– Hồi quy logistic đơn biến và đa biến đều cho thấy ngưỡng giá trị 11,67 ng/mL đối với MRGPRX2 và ngưỡng 97,66 pg/mL đối với SP là yếu tố liên quan độc lập của MĐMTTP nặng.

– Nồng độ MBP huyết thanh của nhóm MĐMTTP nặng cao hơn so với nhóm MĐMTTP không nặng và nhóm chứng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

– Nồng độ EPO huyết thanh ở nhóm chứng hầu hết đều ở ngưỡng không phát hiện, thấp hơn so với nhóm MĐMTTP nặng và không nặng. Không có sự khác biệt về nồng độ EPO huyết thanh giữa nhóm MĐMTTP nặng và không nặng.

– Nồng độ MBP và EPO huyết thanh đều không có mối tương quan với điểm UAS7.

2. Môi tương quan giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO huyết thanh với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong nhóm MĐMTTP nặng:

– Sau 2 tuần điều trị bilastin liều chuẩn, tỉ lệ đáp ứng hoàn toàn, đáp ứng tốt và đáp ứng kém là 33,3%; 10,0% và 56,7%. Tăng liều bilastin (gấp 2 và gấp 4) có hiệu quả làm giảm tỉ lệ đáp ứng kém xuống 46,7% sau 4 tuần và 35% sau 8 tuần.

– Các nhóm đáp ứng hoàn toàn, đáp ứng tốt và đáp ứng kém chỉ có sự khác biệt về điểm UAS7 ban đầu mà không có sự khác biệt về tuổi, thời gian bị bệnh, giới tính, tỉ lệ có phù mạch, tỉ lệ ASST dương tính, tỉ lệ tăng CRP, tăng IgE toàn phần và tăng IgG kháng TPO. Điểm UAS7 ban đầu ở nhóm đáp ứng kém là $35,5 \pm 5,6$ điểm, cao hơn hai nhóm còn lại.

– Không ghi nhận mối liên quan có ý nghĩa trong mẫu hiện tại giữa nồng độ MRGPRX2, SP, MBP và EPO ban đầu với đáp ứng điều trị bằng bilastin trong MĐMTTP nặng.

– Nồng độ MRGPRX2 huyết thanh không bị thay đổi bởi bilastin sau 2 tháng điều trị, trong khi đó, SP, MBP và EPO đều có xu hướng giảm. Nồng độ SP huyết thanh giảm rõ rệt ở nhóm MĐMTTP đáp ứng hoàn toàn với bilastin, còn MBP và EPO lại giảm chủ yếu ở nhóm đáp ứng kém.

KIẾN NGHỊ

- Cần nhắc thực hiện tiếp nghiên cứu xác định mối tương quan giữa sự biểu hiện tại tổn thương sần phù của thụ thể MRGPRX2 trên màng tế bào mast, nồng độ SP, MBP và EPO với nồng độ MRGPRX2, SP, MBP, EPO huyết thanh trong MĐMTTP.
- Xem xét nghiên cứu xác định đột biến gen MRGPRX2 trong MĐMTTP trên đối tượng người Việt Nam.

DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ

Công bố trên tạp chí:

1. **Nguyễn Thị Kim Cúc**, Lê Huyền My, Trần Thu Hà Phương, Lê Hữu Doanh, Phạm Thị Lan, Vũ Nguyệt Minh. Nồng độ chất P huyết thanh trong bệnh mày đay mạn tính tự phát. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, Tập 187 số 2 ngày 27 tháng 2 năm 2025, trang 1-10, doi:10.52852/tcncyh.v187i2.2983
2. **Nguyen Thi Kim Cuc**, Vu Nguyet Minh, Pham Thi Lan, Le Huyen My, Le Huu Doanh. Serum MRGPRX2 and substance P levels are biomarkers of disease activity rather than an antihistamine response in chronic spontaneous urticaria. *Scientific Reports*. Volume 15 – Issue 1, 2025-03-23, Pages 10014. doi:10.1038/s41598-025-94841-1.
3. **Nguyen CTK**, Pham LT, Le MH, Le DH, Vu MN. The relationship between serum eosinophil peroxidase and major basic protein levels in relation to severity and response to H1 antihistamines in chronic spontaneous urticaria. *PLOS ONE*. Volume 20 – Issue 11, Pages e0336118. doi:10.1371/journal.pone.0336118

Báo cáo hội nghị:

1. Hội nghị Da liễu toàn quốc thường niên/ Hội nghị Da liễu Đông Dương lần VI/ Hội nghị nghiên cứu Da liễu lần II tháng 11/2024 (Báo cáo miệng, giải khuyến khích poster bằng tiếng Anh): Correlation between serum MRGPRX2 levels with the disease activity and antihistamine response of chronic spontaneous urticaria in Vietnamese patients
2. Hội nghị khoa học Nghiên cứu sinh Trường Đại học Y Hà Nội (giải nhất): Nồng độ Eosinophil Peroxidase và Major Basic Protein huyết thanh trong bệnh mày đay mạn tính tự phát
3. Hội nghị Da liễu toàn quốc thường niên/ Hội nghị nghiên cứu Da liễu lần III tháng 11/2025 (Báo cáo miệng, giải khuyến khích poster bằng tiếng Anh): Serum Eosinophil Peroxidase and Major Basic Protein levels in chronic spontaneous urticaria

4. Hội nghị nghiên cứu Da liễu Nhật Bản lần thứ 49 tháng 12/2024 (Báo cáo poster): Serum MRGPRX2 levels in chronic spontaneous urticaria in Vietnamese patients
5. Hội nghị nghiên cứu Da liễu Nhật Bản lần thứ 50 tháng 12/2025 (Báo cáo poster): Serum Eosinophil Peroxidase and Major Basic Protein levels in chronic spontaneous urticaria

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Fricke J, Avila G, Keller T, et al. Prevalence of chronic urticaria in children and adults across the globe: Systematic review with meta-analysis. *Allergy*. Feb 2020;75(2):423-432. doi:10.1111/all.14037
2. Zuberbier T, Abdul Latiff AH, Abuzakouk M, et al. The international EAACI/GA(2)LEN/EuroGuiDerm/APAAACI guideline for the definition, classification, diagnosis, and management of urticaria. *Allergy*. Mar 2022;77(3):734-766. doi:10.1111/all.15090
3. Kaplan A, Lebwohl M, Gimenez-Arnau AM, Hide M, Armstrong AW, Maurer M. Chronic spontaneous urticaria: Focus on pathophysiology to unlock treatment advances. *Allergy*. Nov 30 2022;doi:10.1111/all.15603
4. Sanchez-Borges M, Ansotegui IJ, Baiardini I, et al. The challenges of chronic urticaria part 2: Pharmacological treatment, chronic inducible urticaria, urticaria in special situations. *World Allergy Organ J*. Jun 2021;14(6):100546. doi:10.1016/j.waojou.2021.100546
5. Guillén-Aguinaga S, Jáuregui Presa I, Aguinaga-Ontoso E, Guillén-Grima F, Ferrer M. Updosing nonsedating antihistamines in patients with chronic spontaneous urticaria: a systematic review and meta-analysis. *Br J Dermatol*. Dec 2016;175(6):1153-1165. doi:10.1111/bjd.14768
6. Podder I, Das A, Ghosh S, Biswas D, Sengupta S, Chowdhury SN. Effectiveness, safety, and tolerability of bilastine 20 mg vs levocetirizine 5 mg for the treatment of chronic spontaneous urticaria: A double-blind, parallel group, randomized controlled trial. *Dermatologic therapy*. Nov 2020;33(6):e13946. doi:10.1111/dth.13946
7. Sinha VV, Kalikar MV, Mukhi JI, Giradkar AB, Sontakke S. Comparative study of efficacy and safety of cetirizine and bilastine in patients of chronic spontaneous urticaria: Open-label, randomized, parallel-group study. *Perspectives in clinical research*. Oct-Dec 2023;14(4):180-186. doi:10.4103/picr.picr_28_23

8. Shah B, Dhoot D, Choudhary A, et al. A Comparative, Three-Arm, Randomized Clinical Trial to Evaluate the Effectiveness and Tolerability of Bilastine vs Fexofenadine vs Levocetirizine at the Standard Dose and Bilastine vs Fexofenadine at Higher Than the Standard Dose (Up-Dosing) vs Levocetirizine and Hydroxyzine (in Combination) in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2022;15:261-270. doi:10.2147/ccid.S350122
9. Puxeddu I, Pistone F, Pisani F, Levi-Schaffer F. Mast cell signaling and its role in urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol*. Apr 23 2024;doi: 10. 1016 /j. anai.2024.04.023
10. Fujisawa D, Kashiwakura J, Kita H, et al. Expression of Mas-related gene X2 on mast cells is upregulated in the skin of patients with severe chronic urticaria. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Sep 2014;134(3): 622-633.e9. doi:10.1016/j.jaci.2014.05.004
11. Cao TBT, Cha HY, Yang EM, Ye YM. Elevated MRGPRX2 Levels Related to Disease Severity in Patients With Chronic Spontaneous Urticaria. *Allergy, asthma & immunology research*. May 2021;13(3):498-506. doi:10. 4168 /aaair. 2021.13.3.498
12. Lao K, Mak HWF, Chiang V, Kumar M, Chow BKC, Li PH. Mas-Related G-Protein Coupled Receptor-X2 and Chemokine (C-C Motif) Ligand 2 Correlate With Disease Activity Among Treatment-Naive Chinese Patients With Chronic Spontaneous Urticaria. *Clin Exp Allergy*. Jun 25 2024;doi:10.1111/cea.14531
13. Ye D, Zhang Y, Zhao X, et al. MRGPRX2 gain-of-function mutation drives enhanced mast cell reactivity in chronic spontaneous urticaria. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Mar 18 2025;doi:10.1016/j.jaci.2025.03.007
14. Fadaee J, Khoshkhui M, Emadzadeh M, et al. Evaluation of Serum Substance P Level in Chronic Urticaria and Correlation with Disease Severity. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. Feb 1 2020;19(1):18-26. doi:10. 18502/ ijaai.v19i1.2414

15. Metz M, Krull C, Hawro T, et al. Substance P is upregulated in the serum of patients with chronic spontaneous urticaria. *The Journal of investigative dermatology*. Nov 2014;134(11):2833-2836. doi:10.1038/jid.2014.226
16. Nishimori N, Toyoshima S, Sasaki-Sakamoto T, Hayama K, Terui T, Okayama Y. Serum level of hemokinin-1 is significantly lower in patients with chronic spontaneous urticaria than in healthy subjects. *Allergol Int*. Oct 2021;70(4):480-488. doi:10.1016/j.alit.2021.05.002
17. S. Khanna KC, M. Makiya, P. Khoury, A. Klion, S. Saini, E. Oliver. Increased eosinophil granule protein production in chronic spontaneous urticaria. *Annals of Allergy, Asthma & Immunology*. 2022;129(5)(S):33. doi:10. 1016/ j. anai. 2022.08.598
18. Kolkhir P, Giménez-Arnau AM, Kulthanan K, Peter J, Metz M, Maurer M. Urticaria. *Nature Reviews Disease Primers*. 2022/09/15 2022;8(1):61. doi:10. 1038/s41572-022-00389-z
19. Balp MM, Halliday AC, Severin T, et al. Clinical Remission of Chronic Spontaneous Urticaria (CSU): A Targeted Literature Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. Jan 2022;12(1):15-27. doi:10.1007/s13555-021-00641-6
20. Gaudenzio N, Sibilano R, Marichal T, et al. Different activation signals induce distinct mast cell degranulation strategies. *The Journal of clinical investigation*. Oct 3 2016;126(10):3981-3998. doi:10.1172/jci85538
21. Kolkhir P, Munoz M, Asero R, et al. Autoimmune chronic spontaneous urticaria. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Jun 2022;149(6):1819-1831. doi:10.1016/j.jaci.2022.04.010
22. Xiang YK, Kolkhir P, Scheffel J, et al. Most Patients With Autoimmune Chronic Spontaneous Urticaria Also Have Autoallergic Urticaria, but Not ViceVersa. *J Allergy Clin Immunol Pract*. Aug 2023;11(8):2417-2425.e1. doi:10.1016/j.jaip.2023.02.006
23. Altrichter S, Frischbutter S, Fok JS, et al. The role of eosinophils in chronic spontaneous urticaria. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Jun 2020;145(6):1510-1516. doi:10.1016/j.jaci.2020.03.005

24. Gessner A, Mohrs K, Mohrs M. Mast cells, basophils, and eosinophils acquire constitutive IL-4 and IL-13 transcripts during lineage differentiation that are sufficient for rapid cytokine production. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. Jan 15 2005;174(2):1063-72. doi:10.4049/jimmunol.174.2.1063
25. Kay AB, Clark P, Maurer M, Ying S. Elevations in T-helper-2-initiating cytokines (interleukin-33, interleukin-25 and thymic stromal lymphopoietin) in lesional skin from chronic spontaneous ('idiopathic') urticaria. *Br J Dermatol*. 2015;172(5):1294-302. doi:10.1111/bjd.13621
26. Hawro T, Ohanyan T, Schoepke N, et al. The Urticaria Activity Score-Validity, Reliability, and Responsiveness. *J Allergy Clin Immunol Pract*. Jul-Aug 2018;6(4):1185-1190.e1. doi:10.1016/j.jaip.2017.10.001
27. Katelaris CH, Lima H, Marsland A, Weller K, Shah A, Wasserman S. How to Measure Disease Activity, Impact, and Control in Patients with Recurrent Wheals, Angioedema, or Both. *J Allergy Clin Immunol Pract*. Jun 2021;9(6):2151-2157. doi:10.1016/j.jaip.2021.02.026
28. Holgate ST, Canonica GW, Simons FE, et al. Consensus Group on New-Generation Antihistamines (CONGA): present status and recommendations. *Clin Exp Allergy*. Sep 2003;33(9):1305-24. doi:10.1046/j.1365-2222.2003.01769.x
29. Gimenez-Arnau AM, Jauregui I, Silvestre-Salvador JF, et al. Consensus on the Definition of Control and Remission in Chronic Urticaria. *J Investig Allergol Clin Immunol*. Jul 22 2022;32(4):261-269. doi:10.18176/jiaci.0820
30. Fok JS, Kolchir P, Church MK, Maurer M. Predictors of treatment response in chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. Oct 2021;76(10):2965-2981. doi:10.1111/all.14757
31. Bernstein JA, Kavati A, Tharp MD, et al. Effectiveness of omalizumab in adolescent and adult patients with chronic idiopathic/spontaneous urticaria: a systematic review of 'real-world' evidence. *Expert opinion on biological therapy*. Apr 2018;18(4):425-448. doi:10.1080/14712598.2018.1438406

32. Kulthanan K, Chaweeikulrat P, Komoltri C, et al. Cyclosporine for Chronic Spontaneous Urticaria: A Meta-Analysis and Systematic Review. *J Allergy Clin Immunol Pract.* Mar-Apr 2018;6(2):586-599. doi:10. 1016/ j.jaip. 2017.07.017
33. Zuberbier T, Ensina LF, Gimenez-Arnau A, et al. Chronic urticaria: unmet needs, emerging drugs, and new perspectives on personalised treatment. *Lancet (London, England).* Jul 11 2024;doi:10.1016/S0140-6736(24)00852-3
34. Maurer M, Ensina LF, Gimenez-Arnau AM, et al. Efficacy and safety of ligelizumab in adults and adolescents with chronic spontaneous urticaria: results of two phase 3 randomised controlled trials. *Lancet (London, England).* Jan 13 2024;403(10422):147-159. doi:10.1016/s0140-6736(23)01684-7
35. Oliver ET, Chichester K, Devine K, et al. Effects of an Oral CCRTh2 Antagonist (AZD1981) on Eosinophil Activity and Symptoms in Chronic Spontaneous Urticaria. *Int Arch Allergy Immunol.* 2019;179(1):21-30. doi:10. 1159/ 000496162
36. McLaren J, Chon Y, Gorski KS, et al. Tezepelumab for the treatment of chronic spontaneous urticaria: Results of the phase 2b INCEPTION study. *The Journal of allergy and clinical immunology.* Feb 14 2025;doi: 10.1016 /j.jaci.2025.01.045
37. Altrichter S, Gimenez-Arnau AM, Bernstein JA, et al. Benralizumab does not elicit therapeutic effect in patients with chronic spontaneous urticaria: results from the phase 2b multinational, randomised, double-blind, placebo-controlled ARROYO trial. *Br J Dermatol.* Feb 17 2024;doi:10.1093/bjd/ljae067
38. Min TK, Saini SS. The future of targeted therapy in chronic spontaneous urticaria. *Ann Allergy Asthma Immunol.* Oct 2024;133(4):367-373. doi:10.1016/j.anai.2024.05.020
39. Xiang YK, Fok JS, Podder I, et al. An update on the use of antihistamines in managing chronic urticaria. *Expert Opin Pharmacother.* Apr 2024;25(5):551-569. doi:10.1080/14656566.2024.2345731

40. Antonijuan R, Coimbra J, García-Gea C, et al. Comparative efficacy of bilastine, desloratadine and rupatadine in the suppression of wheal and flare response induced by intradermal histamine in healthy volunteers. *Current medical research and opinion*. Jan 2017;33(1):129-136. doi:10. 1080 /03007995.2016.1240665
41. Weller K, Church MK, Hawro T, et al. Updosing of bilastine is effective in moderate to severe chronic spontaneous urticaria: A real-life study. *Allergy*. Oct 2018;73(10):2073-2075. doi:10.1111/all.13494
42. Nguyen MTT, Le MH, Vu MN, Baumann K, Skov PS, Le DH. Clinical and quality of life improvement after bilastine treatment among patients with autoimmune chronic spontaneous urticaria. *PLoS One*. 2025;20(8):e0326445. doi:10.1371/journal.pone.0326445
43. Mahajan BB, Banodkar P, Bhardwaj G, et al. Bilastine Reimagined: A Comprehensive Exploration of Pruritus Management With a Novel Antihistamine. *Cureus*. Oct 2024;16(10):e71232. doi:10.7759/cureus.71232
44. Yagami A, Furue M, Togawa M, Saito A, Hide M. One-year safety and efficacy study of bilastine treatment in Japanese patients with chronic spontaneous urticaria or pruritus associated with skin diseases. *J Dermatol*. Apr 2017;44(4):375-385. doi:10.1111/1346-8138.13644
45. Paton WD. Compound 48/80: a potent histamine liberator. *British journal of pharmacology and chemotherapy*. Sep 1951;6(3):499-508. doi:10.1111/j.1476-5381.1951.tb00661.x
46. Dong X, Han S, Zylka MJ, Simon MI, Anderson DJ. A diverse family of GPCRs expressed in specific subsets of nociceptive sensory neurons. *Cell*. Sep 7 2001;106(5):619-32. doi:10.1016/s0092-8674(01)00483-4
47. Young D, Waitches G, Birchmeier C, Fasano O, Wigler M. Isolation and characterization of a new cellular oncogene encoding a protein with multiple potential transmembrane domains. *Cell*. Jun 6 1986;45(5):711-9. doi:10. 1016 /0092-8674(86)90785-3

48. Lembo PM, Grazzini E, Groblewski T, et al. Proenkephalin A gene products activate a new family of sensory neuron--specific GPCRs. *Nat Neurosci.* Mar 2002;5(3):201-9. doi:10.1038/nn815
49. Liu Q, Tang Z, Surdenikova L, et al. Sensory neuron-specific GPCR Mrgpr8 are itch receptors mediating chloroquine-induced pruritus. *Cell.* Dec 24 2009;139(7):1353-65. doi:10.1016/j.cell.2009.11.034
50. Kashem SW, Subramanian H, Collington SJ, Magotti P, Lambris JD, Ali H. G protein coupled receptor specificity for C3a and compound 48/80-induced degranulation in human mast cells: roles of Mas-related genes MrgX1 and MrgX2. *European journal of pharmacology.* Oct 1 2011;668(1-2):299-304. doi:10.1016/j.ejphar.2011.06.027
51. Motakis E, Guhl S, Ishizu Y, et al. Redefinition of the human mast cell transcriptome by deep-CAGE sequencing. 2014;123(17):e58-e67.
52. McNeil BD, Pundir P, Meeker S, et al. Identification of a mast-cell-specific receptor crucial for pseudo-allergic drug reactions. *Nature.* Mar 12 2015;519(7542):237-41. doi:10.1038/nature14022
53. Plum T, Wang X, Rettel M, Krijgsveld J, Feyerabend TB, Rodewald HR. Human Mast Cell Proteome Reveals Unique Lineage, Putative Functions, and Structural Basis for Cell Ablation. *Immunity.* Feb 18 2020;52(2):404-416 e5. doi:10.1016/j.immuni.2020.01.012
54. Yang F, Guo L, Li Y, et al. Structure, function and pharmacology of human itch receptor complexes. *Nature.* Dec 2021;600(7887):164-169. doi:10. 1038 /s41586-021-04077-y
55. Cao C, Kang HJ, Singh I, et al. Structure, function and pharmacology of human itch GPCRs. *Nature.* Dec 2021;600(7887):170-175. doi:10. 1038/ s41586-021-04126-6
56. Mi YN, Ping NN, Cao YX. Ligands and Signaling of Mas-Related G Protein-Coupled Receptor-X2 in Mast Cell Activation. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* 2021;179:139-188. doi:10.1007/112_2020_53

57. Chompunud Na Ayudhya C, Roy S, Alkanfari I, Ganguly A, Ali H. Identification of Gain and Loss of Function Missense Variants in MRGPRX2's Transmembrane and Intracellular Domains for Mast Cell Activation by Substance P. *Int J Mol Sci*. Oct 23 2019;20(21)doi:10.3390/ijms20215247
58. Roy S, Ganguly A, Haque M, Ali H. Angiogenic Host Defense Peptide AG-30/5C and Bradykinin B(2) Receptor Antagonist Icatibant Are G Protein Biased Agonists for MRGPRX2 in Mast Cells. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. Feb 15 2019;202(4):1229-1238. doi:10. 4049/jimmunol.1801227
59. Smith JS, Lefkowitz RJ, Rajagopal S. Biased signalling: from simple switches to allosteric microprocessors. *Nature reviews Drug discovery*. Apr 2018; 17(4):243-260. doi:10.1038/nrd.2017.229
60. Wang Z, Franke K, Bal G, Li Z, Zuberbier T, Babina M. MRGPRX2-Mediated Degranulation of Human Skin Mast Cells Requires the Operation of G(α i), G(α q), Ca⁺⁺ Channels, ERK1/2 and PI3K-Interconnection between Early and Late Signaling. *Cells*. Mar 10 2022;11(6)doi:10.3390/cells11060953
61. Castells M, Madden M, Oskeritzian CA. Mast Cells and Mas-related G Protein-coupled Receptor X2: Itching for Novel Pathophysiological Insights to Clinical Relevance. *Curr Allergy Asthma Rep*. Nov 25 2024;25(1):5. doi:10.1007/s11882-024-01183-5
62. Kühn H, Kolkhir P, Babina M, et al. Mas-related G protein-coupled receptor X2 and its activators in dermatologic allergies. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Feb 2021;147(2):456-469. doi:10. 1016/ j.jaci. 2020.08.027
63. An J, Lee JH, Won HK, et al. Clinical significance of serum MRGPRX2 as a new biomarker in allergic asthma. *Allergy*. Apr 2020;75(4):959-962. doi:10.1111/all.14084
64. Zhou Y, Xu M, Gong W, et al. Circulating MMP-12 as Potential Biomarker in Evaluating Disease Severity and Efficacy of Sublingual Immunotherapy in Allergic Rhinitis. *Mediators of Inflammation*. 2022/06/12 2022;2022:3378035. doi:10.1155/2022/3378035

65. Babina M, Guhl S, Artuc M, Zuberbier T. Allergic FcεRI- and pseudo-allergic MRGPRX2-triggered mast cell activation routes are independent and inversely regulated by SCF. *Allergy*. Jan 2018;73(1):256-260. doi:10.1111/all.13301
66. Babina M, Wang Z, Artuc M, Guhl S, Zuberbier T. MRGPRX2 is negatively targeted by SCF and IL-4 to diminish pseudo-allergic stimulation of skin mast cells in culture. *Exp Dermatol*. Nov 2018;27(11):1298-1303. doi:10. 1111 /exd .13762
67. Babina M, Wang Z, Franke K, Guhl S, Artuc M, Zuberbier T. Yin-Yang of IL-33 in Human Skin Mast Cells: Reduced Degranulation, but Augmented Histamine Synthesis through p38 Activation. *The Journal of investigative dermatology*. Jul 2019;139(7):1516-1525.e3. doi:10.1016/j.jid.2019.01.013
68. Wang Z, Guhl S, Franke K, Artuc M, Zuberbier T, Babina M. IL-33 and MRGPRX2-Triggered Activation of Human Skin Mast Cells-Elimination of Receptor Expression on Chronic Exposure, but Reinforced Degranulation on Acute Priming. *Cells*. Apr 11 2019;8(4)doi:10.3390/cells8040341
69. Babina M, Artuc M, Guhl S, Zuberbier T. Retinoic Acid Negatively Impacts Proliferation and MC(TC) Specific Attributes of Human Skin Derived Mast Cells, but Reinforces Allergic Stimulability. *Int J Mol Sci*. Feb 28 2017;18(3)doi:10.3390/ijms18030525
70. West PW, Cheret J, Bahri R, et al. The MRGPRX2-substance P pathway regulates mast cell migration. *iScience*. Oct 18 2024;27(10):110984. doi:10. 1016/ j.isci.2024.110984
71. Asero R, Calzari P, Ferrucci S, et al. Severe chronic spontaneous urticaria responding and not responding to omalizumab: analysis of the prognostic value of known and novel in-vitro variables. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. Nov 15 2024;doi:10.23822/EurAnnACI.1764-1489.375
72. Shtessel M, Limjunyawong N, Oliver ET, et al. MRGPRX2 Activation Causes Increased Skin Reactivity in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria. *The Journal of investigative dermatology*. Mar 2021;141(3):678-681 e2. doi:10. 1016 /j.jid.2020.06.030

73. Ogasawara H, Noguchi M. Therapeutic Potential of MRGPRX2 Inhibitors on Mast Cells. *Cells*. Oct 27 2021;10(11)doi:10.3390/cells10112906
74. Wollam J, Solomon M, Villescaz C, et al. Inhibition of mast cell degranulation by novel small molecule MRGPRX2 antagonists. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Oct 2024;154(4):1033-1043. doi:10. 1016/j.jaci.2024.07.002
75. Wedi B. Biologic and small molecule therapies in chronic spontaneous urticaria: an update. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. Aug 1 2025;doi: 10.1097/ACI.0000000000001095
76. Harden J, Folkerts J, Tam SY, et al. 68 EVO756 is a novel MRGPRX2 antagonist that potently inhibits human mast cell degranulation in response to multiple agonists – potential treatment for CSU and beyond. *Journal of Investigative Dermatology*. 2023;143(11):S344. doi:10. 1016/ j.jid. 2023.09.076
77. Steinhoff MS, von Mentzer B, Geppetti P, Pothoulakis C, Bunnett NW. Tachykinins and their receptors: contributions to physiological control and the mechanisms of disease. *Physiological reviews*. Jan 2014;94(1):265-301. doi:10.1152/physrev.00031.2013
78. Mashaghi A, Marmalidou A, Tehrani M, Grace PM, Pothoulakis C, Dana R. Neuropeptide substance P and the immune response. *Cellular and molecular life sciences : CMLS*. Nov 2016;73(22):4249-4264. doi:10.1007/s00018-016-2293-z
79. US VE, Gaddum JH. An unidentified depressor substance in certain tissue extracts. *The Journal of physiology*. Jun 6 1931;72(1):74-87. doi:10. 1113/jphysiol.1931.sp002763
80. Zhu Z, Bhatia M. Inflammation and Organ Injury the Role of Substance P and Its Receptors. *Int J Mol Sci*. Mar 24 2023;24(7)doi:10.3390/ijms24076140

81. Schank JR, Heilig M. Substance P and the Neurokinin-1 Receptor: The New CRF. *International review of neurobiology*. 2017;136:151-175. doi:10.1016/bs.irn.2017.06.008
82. Bondy B, Baghai TC, Minov C, et al. Substance P serum levels are increased in major depression: preliminary results. *Biological psychiatry*. Mar 15 2003;53(6):538-42. doi:10.1016/s0006-3223(02)01544-5
83. Schirinzi T, Maftai D, Ralli M, et al. Serum Substance P Is Increased in Parkinson's Disease and Correlates with Motor Impairment. *Movement disorders : official journal of the Movement Disorder Society*. Jan 2022;37 (1): 228-230. doi:10.1002/mds.28824
84. Barbosa-Cobos RE, Lugo-Zamudio G, Flores-Estrada J, et al. Serum substance P: an indicator of disease activity and subclinical inflammation in rheumatoid arthritis. *Clinical rheumatology*. Apr 2018;37(4):901-908. doi:10.1007/s10067-017-3929-6
85. Michaels LA, Ohene-Frempong K, Zhao H, Douglas SD. Serum levels of substance P are elevated in patients with sickle cell disease and increase further during vaso-occlusive crisis. *Blood*. Nov 1 1998;92(9):3148-51.
86. Grady EF, Garland AM, Gamp PD, Lovett M, Payan DG, Bunnett NW. Delineation of the endocytic pathway of substance P and its seven-transmembrane domain NK1 receptor. *Molecular biology of the cell*. May 1995;6(5):509-24. doi:10.1091/mbc.6.5.509
87. Sankhe R, Pai SRK, Kishore A. Tumour suppression through modulation of neprilysin signaling: A comprehensive review. *European journal of pharmacology*. Jan 15 2021;891:173727. doi:10.1016/j.ejphar.2020.173727
88. Redkiewicz P. The Regenerative Potential of Substance P. *Int J Mol Sci*. Jan 11 2022;23(2)doi:10.3390/ijms23020750
89. Rameshwar P, Joshi DD, Yadav P, et al. Mimicry between neurokinin-1 and fibronectin may explain the transport and stability of increased substance P immunoreactivity in patients with bone marrow fibrosis. *Blood*. May 15 2001;97(10):3025-31. doi:10.1182/blood.v97.10.3025

90. Gupta K, Harvima IT. Mast cell-neural interactions contribute to pain and itch. *Immunological reviews*. Mar 2018;282(1):168-187. doi:10.1111/imr.12622
91. Tomaszewska K, Słodka A, Tarkowski B, Zalewska-Janowska A. Neuro-Immuno-Psychological Aspects of Chronic Urticaria. *J Clin Med*. Apr 26 2023;12(9)doi:10.3390/jcm12093134
92. Borici-Mazi R, Kouridakis S, Kontou-Fili K. Cutaneous responses to substance P and calcitonin gene-related peptide in chronic urticaria: the effect of cetirizine and dimethindene. *Allergy*. Jan 1999;54(1):46-56. doi:10. 1034/j.1398-9995.1999.00726.x
93. Tedeschi A, Lorini M, Asero R. No evidence of increased serum substance P levels in chronic urticaria patients with and without demonstrable circulating vasoactive factors. *Clinical and experimental dermatology*. Mar 2005;30 (2): 171-5. doi:10.1111/j.1365-2230.2005.01732.x
94. Zheng W, Wang J, Zhu W, Xu C, He S. Upregulated expression of substance P in basophils of the patients with chronic spontaneous urticaria: induction of histamine release and basophil accumulation by substance P. *Cell Biology and Toxicology*. 2016/06/01 2016;32(3):217-228. doi:10.1007/s10565-016-9330-4
95. Ozaydin-Yavuz G, Yavuz IH, İnalöz HS, Boyvadoglu C. Omalizumab is not just an anti-immunoglobulin E. *J Dermatolog Treat*. Sep 2022;33(6):2858-2861. doi:10.1080/09546634.2022.2089326
96. Boyvadoglu C, Ulus H, Taysı S, et al. Effects of Omalizumab on Serum Levels of Substance P, Calcitonin Gene-Related Peptide, Neuropeptide Y, and Interleukin-31 in Patients with Chronic Spontaneous Urticaria. *Mediators Inflamm*. 2023;2023:8087274. doi:10.1155/2023/8087274
97. Basak PY, Vural H, Kazanoglu OO, Erturan I, Buyukbayram HI. Effects of loratadine and cetirizine on serum levels of neuropeptides in patients with chronic urticaria. *Int J Dermatol*. Dec 2014;53(12):1526-30. doi:10. 1111/ijd.12590

98. Acharya KR, Ackerman SJ. Eosinophil granule proteins: form and function. *J Biol Chem*. Jun 20 2014;289(25):17406-15. doi:10.1074/jbc.R113.546218
99. Gleich GJ, Adolphson CR, Leiferman KM. The biology of the eosinophilic leukocyte. *Annual review of medicine*. 1993;44:85-101. doi:10.1146/annurev.me.44.020193.000505
100. Oxvig C, Gleich GJ, Sottrup-Jensen L. Localization of disulfide bridges and free sulfhydryl groups in human eosinophil granule major basic protein. *FEBS letters*. Mar 21 1994;341(2-3):213-7. doi:10.1016/0014-5793(94)80459-1
101. Carlson MG, Peterson CG, Venge P. Human eosinophil peroxidase: purification and characterization. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. Mar 1985;134(3):1875-9.
102. Arnhold J, Malle E. Halogenation Activity of Mammalian Heme Peroxidases. *Antioxidants (Basel, Switzerland)*. Apr 30 2022;11 (5)doi: 10.3390/antiox11050890
103. Kleine TJ, Gleich GJ, Lewis SA. Eosinophil major basic protein increases membrane permeability in mammalian urinary bladder epithelium. *The American journal of physiology*. Jul 1998;275(1):C93-c103. doi:10.1152/ajpcell.1998.275.1.C93
104. Simon D, Simon HU, Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases. *Allergy*. Apr 2013;68(4):409-16. doi:10.1111/all.12111
105. Jacoby DB, Gleich GJ, Fryer AD. Human eosinophil major basic protein is an endogenous allosteric antagonist at the inhibitory muscarinic M2 receptor. *The Journal of clinical investigation*. Apr 1993;91(4):1314-8. doi:10.1172/jci116331
106. Blanchard C, Rothenberg ME. Biology of the eosinophil. *Advances in immunology*. 2009;101:81-121. doi:10.1016/s0065-2776(08)01003-1
107. Aldridge RE, Chan T, van Dalen CJ, et al. Eosinophil peroxidase produces hypobromous acid in the airways of stable asthmatics. *Free radical biology & medicine*. Sep 15 2002;33(6):847-56. doi:10.1016/s0891-5849(02)00976-0

108. Furtmüller PG, Burner U, Regelsberger G, Obinger C. Spectral and kinetic studies on the formation of eosinophil peroxidase compound I and its reaction with halides and thiocyanate. *Biochemistry*. Dec 19 2000;39(50):15578-84. doi:10.1021/bi0020271
109. A G, Rasheed Z, Salama RH, et al. Filaggrin, major basic protein and leukotriene B4: Biomarkers for adult patients of bronchial asthma, atopic dermatitis and allergic rhinitis. *Intractable Rare Dis Res*. Nov 2018;7(4):264-270. doi:10.5582/irdr.2018.01111
110. Tang M, Charbit AR, Johansson MW, et al. Utility of eosinophil peroxidase as a biomarker of eosinophilic inflammation in asthma. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Sep 2024;154(3):580-591 e6. doi:10. 1016 /j.jaci. 2024.03.023
111. Wassom DL, Loegering DA, Solley GO, et al. Elevated serum levels of the eosinophil granule major basic protein in patients with eosinophilia. *The Journal of clinical investigation*. Mar 1981;67(3):651-61. doi:10. 1172/ jci110080
112. Peters MS, Schroeter AL, Kephart GM, Gleich GJ. Localization of eosinophil granule major basic protein in chronic urticaria. *The Journal of investigative dermatology*. Jul 1983;81(1):39-43. doi:10.1111/1523-1747.ep12538380
113. Toyoda M, Maruyama T, Morohashi M, Bhawan J. Free eosinophil granules in urticaria: a correlation with the duration of wheals. *The American Journal of dermatopathology*. Feb 1996;18(1):49-57. doi:10.1097/00000372-199602000-00008
114. O'Donnell MC, Ackerman SJ, Gleich GJ, Thomas LL. Activation of basophil and mast cell histamine release by eosinophil granule major basic protein. *The Journal of experimental medicine*. Jun 1 1983;157(6):1981-91. doi:10. 1084/ jem.157.6.1981
115. Okayama Y, el-Lati SG, Leiferman KM, Church MK. Eosinophil granule proteins inhibit substance P-induced histamine release from human skin mast cells. *The Journal of allergy and clinical immunology*. May 1994;93(5):900-9. doi:10.1016/0091-6749(94)90384-0

116. Ogasawara H, Furuno M, Edamura K, Noguchi M. Peptides of major basic protein and eosinophil cationic protein activate human mast cells. *Biochemistry and biophysics reports*. Mar 2020;21:100719. doi:10. 1016/j.bbrep.2019.100719
117. Sánchez J, Sánchez A, Munera M, et al. Presence of IgE Autoantibodies Against Eosinophil Peroxidase and Eosinophil Cationic Protein in Severe Chronic Spontaneous Urticaria and Atopic Dermatitis. *Allergy, asthma & immunology research*. Sep 2021;13(5):746-761. doi:10. 4168/aair.2021.13.5.746
118. Wan X, Wang W, Liu J, Tong T. Estimating the sample mean and standard deviation from the sample size, median, range and/or interquartile range. *BMC medical research methodology*. Dec 19 2014;14:135. doi:10.1186/1471-2288-14-135
119. Shah K, Maghsoudlou P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA): the basics. *British journal of hospital medicine (London, England : 2005)*. Jul 2016;77(7):C98-101. doi:10.12968/hmed.2016.77.7.C98
120. Kohl TO, Ascoli CA. Direct Competitive Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). *Cold Spring Harbor protocols*. Jul 5 2017; 2017(7): pdb.prot093740. doi:10.1101/pdb.prot093740
121. Weller K, Groffik A, Church MK, et al. Development and validation of the Urticaria Control Test: a patient-reported outcome instrument for assessing urticaria control. *The Journal of allergy and clinical immunology*. May 2014;133(5):1365-72, 1372.e1-6. doi:10.1016/j.jaci.2013.12.1076
122. Mukaka MM. Statistics corner: A guide to appropriate use of correlation coefficient in medical research. *Malawi medical journal : the journal of Medical Association of Malawi*. Sep 2012;24(3):69-71.
123. Thiele C, Hirschfeld G. cutpointr: Improved Estimation and Validation of Optimal Cutpoints in R. *Journal of Statistical Software*. 06/30 2021;98(11):1 - 27. doi:10.18637/jss.v098.i11

124. Weller K, Maurer M, Bauer A, et al. Epidemiology, comorbidities, and healthcare utilization of patients with chronic urticaria in Germany. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. Jan 2022;36(1):91-99. doi:10.1111/jdv.17724
125. Wertenteil S, Strunk A, Garg A. Prevalence estimates for chronic urticaria in the United States: A sex- and age-adjusted population analysis. *J Am Acad Dermatol*. Jul 2019;81(1):152-156. doi:10.1016/j.jaad.2019.02.064
126. Bansal CJ, Bansal AS. Stress, pseudoallergens, autoimmunity, infection and inflammation in chronic spontaneous urticaria. *Allergy Asthma Clin Immunol*. 2019;15:56. doi:10.1186/s13223-019-0372-z
127. Chen W, Mempel M, Schober W, Behrendt H, Ring J. Gender difference, sex hormones, and immediate type hypersensitivity reactions. *Allergy*. Nov 2008;63(11):1418-27. doi:10.1111/j.1398-9995.2008.01880.x
128. Asero R, Cugno M. Biomarkers of chronic spontaneous urticaria and their clinical implications. *Expert review of clinical immunology*. Mar 2021;17(3):247-254. doi:10.1080/1744666x.2021.1882304
129. Hiragun M, Hiragun T, Mihara S, Akita T, Tanaka J, Hide M. Prognosis of chronic spontaneous urticaria in 117 patients not controlled by a standard dose of antihistamine. *Allergy*. Feb 2013;68(2):229-35. doi:10.1111/all.12078
130. Gregoriou S, Rigopoulos D, Katsambas A, et al. Etiologic aspects and prognostic factors of patients with chronic urticaria: nonrandomized, prospective, descriptive study. *J Cutan Med Surg*. Jul-Aug 2009;13(4):198-203. doi:10.2310/7750.2008.08035
131. Sussman G, Abuzakouk M, Bérard F, et al. Angioedema in chronic spontaneous urticaria is underdiagnosed and has a substantial impact: Analyses from ASSURE-CSU. *Allergy*. Aug 2018;73(8):1724-1734. doi:10.1111/all.13430
132. Bùi TT, Lê HM, Lê HD, Nguyễn TKC, Trần ST, Vũ NM. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và yếu tố liên quan của mày đay mạn tính tự phát có phù mạch. *Tạp chí Y học Việt Nam*. 11/17 2025;555(3)doi:10.51298/vmj.v555i3.16163

133. Konstantinou GN, Asero R, Maurer M, Sabroe RA, Schmid-Grendelmeier P, Grattan CE. EAACI/GA(2)LEN task force consensus report: the autologous serum skin test in urticaria. *Allergy*. Sep 2009;64(9):1256-68. doi:10.1111/j.1398-9995.2009.02132.x
134. Nguyễn TTM, Lê HM, Vũ NM, et al. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của bệnh nhân mày đay mạn tính tự phát có thử nghiệm da bằng huyết thanh tự thân dương tính (ASST+). *Tạp chí Y học lâm sàng Bệnh viện Trung Ương Huế*. 10/20 2024;16(7):123-130. doi:10.38103/jcmhch.16.7.18.
135. Alyasin S, Hamidi M, Karimi AA, Amiri A, Ghaffarpasand F, Ehsaei MJ. Correlation between clinical findings and results of autologous serum skin test in patients with chronic idiopathic urticaria. *Southern medical journal*. Feb 2011;104(2):111-5. doi:10.1097/SMJ.0b013e31820233fc
136. Niu XL, Zhu LL, Shi MH, Zhang YJ, Gao XH, Qi RQ. Association of positive and negative autologous serum skin test responses with clinical features of chronic spontaneous urticaria in Asian patients: A systematic review and meta-analysis. *Exp Ther Med*. Apr 2019;17(4):2603-2613. doi:10.3892/etm.2019.7266
137. Ramirez GA, Yacoub MR, Ripa M, et al. Eosinophils from Physiology to Disease: A Comprehensive Review. *Biomed Res Int*. 2018;2018:9095275. doi:10.1155/2018/9095275
138. Grattan CE, Wallington TB, Warin RP, Kennedy CT, Bradfield JW. A serological mediator in chronic idiopathic urticaria--a clinical, immunological and histological evaluation. *Br J Dermatol*. May 1986;114(5):583-90. doi:10.1111/j.1365-2133.1986.tb04065.x
139. Franklin W, Goetzl EJ. Total absence of eosinophils in a patient with an allergic disorder. *Annals of internal medicine*. Mar 1981;94(3):352-3. doi:10.7326/0003-4819-94-3-352
140. Juhlin L, Venge P. Total absence of eosinophils in a patient with chronic urticaria and vitiligo. *European journal of haematology*. Apr 1988;40(4):368-70. doi:10.1111/j.1600-0609.1988.tb00193.x

141. Kolchir P, Church MK, Altrichter S, et al. Eosinopenia, in Chronic Spontaneous Urticaria, Is Associated with High Disease Activity, Autoimmunity, and Poor Response to Treatment. *J Allergy Clin Immunol Pract.* Jan 2020;8(1):318-325 e5. doi:10.1016/j.jaip.2019.08.025
142. Nông TTH, Lê HM, Nguyễn TKC, Lê HD, Trần TVA, Vũ NM. Giảm bạch cầu ái toan ở bệnh mày đay mạn tính tự phát. *Tạp chí Y học Việt Nam.* 12/12 2025;556(2)doi:10.51298/vmj.v556i2.16407
143. Saini SS. Urticaria and basophils. *Allergol Int.* Jul 2023;72(3):369-374. doi:10.1016/j.alit.2023.05.001
144. Rorsman H. Basopenia in urticaria. *Acta Allergol.* 1961;16:185-215. doi:10.1111/j.1398-9995.1961.tb02894.x
145. Grattan CE, Dawn G, Gibbs S, Francis DM. Blood basophil numbers in chronic ordinary urticaria and healthy controls: diurnal variation, influence of loratadine and prednisolone and relationship to disease activity. *Clin Exp Allergy.* Mar 2003;33(3):337-41. doi:10.1046/j.1365-2222.2003.01589.x
146. Huang AH, Chichester KL, Saini SS. Association of basophil parameters with disease severity and duration in chronic spontaneous urticaria (CSU). *J Allergy Clin Immunol Pract.* Feb 2020;8(2):793-795.e6. doi:10.1016/j.jaip.2019.08.004
147. Johal KJ, Chichester KL, Oliver ET, et al. The efficacy of omalizumab treatment in chronic spontaneous urticaria is associated with basophil phenotypes. *The Journal of allergy and clinical immunology.* Jun 2021;147(6):2271-2280 e8. doi:10.1016/j.jaci.2021.02.038
148. Vermeire S, Van Assche G, Rutgeerts P. The role of C-reactive protein as an inflammatory marker in gastrointestinal diseases. *Nature clinical practice Gastroenterology & hepatology.* Dec 2005;2(12):580-6. doi:10.1038/ncpgasthep0359
149. Hage FG. C-reactive protein and hypertension. *Journal of human hypertension.* Jul 2014;28(7):410-5. doi:10.1038/jhh.2013.111

150. Kolkhir P, Altrichter S, Hawro T, Maurer M. C-reactive protein is linked to disease activity, impact, and response to treatment in patients with chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. Apr 2018;73(4):940-948. doi:10.1111/all.13352
151. Altrichter S, Fok JS, Jiao Q, et al. Total IgE as a Marker for Chronic Spontaneous Urticaria. *Allergy, asthma & immunology research*. Mar 2021;13(2):206-218. doi:10.4168/aaair.2021.13.2.206
152. Baek YS, Jeon J, Kim JH, Oh CH. Severity of acute and chronic urticaria correlates with D-dimer level, but not C-reactive protein or total IgE. *Clinical and experimental dermatology*. Oct 2014;39(7):795-800. doi:10. 1111/ced.12413
153. Bhatia D, Mehta H, Bishnoi A, et al. A prospective observational study correlating possible novel biomarkers with disease severity and antihistamine response in chronic spontaneous urticaria. *Asia Pac Allergy*. Mar 2024;14(1):5-11. doi:10.5415/apallergy.00000000000000132
154. Liu J, Wang F, Cao H, et al. The Correlation between Serum Vitamin D and Total IgE Levels and Chronic Spontaneous Urticaria among Chinese Population: A Retrospective Study. *Indian journal of dermatology*. Jan-Feb 2024;69(1):106. doi:10.4103/ijd.ijd_634_22
155. Kessel A, Helou W, Bamberger E, et al. Elevated serum total IgE--a potential marker for severe chronic urticaria. *Int Arch Allergy Immunol*. 2010;153(3):288-93. doi:10.1159/000314370
156. Najafipour M, Zareizadeh M, Najafipour F. Relationship between Chronic urticaria and autoimmune thyroid disease. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*. Oct-Dec 2018;9(4):158-161. doi:10.4103/japtr.JAPTR_342_18
157. Akca HM, Tuncer Kara K. Correlation of urticaria activity score in chronic spontaneous urticaria with serum C-reactive protein level and neutrophil/lymphocyte ratio. *Dermatologic therapy*. Nov 2020;33(6):e14532. doi:10.1111/dth.14532

158. Jang JH, Xiang YK, Yang EM, et al. Distinct Clinical Profiles of IgE and IgG Autoantibodies to Thyroid Peroxidase in Chronic Spontaneous Urticaria. *Allergy, asthma & immunology research*. Nov 2024;16(6):626-639. doi:10.4168/aaair.2024.16.6.626
159. Kolkhir P, Pyatilova P, Ashry T, et al. Mast cells, cortistatin, and its receptor, MRGPRX2, are linked to the pathogenesis of chronic prurigo. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Jun 2022;149(6):1998-2009 e5. doi:10.1016/j.jaci.2022.02.021
160. Kim DK, Cho YE, Komarow HD, et al. Mastocytosis-derived extracellular vesicles exhibit a mast cell signature, transfer KIT to stellate cells, and promote their activation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. Nov 6 2018;115(45):E10692-e10701. doi:10.1073/pnas.1809938115
161. Konstantinou GN, Konstantinou GN. Psychological Stress and Chronic Urticaria: A Neuro-immuno-cutaneous Crosstalk. A Systematic Review of the Existing Evidence. *Clin Ther*. May 2020;42(5):771-782. doi:10.1016/j.clinthera.2020.03.010
162. Kocaturk SOE. Angioedema Indicates a Different Endotype of Chronic Spontaneous Urticaria. *Asthma Allergy Immunology*. 2022;20:107-113. doi:10.21911/aai.684
163. Kolkhir P, Kovalkova E, Chernov A, et al. Autoimmune Chronic Spontaneous Urticaria Detection with IgG Anti-TPO and Total IgE. *J Allergy Clin Immunol Pract*. Nov 2021;9(11):4138-4146.e8. doi:10.1016/j.jaip.2021.07.043
164. Schoepke N, Asero R, Ellrich A, et al. Biomarkers and clinical characteristics of autoimmune chronic spontaneous urticaria: Results of the PURIST Study. *Allergy*. Dec 2019;74(12):2427-2436. doi:10.1111/all.13949
165. Basak PY, Erturan I, Yuksel O, Kazanoglu OO, Vural H. Evaluation of serum neuropeptide levels in patients with chronic urticaria. *Indian journal of dermatology, venereology and leprology*. Sep-Oct 2014;80(5):483. doi:10.4103 /0378-6323.140345

166. Asero R, Pinter E, Tedeschi A. 35 years of autologous serum skin test in chronic spontaneous urticaria: what we know and what we do not know. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* Jan 2023;55(1):4-8. doi:10. 23822/EurAnnACI.1764-1489.238
167. Anichini M, Cesaretti S, Lepori M, Maddali Bongi S, Maresca M, Zoppi M. Substance P in the serum of patients with rheumatoid arthritis. *Revue du rhumatisme (English ed).* Jan 1997;64(1):18-21.
168. Paplaczky-Serednicka M, Markowska B, Gach T, Bogacki P, Szura M, Bonior J. Substance P concentration is associated with the inflammatory response and pain perception in patients with chronic pain in peripheral artery disease. *Polski przegląd chirurgiczny.* Feb 8 2024;96(4):15-24. doi:10. 5604/01.3001.0054.2682
169. Zhou B, Li J, Liu R, Zhu L, Peng C. The Role of Crosstalk of Immune Cells in Pathogenesis of Chronic Spontaneous Urticaria. *Front Immunol.* 2022;13:879754. doi:10.3389/fimmu.2022.879754
170. Mathur SK, Schwantes EA, Jarjour NN, Busse WW. Age-related changes in eosinophil function in human subjects. *Chest.* Feb 2008;133(2):412-9. doi:10.1378/chest.07-2114
171. Artham S, Chang CY, McDonnell DP. Eosinophilia in cancer and its regulation by sex hormones. *Trends in endocrinology and metabolism: TEM.* Jan 2023;34(1):5-20. doi:10.1016/j.tem.2022.11.002
172. Grattan CE, Boon AP, Eady RA, Winkelmann RK. The pathology of the autologous serum skin test response in chronic urticaria resembles IgE-mediated late-phase reactions. *International archives of allergy and applied immunology.* 1990;93(2-3):198-204. doi:10.1159/000235301
173. Krug N, Napp U, Enander I, Eklund E, Rieger CH, Schauer U. Intracellular expression and serum levels of eosinophil peroxidase (EPO) and eosinophil cationic protein in asthmatic children. *Clin Exp Allergy.* Nov 1999;29 (11): 1507-15. doi:10.1046/j.1365-2222.1999.00680.x

174. Ashraf E, Sileem SE, Mahmoud S, Meleha. Serum eosinophilic cationic protein and high sensitive C-reactive protein as alternative parameters for differentiation of severity stages and monitoring control in bronchial asthma patients. *Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis*. 2014;63 (4):765-770. doi:10.1016/j.ejcdt.2014.07.001
175. Zhang L, Qiu L, Wu J, et al. IgE and IgG Anti-Thyroid Autoantibodies in Chinese Patients With Chronic Spontaneous Urticaria and a Literature Review. *Allergy, asthma & immunology research*. Jan 2022;14(1):131-142. doi:10.4168/aa.2022.14.1.131
176. Rojanapremsuk T, Kasprowiez S, Schafer E, et al. Clinicopathologic findings in (anti-FcεpsilonR1α) autoimmune-related chronic urticaria. *Journal of cutaneous pathology*. May 2015;42(5):329-32. doi:10.1111/cup.12471
177. Xiao X, Xue P, Shi Y, et al. The efficacy and safety of high-dose nonsedating antihistamines in chronic spontaneous urticaria: a systematic review and meta-analysis of randomized clinical trials. *BMC Pharmacol Toxicol*. Apr 6 2023;24(1):23. doi:10.1186/s40360-023-00665-y
178. Magen E, Mishal J, Zeldin Y, Schlesinger M. Clinical and laboratory features of antihistamine-resistant chronic idiopathic urticaria. *Allergy and asthma proceedings*. Nov-Dec 2011;32(6):460-6. doi:10.2500/aap.2011.32.3483
179. Curto-Barredo L, Archilla LR, Vives GR, Pujol RM, Giménez-Arnau AM. Clinical Features of Chronic Spontaneous Urticaria that Predict Disease Prognosis and Refractoriness to Standard Treatment. *Acta Derm Venereol*. Jul 11 2018;98(7):641-647. doi:10.2340/00015555-2941
180. Gimenez-Arnau A, Ferrucci S, Ben-Shoshan M, et al. Rilecitinib in Antihistamine-Refractory Chronic Spontaneous Urticaria: The RILECSU Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA dermatology*. Apr 23 2025;doi:10.1001/jamadermatol.2025.0733
181. Bernstein JA, Maurer M, Saini SS. BTK signaling - a crucial link in the pathophysiology of chronic spontaneous urticaria. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Dec 21 2023;doi:10.1016/j.jaci.2023.12.008

182. Kaplan AP, Giménez-Arnau AM, Saini SS. Mechanisms of action that contribute to efficacy of omalizumab in chronic spontaneous urticaria. *Allergy*. Apr 2017;72(4):519-533. doi:10.1111/all.13083
183. Simons FE, Simons KJ. Histamine and H1-antihistamines: celebrating a century of progress. *The Journal of allergy and clinical immunology*. Dec 2011;128(6):1139-1150 e4. doi:10.1016/j.jaci.2011.09.005
184. Thangam EB, Jemima EA, Singh H, et al. The Role of Histamine and Histamine Receptors in Mast Cell-Mediated Allergy and Inflammation: The Hunt for New Therapeutic Targets. *Front Immunol*. 2018;9:1873. doi:10.3389/fimmu.2018.01873
185. Pincus SH, DiNapoli AM, Schooley WR. Superoxide production by eosinophils: activation by histamine. *The Journal of investigative dermatology*. Jul 1982;79(1):53-7. doi:10.1111/1523-1747.ep12510590
186. Kouichi Ikai NN, Motoaki Ozaki, Ikuko Furukawa, Toshiyuki Aoshima, Tsuneo Mitani, Mari Sawami, Shigetoshi Sayama, Mitsuyoshi Omoto, Masami Uehara, Sadao Imamura. Serum level of major basic protein indicates disease activity in atopic dermatitis. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 1997;9(1):54-56. doi:10.1016/S0926-9959(97)00633-8
187. Woerly G, Loiseau S, Loyens M, Schoch C, Capron M. Inhibitory effects of ketotifen on eotaxin-dependent activation of eosinophils: consequences for allergic eye diseases. *Allergy*. May 2003;58(5):397-406. doi:10.1034/j.1398-9995.2003.00081.x
188. Leprevost C, Capron M, De Vos C, Tomassini M, Capron A. Inhibition of eosinophil chemotaxis by a new antiallergic compound (cetirizine). *International archives of allergy and applied immunology*. 1988;87(1):9-13. doi:10.1159/000234641
189. Gyoten M, Nagaya H, Fukuda S, Ashida Y, Kawano Y. Synthesis of eosinophil infiltration inhibitors with antihistaminic activity. *Chemical & pharmaceutical bulletin*. Feb 2003;51(2):122-33. doi:10.1248/cpb.51.122
190. Sugita K, Yamamoto O. Hypereosinophilia successfully treated with the novel antihistamine bilastine. *Clinical and experimental dermatology*. Jul 2019;44(5):586-588. doi:10.1111/ced.13808

PHỤ LỤC 1

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Thông tin chung

1. Họ và tên: Tuổi Giới MÃ NC
2. Mã NB HIS:
3. Địa chỉ:
4. SĐT:
5. Ngày khám:
6. Ngày lưu mẫu HT lần 1
7. Ngày lưu mẫu HT lần 2
8. Thời gian đợt bệnh này (tuần):
9. Biểu hiện của MĐMTTP:
 - 9.1. Chỉ có sản phù
 - 9.2. Sản phù kèm phù mạch
10. Tiền sử điều trị bệnh trước đó
 - 10.1. Chưa điều trị
 - 10.2. AH1
 - 10.3. AH1 và corticoid uống
 - 10.4. AH và
 - 10.5. Thuốc
 - 10.6. AH1 và thuốc UCMD
 - ciclosporin
 - bắc/nam
 - khác
11. Mức độ hoạt động của bệnh UAS7 T0:
 - 11.1. Không nặng UAS7 (0-27)
 - 11.2. Nặng UAS7 (28-42)
12. Kết quả XN trước điều trị
 - 12.1. BCAT (G/L) Giảm Không giảm
 - 12.2. BACK (G/L) Giảm Không giảm
 - 12.3. IgE toàn phần (IU/mL) Giảm Tăng Không giảm
 - 12.4. CRP (mg/L) Tăng Không tăng
 - 12.5. Anti-TPO (U/mL) Tăng Không tăng
 - 12.6. ASST Dương tính Âm tính
 - 12.7. MRGPRX2 (ng/mL)
 - 12.8. SP (pg/mL)

12.9. MBP (ng/mL)

12.10. EPO (ng/mL)

13. Kết quả XN sau điều trị T8 (chỉ dành cho nhóm nặng UAS7: 28-42)

13.1. MRGPRX2 13.2. Chất P 13.3. MBP 13.4. EPO

14. Đánh giá đáp ứng điều trị: UCT (chỉ dành cho nhóm nặng)

UCT	Mức độ kiểm soát		
	Kém: 0-11	Tốt: 12-15	Hoàn toàn: 16
T2			
T4			
T8			

15. Tác dụng phụ (chỉ dành cho nhóm nặng)

15.1. Buồn ngủ 15.2. Đau đầu 15.3. Mệt mỏi

15.4. Chóng mặt 15.5. Khác 15.6. Không

16. Thời điểm xuất hiện tác dụng phụ (ngày) (chỉ dành cho bệnh nặng)

PHỤ LỤC 2
MỘT SỐ HÌNH ẢNH VỀ MÁY ELISA TẠI
BỆNH VIỆN DA LIỄU TRUNG ƯƠNG



Máy rửa ELISA Biotek



Máy đọc ELISA đa bước sóng Biotek Elx 808