

## GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

Hen phế quản (HPQ) là một bệnh lý đa dạng về lâm sàng, cơ chế sinh bệnh học và liên quan đến nhiều gen. Các thuốc được sử dụng để dự phòng và kiểm soát hen rất phong phú nhưng corticosteroid dạng hít (ICS) là thuốc được sử dụng rộng rãi nhất. Tuy nhiên ở mỗi cá thể có sự đáp ứng khác nhau với corticosteroid.

Có nhiều yếu tố liên quan đến đáp ứng corticosteroid ảnh hưởng đến kiểm soát hen, các nghiên cứu cho thấy yếu tố gen chiếm 60-80% tính đáp ứng thuốc của từng cá thể. Trong số các gen liên quan đến đáp ứng corticosteroid, *FCER2* và *CRHR1* là hai gen được nghiên cứu nhiều nhất.

Tại Việt Nam cho đến nay chưa có công trình nghiên cứu nào đánh giá một cách toàn diện về các yếu tố liên quan đến đáp ứng ICS, đặc biệt đi sâu nghiên cứu về vấn đề gen trong đáp ứng thuốc. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: **“Nghiên cứu một số yếu tố liên quan đến đáp ứng corticosteroid dạng hít ở trẻ hen phế quản”** với các mục tiêu:

1. **Mô tả kiểu hình hen phế quản ở trẻ em.**
2. **Xác định mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng với mức độ đáp ứng corticosteroid dạng hít ở trẻ hen phế quản.**
3. **Xác định mối liên quan giữa rs28364072 của gen *FCER2* và rs242941 của gen *CRHR1* với mức độ đáp ứng corticosteroid dạng hít ở trẻ hen phế quản.**

### TÍNH CẤP THIẾT CỦA ĐỀ TÀI

Hen phế quản là một bệnh lý đa dạng về cơ chế bệnh sinh, kiểu hình cũng như điều trị phòng bệnh và kiểm soát hen. Corticosteroid dạng hít là một trong những thuốc chính điều trị dự phòng hen theo khuyến cáo, tuy nhiên một số bệnh nhân không đáp ứng điều trị vì liên quan đến nhiều yếu tố, đặc biệt là yếu tố di truyền. Do đó, tìm hiểu các yếu tố liên quan đến đáp ứng corticosteroid, nhất là các đặc điểm về gen giúp các thầy thuốc xác định, tiên lượng đáp ứng thuốc để có kế hoạch hành động điều trị cụ thể trên từng cá thể người bệnh. Vì thế đề tài có tính cấp thiết và có giá trị thực tiễn.

### ĐÓNG GÓP MỚI CỦA LUẬN ÁN

- Kiểu hình hen phế quản ở trẻ em chủ yếu theo hướng hen dị ứng. Trẻ có sự phục hồi phế quản nhiều thì cải thiện chức năng hô hấp FEV<sub>1</sub> sau điều trị sẽ tốt hơn. Tỷ lệ bạch cầu ái toan, nồng độ IgE trong máu tăng thì kém cải thiện FEV<sub>1</sub> và thang điểm đánh giá hen ACT sau điều trị.
- Đây là nghiên cứu đầu tiên ở Việt Nam về yếu tố gen trong đáp ứng thuốc điều trị dự phòng hen và nhận thấy:
  - + Kiểu hình gen ở trẻ: 9,3% trẻ có kiểu gen CC ở rs29364072 trên gen *FCER2* và 1% trẻ có kiểu gen TT ở rs242941 trên gen *CRHR1*. Nhóm trẻ có kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* xu hướng dị ứng nhiều hơn. Đặc biệt, nồng độ IgE ở nhóm kiểu gen CC cao hơn hai nhóm TC và TT.

- + Chưa phát hiện ra mối liên quan giữa kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* và kiểu gen TT ở rs242941 trên gen *CRHR1* với mức độ kiểm soát hen theo GINA và ACT.
- + Trẻ có kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* đáp ứng với corticosteroid dạng hít kém hơn về chức năng hô hấp FEV<sub>1</sub> và nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra.

## **BỘ CỤC LUẬN ÁN**

- Luận án có 128 trang chính thức, bao gồm 6 phần: Đặt vấn đề (2 trang), Chương 1: Tổng quan (35 trang), Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (20 trang), Chương 3: Kết quả nghiên cứu (34 trang), Chương 4: Bàn luận (34 trang), Kết luận (2 trang), Khuyến nghị (1 trang).
- Trong luận án có 39 bảng, 22 biểu đồ, 16 hình, 1 lưu đồ, 1 sơ đồ, 4 phụ lục, 1 bệnh án minh họa và danh sách bệnh nhân.
- Luận án có 196 tài liệu tham khảo, trong đó có 15 tài liệu tiếng Việt, 1 tài liệu tiếng Pháp, 180 tài liệu tiếng Anh.

## **Chương 1: TỔNG QUAN**

### **1.1. Cơ chế gây viêm trong hen phế quản**

Cơ chế bệnh sinh của HPQ rất phức tạp, trong đó viêm đường dẫn khí là cơ chế quan trọng nhất. Viêm đường dẫn khí trong hen rất đa dạng, liên quan đến nhiều loại tế bào và hơn 100 loại chất trung gian hóa học gây viêm. Trong cơ chế viêm dị ứng của hen, có sự mất cân bằng đáp ứng miễn dịch giữa Th1 và Th2 tạo nên các kiểu hình hen khác nhau. Phần lớn hen phế quản có ưu thế trội hơn theo hướng Th2 với các biểu hiện dị ứng trong tiền sử, lâm sàng cũng như biểu hiện về ưu thế tăng bạch cầu ái toan, tăng sự mẫn cảm với các dị nguyên dị ứng thể hiện ở test lấy da, hay sự tăng nồng độ oxit nitrit trong hơi thở ra.

### **1.2. Các yếu tố liên quan đến đáp ứng corticosteroid**

Corticosteroid là hòn đá tảng trong điều trị và kiểm soát hen vì tác dụng chống viêm hiệu quả. Tuy nhiên, có thể tới 40% trẻ không đáp ứng với điều trị và 5% kháng corticoid theo các nghiên cứu trước đây.

Một số yếu tố liên quan đến corticosteroid dạng hít đã được nhận thấy:

Giới: tình trạng đáp ứng kém với corticosteroid thường gặp nhiều ở nữ hơn nam giới. Điều này có thể liên quan đến hormone, hình thái học đường dẫn khí hay do yếu tố di truyền. Phơi nhiễm với khói thuốc lá cản trở hiệu quả chống viêm của corticosteroid do ảnh hưởng đến cơ chế tác động của thuốc. Một số yếu tố khác đóng vai trò quan trọng trong sự đáp ứng thuốc corticosteroid ở người HPQ như: cơ địa dị ứng, viêm xoang, béo phì... Tình trạng test lấy da dương tính với các dị nguyên, tăng nồng độ IgE toàn phần lớn hơn 200 UI/mL cũng có giá trị tiên lượng đáp ứng với ICS ở trẻ. Nồng độ oxit nitrit trong hơi thở ra FE<sub>N</sub>O giúp phân biệt kiểu hình lâm sàng ở bệnh nhân trước khi điều trị, nhờ đó giúp tiên lượng hướng điều trị bằng corticosteroid hay thay thế bằng thuốc khác.

### ***Yếu tố di truyền:***

Một trong số các nguyên nhân dẫn đến kém đáp ứng thuốc ICS là do sự khác biệt về di truyền. Các nghiên cứu gần đây tập trung tìm hiểu về các gen đích và SNP mục tiêu có liên quan đến đáp ứng điều trị ICS nhằm phân loại được bệnh nhân để mang lại hiệu quả điều trị tối ưu với tác dụng phụ không mong muốn thấp nhất theo từng cá thể.

Theo sinh bệnh học của hen và cơ chế tác dụng hay dược động học, dược lực học của corticosteroid, các gen liên quan đến đáp ứng thuốc corticosteroid trong HPQ ở các nghiên cứu chia thành các nhóm chính với hơn 20 gen mục tiêu như: *FCER2*, *TBX21*, *CRHR1*, *NR3C1*, *STIP1*, .... Trong số các gen nêu trên, *FCER2* và *CRHR1* là 2 gen được chứng minh qua hàng loạt các nghiên cứu liên quan đến đợt kịch phát, sự thay đổi chức năng hô hấp FEV<sub>1</sub> ở bệnh nhân sử dụng corticosteroid rõ ràng nhất.

Gen *FCER2* mã hóa phân tử protein là CD23 - thụ thể gắn với IgE ái lực thấp. Người ta nhận thấy một số đa hình trên gen *FCER2* có thể ảnh hưởng đến cơ chế điều hòa ngược trong tổng hợp và hoạt động IgE do đó liên quan đến hen phế quản. Các nghiên cứu chỉ ra rằng nồng độ IgE trong máu cao liên quan đến những biểu hiện không tốt trong hen như tăng tần số cơn hen cấp, số lần vào khám cấp cứu hay số lần phải nhập viện vì hen. Nghiên cứu của Tantisira cho thấy đa hình rs28364072 liên quan đến tăng các đợt cấp của hen phế quản ở bệnh nhân sử dụng ICS hít. Đồng quan điểm này, Koster cũng nhận thấy đa hình ở rs28364072 trên gen *FCER2* có liên quan đến tăng nồng độ IgE, kém cải thiện chức năng hô hấp FEV<sub>1</sub>, tăng nguy cơ không kiểm soát hen, liên quan đến việc tăng liều ICS.

Gen *CRHR1* mã hóa phân tử protein là thụ thể protein G. *CRHR1* đóng vai trò chính trong sự phản ứng của cơ chế đối với stress thông qua điều hòa tổng hợp glucocorticoid nội sinh và sản xuất catecholamin, do đó *CRHR1* có thể liên quan đến đáp ứng với glucocorticoid ngoại sinh. Các tác giả nhận thấy đa hình rs242941 trên gen *CRHR1* liên quan đến sự cải thiện chức năng hô hấp FEV<sub>1</sub> sau điều trị ICS. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Roger nếu lấy ngưỡng cắt (cut-off) của FEV<sub>1</sub> nhỏ hơn 7,5% để định nghĩa sự thay đổi chức năng hô hấp kém sau sử dụng ICS, tác giả nhận thấy đa hình rs242941 của gen *CRHR1* liên quan đến sự cải thiện FEV<sub>1</sub> ít hơn sau điều trị ICS.

Từ các nghiên cứu trên cho thấy mối liên quan giữa đa hình rs28364072 trên gen *FCER2*, rs242941 trên gen *CRHR1* với đáp ứng corticosteroid dự phòng hen. Do vậy, nghiên cứu đa hình rs28364072 của gen *FCER2* và rs242941 của gen *CRHR1* có thể là một yếu tố giúp ích tiên lượng đáp ứng thuốc trong điều trị, hướng tới kiểm soát hen có hiệu quả cho từng cá thể người bệnh.

## Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu gồm 186 trẻ trên 5 tuổi được chẩn đoán hen phế quản tại phòng khám khoa Miễn dịch – Dị ứng – Khớp Bệnh viện Nhi Trung Ương trong thời gian từ 5/2014 đến 5/2016.

#### 2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhi nghiên cứu:

- Bệnh nhân trên 5 tuổi được chẩn đoán hen theo GINA 2014.
- Chưa được dự phòng hen (bệnh nhân hen mới) hoặc bỏ điều trị dự phòng ít nhất 1 tháng, đến khám vì tình trạng hen chưa kiểm soát.
- Không sử dụng corticosteroid trong vòng 1 tháng (ICS hoặc đường toàn thân).
- Trẻ và bố mẹ, người giám hộ đồng ý tham gia nghiên cứu.

#### 2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ: một trong các tiêu chuẩn sau

- Bệnh nhân bị hen đang có bệnh nặng toàn thân đi kèm.
- Bệnh nhân đang có cơn hen kịch phát nặng.
- Có các bệnh kèm theo: tim bẩm sinh, hội chứng thận hư, viêm cầu thận mạn.
- Gia đình không đồng ý tham gia nghiên cứu.

#### 2.1.3. Tiêu chuẩn chẩn đoán hen phế quản: theo GINA 2014

### 2.2. Phương pháp nghiên cứu

#### 2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Mục tiêu 1: Nghiên cứu tiến cứu, mô tả cắt ngang.

Mục tiêu 2 và 3: Nghiên cứu tiến cứu, mô tả, đánh giá trước sau điều trị can thiệp dự phòng hen bằng ICS đơn thuần theo phác đồ GINA trong vòng 3 tháng.

#### 2.2.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

Áp dụng công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu tiến cứu ước lượng một tỷ lệ sai số tuyệt đối:

$$n = Z^2 (1 - \alpha/2) \times \frac{p(1-p)}{\Delta^2}$$

Trong đó: n: số bệnh nhân hen; p: tỷ lệ bệnh nhân không đáp ứng thuốc (theo một số tài liệu là 40%);  $\Delta$ : sai số tuyệt đối = 0,1; Z (1-  $\alpha/2$ ): hệ số tin cậy,  $\alpha$ : với mức xác suất 95%, chỉ số này là 1.96. Vậy, cỡ mẫu cần thiết cho nghiên cứu là 93 bệnh nhân. Mục tiêu 1 là nghiên cứu mô tả cắt ngang, lấy gấp đôi khoảng 186 bệnh nhân.

#### 2.3.3. Quy trình nghiên cứu

- Trẻ đến khám có đủ tiêu chuẩn sẽ được mời vào nghiên cứu.
- Bác sỹ trực tiếp hỏi bệnh, khám lâm sàng. Xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi, định lượng IgE toàn phần, test lấy da với một số dị nguyên, đo nồng độ FeNO, đo chức năng hô hấp, lấy máu phân tích gen FCER2 và CRHR1.
- Phân loại độ nặng của bệnh nhân: theo GINA chia thành 4 bậc. Phân loại này được sử dụng để xác định cách thức điều trị dự phòng hen cho bệnh nhân.

- Bác sỹ trực tiếp điều trị dự phòng cho bệnh nhân theo phác đồ của GINA và theo dõi các tháng điều trị. Chúng tôi áp dụng liều thuốc theo hướng dẫn của GINA và chỉ sử dụng một thuốc corticosteroid dạng hít là Flixotide HFA (fluticasone propionate 125 mcg). Bệnh nhân sử dụng thuốc giãn phế quản ventolin khi cần.
- Khám lại lần 1 (sau 1 tháng) và lần 2 (sau 3 tháng): đánh giá tình trạng kiểm soát hen của bệnh nhân theo GINA và ACT, ghi lại số lần và thời gian phải dùng thuốc giãn phế quản tác dụng nhanh, đo chức năng hô hấp, đo F<sub>E</sub>NO.
- Đánh giá đáp ứng thuốc corticosteroid: dựa vào 3 tiêu chí:  
*Tiêu chí 1:* Đánh giá đáp ứng thuốc dựa vào mức độ kiểm soát hen theo GINA.  
*Tiêu chí 2:* Đánh giá đáp ứng thuốc theo bộ câu hỏi trắc nghiệm kiểm soát hen ACT.  
*Tiêu chí 3:* Đánh giá đáp ứng thuốc dựa vào sự thay đổi thể tích thở ra gắng sức trong giây đầu tiên FEV<sub>1</sub> sau điều trị ICS so với ban đầu.

### 2.3. Xử lý số liệu

Các số liệu được nhập vào máy tính và xử lý trên phần mềm SPSS 22.0.

Chi - square test được sử dụng để so sánh các tỷ lệ, mối liên quan giữa 2 biến định tính. Đối với biến định lượng có phân bố chuẩn: sử dụng Student's t test, One way ANOVA so sánh sự khác biệt. Đối với biến định lượng không phân bố chuẩn: kiểm định Mann Whithney U, kiểm định Kruskal Walis H được sử dụng. So sánh Paired test được dùng để so sánh các chỉ số về định lượng trên cùng một bệnh nhân.

Tìm mối liên quan giữa 2 biến định tính phân bố chuẩn dùng Pearson test, nếu phân bố không chuẩn dùng Spearman test. Phân tích hồi quy đa biến logistis tìm yếu tố liên quan đến đáp ứng thuốc. Các phép kiểm định, so sánh có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .

### 2.4. Đạo đức của đề tài

Đề tài đã được thông qua Hội đồng y đức, Bệnh viện Nhi Trung ương chứng nhận số 954B/BVNTW-VNCSKTE ngày 23/05/2014.

Mọi thông tin cá nhân của đối tượng nghiên cứu được bảo mật.

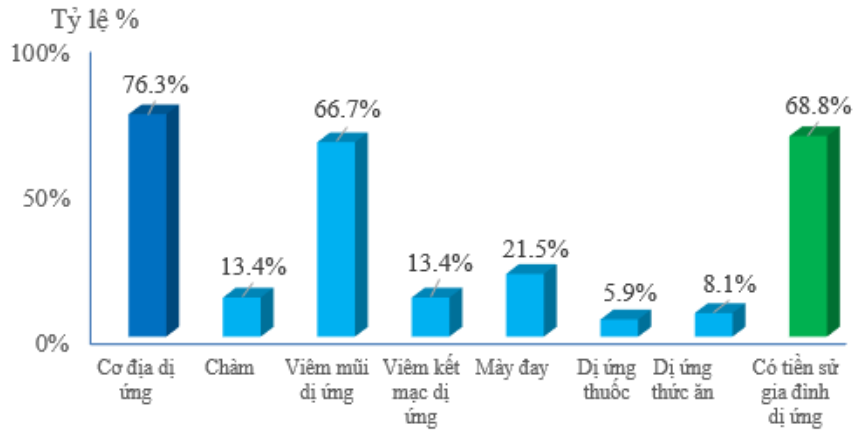
## Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

- Có 186 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn tham gia nghiên cứu (mục tiêu 1).
- Có 97 bệnh nhân theo dõi được đáp ứng thuốc ICS qua 3 tháng (mục tiêu 2).
- Có 107 bệnh nhân được chọn ngẫu nhiên phân tích gen *FCER2* và *CRHR1*, theo dõi được đáp ứng thuốc ICS của 85 bệnh nhân trong số này (mục tiêu 3).

#### 3.1.1. Đặc điểm lâm sàng

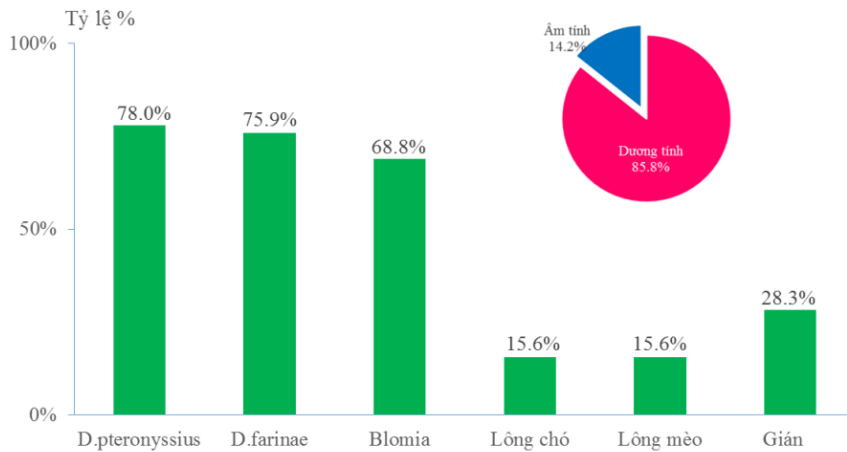
Tuổi trung bình nhóm nghiên cứu là  $9,0 \pm 2,3$  tuổi; BMI là  $17,1 \pm 3,0$ ; tỷ lệ nam/nữ là 1,9/1 với 1,6% trẻ hen bậc 1; 51,6% trẻ hen bậc 2; 46,8% trẻ hen bậc 3.



**Biểu đồ 3.1: Đặc điểm tiền sử dị ứng**

*Nhận xét:* 76,3% có tiền sử dị ứng, 68,8% trẻ có gia đình mắc bệnh dị ứng.

### 3.1.2. Đặc điểm cận lâm sàng



**Biểu đồ 3.2: Đặc điểm về test lấy da**

*Nhận xét:* Test lấy da dương tính với ít nhất một dị nguyên gặp 85,8%.

**Bảng 3.1: Đặc điểm bạch cầu ái toan, IgE,  $F_{ENO}$ , chức năng hô hấp**

Các thông số	n	Giá trị
Bạch cầu ái toan, %	177	$6,0 \pm 4,8$
Bạch cầu ái toan, G/L		$595 \pm 482$
IgE, UI/mL	157	660,1
Trung vị (min – max)		(14,6- 9643,0)
$F_{ENO}$ phế quản, ppb	177	$23,8 \pm 19,2$
FEV <sub>1</sub> , % so với lý thuyết	162	$78,5 \pm 19,7$
FEV <sub>1</sub> /FVC, %	162	$83,0 \pm 8,8$

*Nhận xét:* Bạch cầu ái toan và nồng độ IgE toàn phần đều tăng cao. Nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra trung bình của trẻ tăng là  $23,8 \pm 19,2$  ppb.

### 3.2. Phân loại kiểu hình hen

Kiểu hình hen theo nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra  $F_{E}NO$

**Bảng 3.2: Đặc điểm lâm sàng của bệnh nhân theo  $F_{E}NO$**

$F_{E}NO$		< 20 ppb	$\geq 20$ ppb	p
Đặc điểm		<i>n</i> = 98	<i>n</i> = 79	
Giới	Nam (%)	62 (53,9)	53 (46,1)	0,596
	Nữ (%)	36 (58,1)	26 (41,9)	
Tuổi	$\bar{X} \pm SD$	8,6 $\pm$ 2,3	9,7 $\pm$ 2,4	<b>0,002</b>
BMI	$\bar{X} \pm SD$	17,2 $\pm$ 3,2	17,1 $\pm$ 2,8	0,904
Cơ địa dị ứng	Không (%)	23 (57,5)	17 (42,5)	0,758
	Có (%)	75 (54,7)	62 (45,3)	
Test lấy da	Âm tính (%)	14 (77,8)	4 (22,2)	<b>0,041</b>
	Dương tính (%)	62 (52,1)	57 (47,9)	

*Nhận xét:* Ở nhóm trẻ  $F_{E}NO$  cao trên 20 ppb, trẻ có dương tính với test lấy da nhiều hơn 47,9% so với 22,2%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

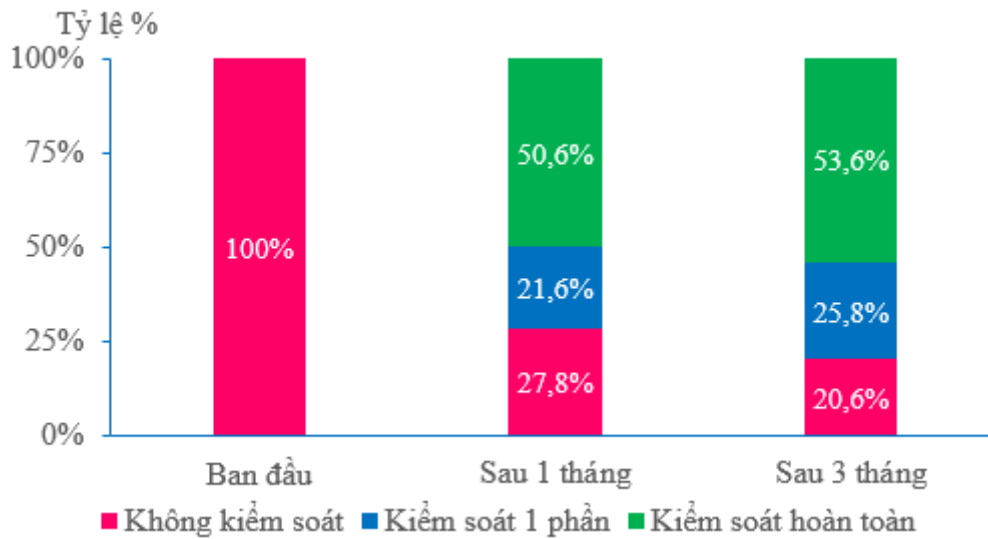
**Bảng 3.3: Đặc điểm cận lâm sàng của bệnh nhân theo  $F_{E}NO$**

$F_{E}NO$		< 20 ppb	$\geq 20$ ppb	p
Đặc điểm				
FEV <sub>1</sub> ,% LT	$\bar{X} \pm SD$	78,6 $\pm$ 20,2	77,6 $\pm$ 19,0	0,768
	lít	1,282 $\pm$ 0,455	1,442 $\pm$ 0,527	<b>0,042</b>
	<i>n</i>	90	69	
IgE, UI/mL	Trung vị (min– max)	530,0 (18,2-6088)	852,0 (14,6-9643,0)	<b>0,028</b>
	<i>n</i>	89	62	
Bạch cầu ái toan, G/L	$\bar{X} \pm SD$	414 $\pm$ 365	790 $\pm$ 529	<b>&lt; 0,001</b>
	<i>n</i>	93	76	

*Nhận xét:* Nồng độ IgE trong máu ở nhóm  $F_{E}NO \geq 20$  ppb là 852,0 UI/mL cao hơn nhóm  $F_{E}NO < 20$  ppb là 530 UI/mL với  $p < 0,05$ . Bạch cầu ái toan ở nhóm  $F_{E}NO \geq 20$  ppb là 790 G/L lớn hơn nhóm  $F_{E}NO < 20$  ppb là 414 G/L, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

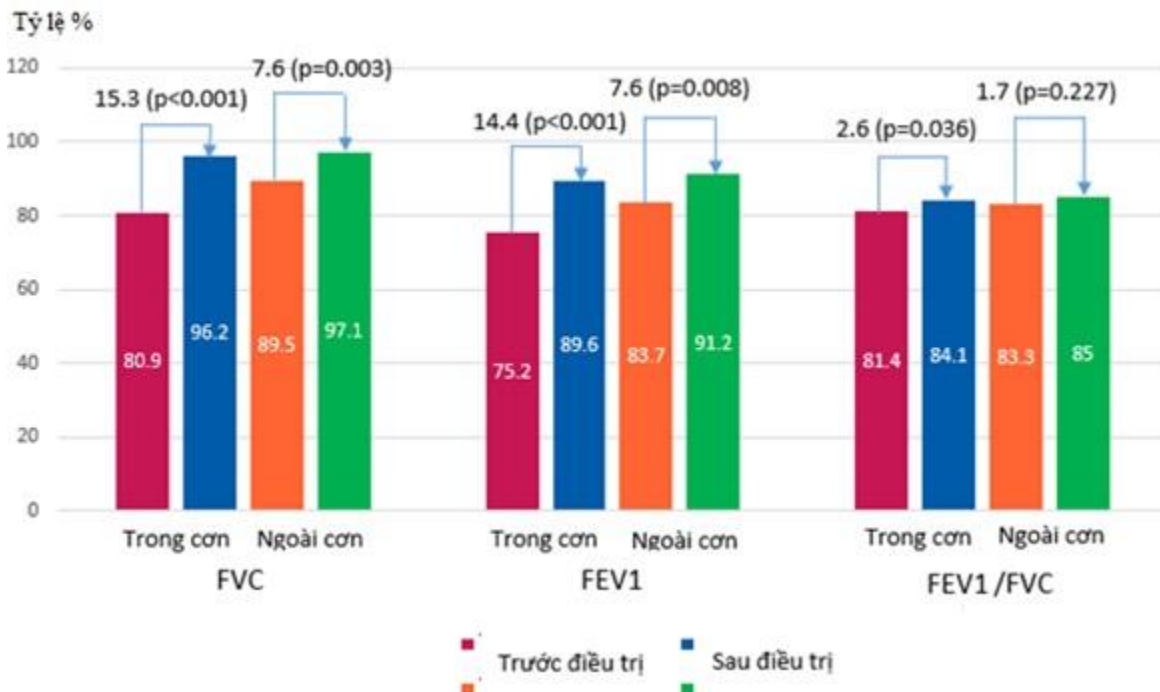
### 3.3. Mối liên quan giữa các đặc điểm của bệnh nhân và mức đáp ứng thuốc

#### 3.3.1. Diễn biến của bệnh nhân qua 3 tháng điều trị dự phòng bằng ICS



**Biểu đồ 3.3: Diễn biến mức độ kiểm soát hen theo GINA**

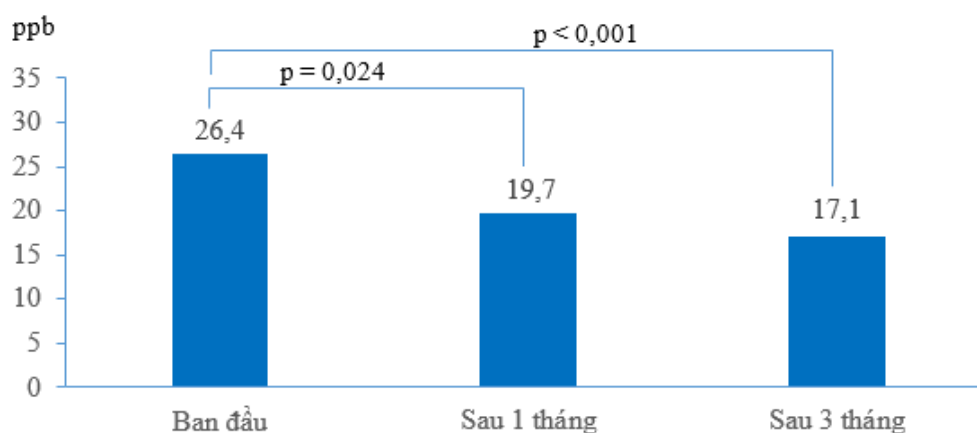
*Nhận xét:* Lúc bắt đầu nghiên cứu, 100% bệnh nhân hen không kiểm soát, tỷ lệ không kiểm soát giảm dần đến tháng thứ 3 còn 20,6%.



**Biểu đồ 3.4: Diễn biến chức năng hô hấp qua điều trị**

*Nhận xét:* Chỉ số FEV<sub>1</sub>, FVC đều tăng cao sau 3 tháng điều trị ICS với  $p < 0,05$ . Chỉ số FEV<sub>1</sub>/FVC tăng 2,6% sau điều trị ở nhóm bệnh nhân trong cơn hen với  $p < 0,05$ .





**Biểu đồ 3.5: Diễn biến F<sub>E</sub>NO qua điều trị**

*Nhận xét:* Nồng độ oxit nitrit giảm dần từ  $26,4 \pm 21,1$  ppb lúc đầu còn  $19,7 \pm 16,9$  ppb sau 1 tháng và  $17,1 \pm 11,9$  ppb sau 3 tháng với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê  $p < 0,05$ .

### 3.3.2. Mối liên quan giữa các đặc điểm bệnh nhân với đáp ứng thuốc ICS

#### 3.3.2.1. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng và mức độ kiểm soát hen

**Bảng 3.4: Mối liên quan giữa giới tính, tuổi và mức độ kiểm soát hen**

Đặc điểm	n	Giới tính			Tuổi	p
		Nam (n, %)	Nữ (n, %)	p		
Tình trạng						
Không kiểm soát - GINA	20	14 (20,9)	6 (20,0)	0,920	$9,1 \pm 2,5$	0,731
Kiểm soát - GINA	77	53 (79,1)	24 (80,0)		$9,3 \pm 2,2$	
ACT < 20	17	15 (22,4)	2 (6,7)	0,060	$9,2 \pm 2,1$	0,873
ACT ≥ 20	80	52 (77,6)	28 (93,3)		$9,3 \pm 2,3$	

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về giới tính nam hay nữ, tuổi của bệnh nhân ở nhóm không kiểm soát và kiểm soát theo GINA và ACT với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.5: Mối liên quan giữa chỉ số khối cơ thể BMI và mức độ kiểm soát hen**

Đặc điểm	n	BMI	p
Tình trạng			
Không kiểm soát - GINA	20	$17,8 \pm 4,2$	0,538
Kiểm soát - GINA	77	$17,3 \pm 2,9$	
ACT < 20	17	$17,3 \pm 3,3$	0,914
ACT ≥ 20	80	$17,4 \pm 3,2$	

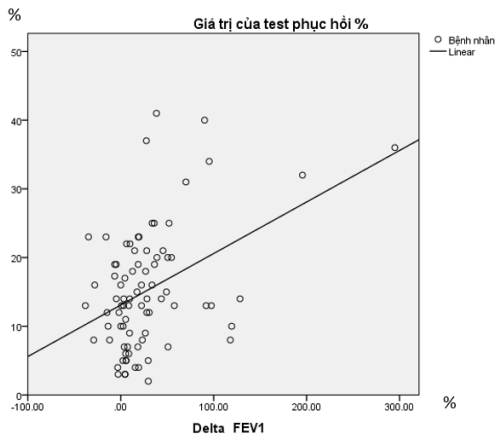
*Nhận xét:* Không có sự khác biệt BMI của bệnh nhân ở nhóm không kiểm soát và kiểm soát theo GINA và ACT với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.6: Mối liên quan giữa phơi nhiễm khói thuốc lá và mức độ kiểm soát hen**

Tình trạng \ Đặc điểm	n	Phơi nhiễm với khói thuốc lá		p
		Có (%)	Không (%)	
Không kiểm soát - GINA	20	9 (18,0)	11 (23,4)	0,511
Kiểm soát – GINA	77	41 (82,0)	36 (76,7)	
ACT < 20	17	7 (14,0)	10 (21,3)	0,346
ACT ≥ 20	80	43 (86,0)	37 (78,7)	

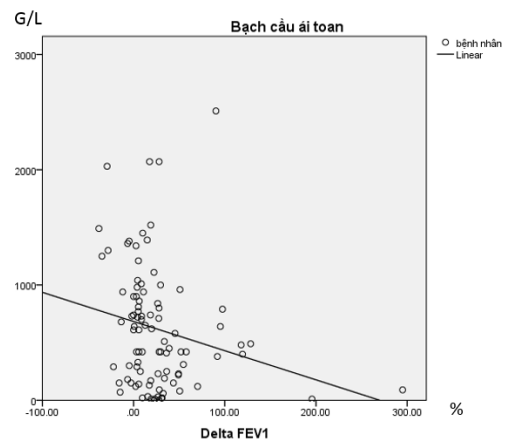
*Nhận xét:* Chưa có sự khác biệt về tình trạng phơi nhiễm với khói thuốc lá và tình trạng không kiểm soát hen theo GINA và ACT với  $p > 0,05$ .

### 3.3.2.2. Mọi liên quan giữa đặc điểm cận lâm sàng và mức độ kiểm soát hen



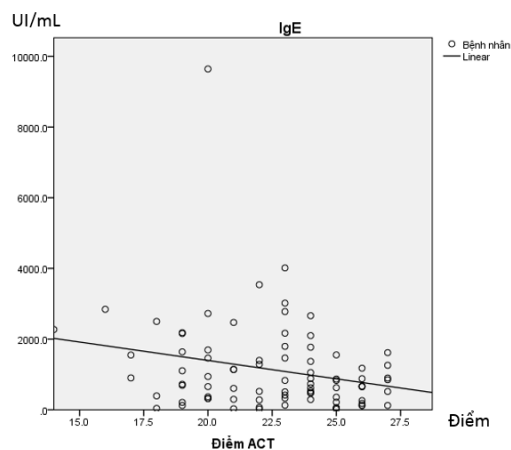
**Biểu đồ 3.6:** Mọi liên quan giữa mức độ test phục hồi phế quản và sự thay đổi FEV<sub>1</sub>

*Nhận xét:* Có mối liên quan thuận, mức độ nhẹ giữa sự phục hồi phế quản và sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau điều trị  $r = 0,319$ ,  $p = 0,003$ .



**Biểu đồ 3.7:** Mọi liên quan giữa bạch cầu ái toan và sự thay đổi FEV<sub>1</sub>

*Nhận xét:* Có mối liên quan nghịch, mức độ nhẹ giữa bạch cầu ái toan và sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau điều trị  $r = -0,301$ ,  $p = 0,003$ .



**Biểu đồ 3.8:** Mọi liên quan giữa nồng độ IgE và điểm ACT qua điều trị

*Nhận xét:* Có mối liên quan nghịch, mức độ nhẹ giữa nồng độ IgE trong máu và điểm ACT sau 3 tháng với  $r = -0,225$ ,  $p = 0,039$ .

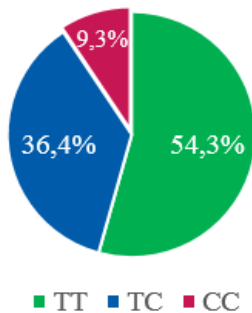
**Bảng 3.7: Mối liên quan giữa  $F_{ENO}$  và mức độ kiểm soát**

Đặc điểm Tình trạng	n	$F_{ENO}$ , ppb				
		$\bar{X} \pm SD$	p	$\geq 35$ (n)	$< 35$ (n)	p, OR
Không kiểm soát - GINA	20	24,5 $\pm$ 20,6	0,648	4	16	0,383, OR = 1,7, CI 95%: 0,51- 5,65
Kiểm soát - GINA	77	26,9 $\pm$ 21,2		23	54	
ACT < 20	17	23,0 $\pm$ 22,6	0,349	3	14	0,309, OR = 2,0, CI 95%: 0,52- 7,60
ACT $\geq$ 20	80	27,4 $\pm$ 20,7		24	56	

**Nhận xét:** Ở nhóm bệnh nhân có  $F_{ENO} \geq 35$  ppb, tình trạng kiểm soát hen theo GINA và ACT tốt hơn nhóm bệnh nhân có  $F_{ENO} < 35$  ppb (OR = 1,70; CI95%:0,51-5,65 và OR = 2,0; CI95%: 0,52-7,60 tương ứng). Tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

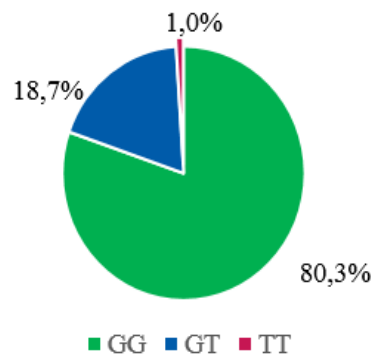
### 3.4. Mối liên quan giữa rs28364072 của gen *FCER2*, rs242941 của gen *CRHR1* và đáp ứng điều trị hen bằng ICS

#### 3.4.1. Tỷ lệ kiểu gen rs28364072 của gen *FCER2*, rs242941 của gen *CRHR1*



**Biểu đồ 3.9: Tỷ lệ kiểu gen rs28364072 của gen *FCER2***

**Nhận xét:** Có 107 bệnh nhân được phân tích đa hình rs 28364072 gen *FCER2*. Trong đó kiểu gen CC là kiểu gen ít gặp có 10 bệnh nhân chiếm 9,3%.



**Biểu đồ 3.10: Tỷ lệ kiểu gen rs242941 của gen *CRHR1***

**Nhận xét:** Có 107 bệnh nhân được phân tích gen *CRHR1* vị trí rs242941. Trong đó kiểu gen TT là kiểu gen ít gặp có 1 bệnh nhân chiếm 1%.

### 3.4.2. Kiểu hình bệnh nhân theo đa hình rs28364072 gen FCER2

**Bảng 3.8: Đặc điểm về giới, tình trạng dị ứng theo đa hình rs28364072 gen FCER2**

<i>FCER2</i>		<b>TT</b> <i>n</i> = 58	<b>TC</b> <i>n</i> = 39	<b>CC*</b> <i>n</i> = 10	<b>P</b>
Giới	Nam (%)	42 (57,5)	24 (32,9)	7 (9,6)	0,520
	Nữ (%)	16 (47,1)	15 (44,1)	3 (8,8)	
Cơ địa dị ứng	Có (%)	44 (53,6)	29 (35,4)	9 (11,0)	0,568
	Không (%)	14 (56,0)	10 (40,0)	1 (4,0)	
Tiền sử gia đình dị ứng	Có (%)	34 (47,2)	30 (41,7)	8 (11,1)	0,113
	Không (%)	24 (68,6)	9 (25,7)	2 (5,7)	

\*C: minor allele: alen thay đổi; T: major allele – alen gốc

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về giới ở 3 kiểu gen. Trẻ có cơ địa dị ứng và tiền sử gia đình có người mắc bệnh dị ứng có xu hướng gặp nhiều ở nhóm kiểu gen CC, tuy nhiên sự khác biệt này cũng không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.9: Đặc điểm về cận lâm sàng theo đa hình rs28364072 gen FCER2**

<i>FCER2</i>	<b>TT</b>	<b>TC</b>	<b>CC*</b>	<b>p</b>
FEV <sub>1</sub> , %LT $\bar{X} \pm SD$	75,7 ± 20,6 <i>n</i> = 53	87,6 ± 16,1 <i>n</i> = 28	84,2 ± 21,3 <i>n</i> = 9	<b>0,027</b>
FEV <sub>1</sub> /FVC, % $\bar{X} \pm SD$	81,3 ± 9,8 <i>n</i> = 53	84,5 ± 8,2 <i>n</i> = 28	84,8 ± 5,1 <i>n</i> = 9	0,233
F <sub>E</sub> NO, ppb $\bar{X} \pm SD$	27,0 ± 21,0 <i>n</i> = 57	20,7 ± 16,1 <i>n</i> = 34	31,7 ± 25,5 <i>n</i> = 10	0,202
IgE, UI/mL Trung vị ( min-max)	732,2 (28,1-9643,0) <i>n</i> = 49	546,6 (14,6-6088,0) <i>n</i> = 34	1366,6 (470,5-2471,0) <i>n</i> = 8	0,063
Bạch cầu ái toan, % $\bar{X} \pm SD$	5,9 ± 5,4 <i>n</i> = 58	6,0 ± 4,7 <i>n</i> = 38	6,4 ± 4,0 <i>n</i> = 10	0,957

*Nhận xét:* Nồng độ IgE ở nhóm bệnh nhân kiểu gen CC là 1366,6 UI/ml cao hơn so với 2 nhóm TT là 732,2 UI/mL và TC là 546,6 UI/ml; tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

### 3.4.3. Kiểu hình bệnh nhân theo đa hình gen CRHR1

**Bảng 3.10: Đặc điểm về giới, tình trạng dị ứng theo đa hình rs242941 gen CRHR1**

CRHR1		GG n=86	GT n=20	TT* n=1	p
Giới	Nam (%)	57 (78,1)	15 (20,5)	1 (1,4)	0,595
	Nữ (%)	29 (85,3)	5 (14,7)	0 (0)	
Cơ địa dị ứng	Có (%)	65 (79,3)	16 (19,5)	1 (1,2)	0,785
	Không (%)	21 (84,0)	4 (16,0)	0 (0)	
Tiền sử gia đình dị ứng	Có (%)	54 (75,0)	17 (23,6)	1(1,4)	0,127
	Không (%)	32 (91,4)	3 (8,6)	0 (0)	

\*T: minor allele: alen thay đổi; G: major allele – alen gốc

Nhận xét: Không có sự khác biệt về giới, BMI, cơ địa dị ứng và trong gia đình có người dị ứng ở 3 kiểu gen này.

**Bảng 3.11: Đặc điểm về cận lâm sàng theo đa hình rs242941 gen CRHR1**

CRHR1	GG	GT	TT*	p
FEV <sub>1</sub> , % LT $\bar{X} \pm SD$	78,6 ± 20,1 n = 73	87,0 ± 18,4 n = 17	Không đo được	0,117
FEV <sub>1</sub> /FVC, % $\bar{X} \pm SD$	81,7 ± 9,4 n = 73	86,3 ± 6,0 n = 17		0,088
F <sub>E</sub> NO, ppb $\bar{X} \pm SD$	25,7 ± 20,4 n = 82	22,9 ± 18,8 n = 18	47 n = 1	0,490
IgE, UI/mL Trung vị ( min-max)	724 (14,6-9643,0) n = 73	665,4 (62,7-2726,0) n = 17	885 n = 1	0,951
Bạch cầu ái toan, % $\bar{X} \pm SD$	5,6 ± 4,9 n = 85	7,5 ± 5,3 n = 20	5,7 n = 1	0,302

Nhận xét: Chức năng hô hấp FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/FVC không có sự khác biệt ở 2 nhóm GG và GT. Bệnh nhân kiểu gen TT không đo được chức năng hô hấp lúc đầu. Một bệnh nhân kiểu gen TT có F<sub>E</sub>NO phế quản lúc đầu cao 47 ppb; IgE máu 885 UI/mL, bạch cầu ái toan trong máu tăng 810 G/L.

### 3.4.4. Liên quan của kiểu gen FCER2 với mức độ đáp ứng thuốc

Có 85 bệnh nhân được phân tích gen theo dõi được đáp ứng ICS qua 3 tháng:

**Bảng 3.12: Mối liên quan giữa đa hình rs28364072 gen FCER2 và mức độ đáp ứng thuốc theo GINA**

Tình trạng <i>FCER2</i>	Không kiểm soát		Kiểm soát		p
	n	%	n	%	
CC* (n=9)	0	0	9	100,0	0,343
TC (n=30)	6	20,0	24	80,0	
TT (n=46)	7	15,2	39	84,8	
Tổng (n=85)	13	15,3	72	84,7	

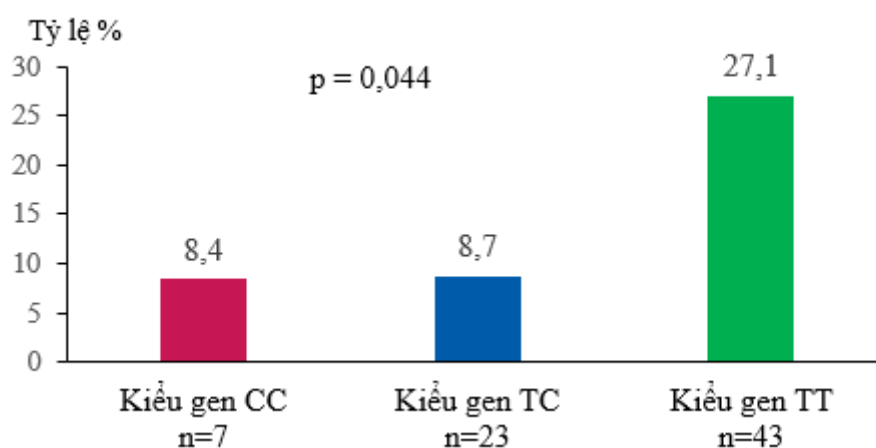
\*C: minor allele: alen thay đổi; T: major allele – alen gốc

**Nhận xét:** Có 9 bệnh nhân có kiểu gen CC đều kiểm soát hen sau 3 tháng điều trị ICS. Trong 9 bệnh nhân này, có 3 bệnh nhân kiểm soát 1 phần và 6 bệnh nhân kiểm soát hoàn toàn. Chưa phát hiện ra mối liên quan giữa kiểu gen CC ở rs28364072 của gen *FCER2* với mức độ kiểm soát hen theo GINA với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.13: Mối liên quan giữa đa hình rs28364072 gen FCER2 và mức độ đáp ứng thuốc theo ACT**

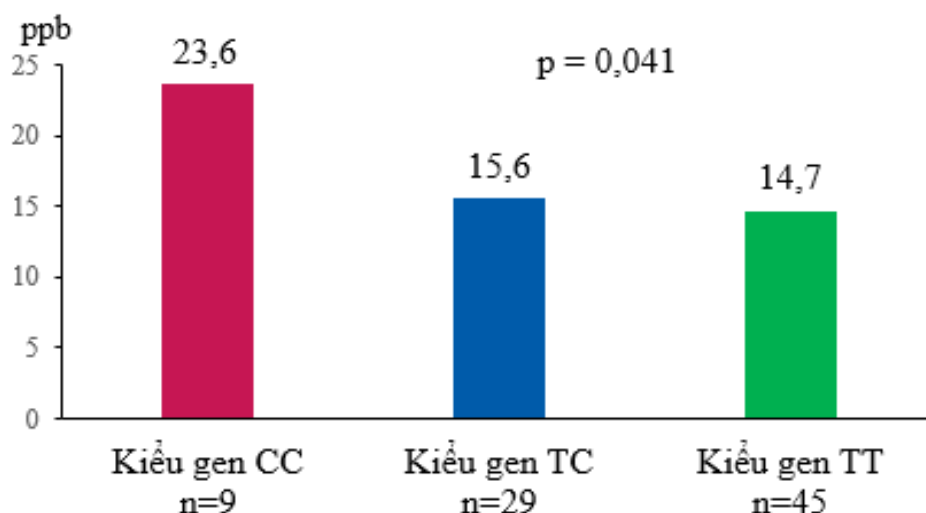
Tình trạng <i>FCER2</i>	ACT < 20		ACT ≥ 20		p
	n	%	n	%	
CC* (n=9)	0	0	9	100,0	0,343
TC (n=30)	6	20,0	24	80,0	
TT (n=46)	7	15,2	39	84,8	
Tổng (n=85)	13	15,3	72	84,7	

**Nhận xét:** 9 bệnh nhân kiểu gen CC đều có ACT ≥ 20 điểm sau 3 tháng điều trị bằng ICS. Trong 9 bệnh nhân này 7 bệnh nhân có ACT từ 21 đến 24 điểm và 2 bệnh nhân có ACT trên 24 điểm (25 và 27 điểm). Chưa thấy mối liên quan giữa kiểu gen CC ở rs 28364072 của gen *FCER2* với mức độ kiểm soát hen theo ACT với  $p > 0,05$ .



**Biểu đồ 3.11: Mối liên quan giữa đa hình rs28364072 gen FCER2 và mức độ đáp ứng thuốc theo sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau điều trị**

*Nhận xét:* Trong 3 nhóm kiểu gen, bệnh nhân có kiểu gen CC có sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau 3 tháng điều trị thấp nhất là 8,4% (min-max: -6,5 đến 97,5%), kiểu gen TC là 8,7% (min-max: -38,0 đến 43,6%) còn kiểu gen TT có sự thay đổi FEV<sub>1</sub> lớn nhất là 27,1% (min-max: -34,7 đến 295,0%) với p khác biệt có ý nghĩa thống kê < 0,05.



**Biểu đồ 3.12: Mối liên quan giữa đa hình rs28364072 gen FCER2 và mức độ đáp ứng thuốc theo sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau điều trị**

*Nhận xét:* Nồng độ F<sub>E</sub>NO sau 3 tháng điều trị ICS của nhóm kiểu gen CC là 23,6 ± 14,0 ppb cao hơn 2 nhóm TC là 15,6 ± 9,1 ppb và TT là 14,7 ± 8,6 ppb với p khác biệt có ý nghĩa thống kê < 0,05.

#### 3.4.5. Liên quan của kiểu gen CRHR1 với mức độ đáp ứng thuốc

**Bảng 3.14: Mối liên quan giữa đa hình rs242941 gen CRHR1 và mức độ đáp ứng thuốc theo GINA**

Tình trạng <i>CRHR1</i>	Không kiểm soát		Kiểm soát		p
	n	%	n	%	
GG (n=69)	11	15,9	58	84,1	0,884
GT (n=15)	2	13,3	13	86,7	
TT* (n=1)	0	0	1	100,0	
Tổng (n=85)	13	14,6	72	85,4	

\*T: minor allele: alen thay đổi; G: major allele – alen gốc

*Nhận xét:* Có 1 bệnh nhân có kiểu gen TT kiểm soát 1 phần sau 3 tháng điều trị ICS. Chưa phát hiện ra mối liên quan giữa đa hình gen *CRHR1* ở rs242941 với mức độ kiểm soát hen theo GINA.

**Bảng 3.15: Mối liên quan giữa đa hình rs242941 gen CRHR1 và mức độ đáp ứng thuốc theo ACT**

Tình trạng <i>CRHR1</i>	ACT < 20		ACT ≥ 20		p
	n	%	n	%	
GG (n=69)	10	14,5	59	85,5	0,790
GT (n=15)	3	20,0	12	80,0	
TT* (n=1)	0	0	1	100,0	
Tổng (n=85)	13	17,1	72	82,9	

*Nhận xét:* Có 1 bệnh nhân có kiểu gen TT có ACT sau 3 tháng là 8 điểm, ACT bố mẹ là 13 điểm, tổng cộng ACT con và bố mẹ của bệnh nhân này là 21 điểm. Chưa phát hiện ra mối liên quan giữa đa hình gen *CRHR1* ở rs242941 với mức độ kiểm soát hen theo ACT.

## Chương 4: BÀN LUẬN

### 4.1. Kiểu hình hen phế quản

Từ khi khởi đầu của khái niệm miễn dịch, dị ứng chia thành 2 nhóm Th1 và Th2, hen phế quản đã được đề cập liên quan theo hướng Th2 có sự biểu hiện dị ứng qua trung gian loại I - phản ứng quá mẫn, cơ địa dị ứng, tăng bạch cầu ái toan máu và đáp ứng với corticosteroid. Nhưng các nghiên cứu đã chỉ ra rằng phần lớn các trường hợp HPQ đều theo hướng này. Ở trẻ em, hen theo con đường Th2 chiếm ưu thế: khởi phát sớm vẫn là trội nhất, gặp từ 45-88% trên lâm sàng.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trẻ có tiền sử dị ứng và gia đình có tiền sử dị ứng chiếm tỷ lệ cao 76,3% và 68,8% một cách tương ứng. Về các dấu ấn viêm dị ứng khi xét nghiệm trong nghiên cứu đều cao: tỷ lệ dương tính với từ một dị nguyên khi làm test lấy da là 85,8%, nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra từ 20 ppb trở lên là 45,3%, số lượng bạch cầu ái toan trong máu từ 400 G/L trở lên là 60,4%.

Có nhiều cách khác nhau phân loại và đánh giá mối liên quan của các chỉ điểm dị ứng trong hen phế quản, trong đó nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra  $F_{E}NO$  là một dấu ấn của viêm theo con đường Th2. Giá trị  $F_{E}NO$  giúp chẩn đoán viêm đường dẫn khí có tăng bạch cầu ái toan.

Chúng tôi lấy điểm cắt của ngưỡng  $F_{E}NO$  là 20 ppb theo khuyến cáo của Hội lồng ngực Mỹ để chia nhóm  $F_{E}NO$  thấp và cao. Trong nghiên cứu này, chúng tôi nhận thấy không có sự khác biệt về giới, chỉ số khối cơ thể BMI giữa 2 nhóm. Các nghiên cứu cũng cho thấy không có mối liên quan giữa  $F_{E}NO$  và tình trạng béo phì ở bệnh nhân hen, điều này gợi ý rằng trẻ béo phì không làm tăng phản ứng viêm đường thở.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nhóm trẻ có  $F_{E}NO$  cao trên 20 ppb dương tính với test lấy da nhiều hơn nhóm trẻ  $F_{E}NO$  thấp với  $p < 0,05$ . Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Thị Diệu Thúy: có mối liên quan giữa nồng độ  $F_{E}NO$  và số dị nguyên dương tính ở da. Nghiên cứu của Dương Quý Sỹ và cộng sự ở người trưởng thành cho thấy bệnh nhân hen dương tính với dị ứng nguyên hô hấp có nồng độ  $F_{E}NO$  cao hơn nhóm không dị ứng.



Viêm mạn tính đường thở là đặc trưng của hen với các tế bào viêm rất đa dạng, trong đó bạch cầu ái toan được đề cập nhiều nhất. Các nghiên cứu đã được công bố về mối liên quan giữa  $F_{E}NO$  và tình trạng viêm tăng bạch cầu ái toan đường dẫn khí. Mối liên quan giữa  $F_{E}NO$  và bạch cầu ái toan trong máu cũng được ghi nhận. Warke và cộng sự chỉ ra rằng có mối liên quan giữa  $F_{E}NO$  và bạch cầu ái toan ở dịch rửa phế quản phế nang. Theo nghiên cứu của Strunk  $F_{E}NO$  có tương quan với bạch cầu ái toan máu và IgE toàn phần.  $F_{E}NO$  thấp là chỉ điểm của sự vắng mặt bạch cầu ái toan trong đờm và kiểu hình hen này có thể kém đáp ứng với corticosteroid.

Chúng tôi nhận thấy, IgE và bạch cầu ái toan có sự khác nhau rõ rệt có ý nghĩa giữa 2 nhóm  $F_{E}NO$  cao và  $F_{E}NO$  thấp. IgE ở nhóm  $F_{E}NO$  cao 852,0 UI/mL so với nhóm  $F_{E}NO$  thấp 530,0 UI/mL với  $p < 0,05$  và bạch cầu ái toan nhóm  $F_{E}NO$  cao 790 G/L so với 414 G/L ở nhóm  $F_{E}NO$  thấp với  $p < 0,0001$ .

Như vậy,  $F_{E}NO$  tăng thường phản ánh gián tiếp tình trạng tăng bạch cầu ái toan máu, thông qua đó phản ánh tình trạng tăng bạch cầu ái toan trong đờm: một kiểu hình hen quan trọng cần được xác định để điều trị hen được chính xác.

Sự phân loại kiểu hình có ý nghĩa rất quan trọng trên lâm sàng, nhất là với hen nặng để định hướng và tối ưu hiệu quả điều trị. Kiểu hình hen phế quản ở người lớn khá đa dạng nhưng ở trẻ em, chúng tôi nhận thấy phần lớn hen dị ứng theo hướng Th2 và kiểu hình có thay đổi theo thời gian hay không là một câu hỏi cần các nghiên cứu theo dõi dài hơn để đánh giá.

## **4.2. Mối liên quan giữa các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân và đáp ứng thuốc**

### **4.2.1. Diễn biến bệnh nhân qua 3 tháng điều trị dự phòng ICS**

Trong nghiên cứu, chúng tôi sử dụng corticosteroid hít đơn thuần (Flixotide) để xịt dự phòng hen cho bệnh nhân kết hợp với việc theo dõi các dấu hiệu lâm sàng và chức năng hô hấp để đánh giá mức độ đáp ứng với thuốc. Ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu, 100% bệnh nhân là hen không kiểm soát. Nhưng tỷ lệ kiểm soát theo tiêu chí lâm sàng của GINA tăng dần: sau 1 tháng tỷ lệ kiểm soát hoàn toàn 50,5%, kiểm soát một phần 21,6%, và sau 3 tháng đạt 53,6% kiểm soát hoàn toàn, kiểm soát một phần 25,8%, chỉ còn 20,6% chưa kiểm soát.

Các chỉ số về chức năng hô hấp biến đổi rõ hơn:  $FEV_1$ , FVC đều tăng mạnh sau 3 tháng điều trị dự phòng mặc dù bệnh nhân khi bắt đầu nghiên cứu trong cơn hen hay ngoài cơn hen. Kết quả này tương tự như một nghiên cứu trước đó trên 317 bệnh nhân hen người lớn điều trị 12 tuần bằng fluticasone, chỉ số  $FEV_1$  cải thiện 16,79%. Trong nghiên cứu CAMP (Childhood Asthma Management Program) trên 147 trẻ hen tuổi trung bình 8,7 điều trị ICS trong 8 tuần, chức năng hô hấp  $FEV_1$  cải thiện 5,2%.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ oxit nitrit chỉ điểm viêm giảm dần từ 26,4 ppb lúc đầu còn 19,7 ppb sau 1 tháng với  $p < 0,05$  và 17,1 ppb sau 3 tháng điều trị ICS với  $p < 0,001$  phản ánh tình trạng viêm đường thở của bệnh nhân giảm. Corticoid ức chế sự phiên mã của gen mang bộ mã men NOS cảm ứng (iNOS) do đó, ngăn cản sự sản xuất NO từ các tế bào viêm dưới tác dụng của các cytokine hiệu ứng nên làm giảm nồng độ NO trong khí thở.

Ở trẻ em, các tác giả cũng nhận thấy dùng corticoid đường toàn thân hay đường phun khí dung hoặc hít đều có tác dụng làm giảm nồng độ  $F_{E}NO$  ở bệnh nhân hen cấp tính hay ổn định. Một nghiên cứu của Sorkness đã thông báo dùng fluticasone đơn thuần có tác dụng làm giảm

$F_{E}NO$  ở mức độ cao hơn có ý nghĩa so với dùng dạng phối hợp fluticasone/salmeterol hoặc so với dùng montelukast sau 6 tuần điều trị và sự giảm  $F_{E}NO$  ở nhóm bệnh nhân dùng fluticasone đơn thuần đi kèm với mức độ kiểm soát hen tốt hơn..

Do đó, cùng với sự tăng dần về tỷ lệ kiểm soát hen, sự cải thiện về chức năng hô hấp, sự giảm dần nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra của bệnh nhân đã cho thấy trẻ đáp ứng khá tốt với corticoid đơn thuần trong dự phòng hen. Tuy nhiên, một số trẻ vẫn không đạt kiểm soát hen mong muốn mặc dù tuân thủ điều trị tốt.

#### **4.2.2. Đánh giá các yếu tố liên quan đến đáp ứng với điều trị ICS**

##### **4.2.2.1. Tuổi và giới**

Tỷ lệ hen ở trẻ trai gặp nhiều hơn trẻ gái trong hen phế quản đã được các nghiên cứu công bố nhưng tình trạng đáp ứng thuốc, nhất là corticoid trong điều trị hen phế quản không có sự khác biệt rõ ràng giữa giới nam và nữ cũng như khác biệt ở các lứa tuổi. Chúng tôi nhận thấy, dù đánh giá kiểm soát hen theo GINA hay ACT, không có sự khác biệt giữa giới và tuổi của bệnh nhân ở nhóm không kiểm soát và kiểm soát.

Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu trên 114 trẻ Thái Lan tuổi trung bình là 12,1, đánh giá kiểm soát hen theo GINA, tác giả cũng không thấy sự khác biệt giữa giới và tuổi của bệnh nhân. Trong nghiên cứu theo dõi dọc TREXA (Treatment among Children with Mild Persistent Asthma), tác giả nhận xét trẻ trai có thể được hưởng lợi hơn nữ khi sử dụng corticoid dạng hít với số ngày kiểm soát hen trong năm là 45 ( $CI_{95\%}$ : 23-68;  $p < 0,01$ ). Đa số nghiên cứu không thấy sự khác biệt về giới và độ tuổi khi sử dụng corticoid điều trị hen, một số nghiên cứu nhận thấy nam có thể đáp ứng hơn. Có lẽ do sự khác biệt về hình thái của đường dẫn khí hay sự thay đổi hormone trong các giai đoạn khác nhau giữa hai giới với chức năng hô hấp khác nhau ảnh hưởng đến hiệu quả của corticoid hít.

##### **4.2.2.2. Chỉ số khối cơ thể BMI**

Chỉ số khối cơ thể không liên quan đến đáp ứng với ICS theo GINA hay ACT trong nghiên cứu của chúng tôi.

Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả tương tự Nualanong ở trẻ hen Thái Lan, không có sự khác biệt về BMI giữa nhóm kiểm soát, không kiểm soát theo GINA với  $p = 0,393$ . Nghiên cứu của Stanley Szeffler sử dụng ICS trong 8 tuần ở trẻ hen nhẹ cũng không thấy sự khác biệt BMI giữa nhóm hen kiểm soát và không kiểm soát với  $p = 0,434$ .

Tuy nhiên, đa số các nghiên cứu cho thấy mối liên quan giữa béo phì và tình trạng kiểm soát hen. Nghiên cứu phân tích gộp của Sutherland từ 10 nghiên cứu trên 1265 bệnh nhân hen các lứa tuổi nhận thấy ở những bệnh nhân hen thừa cân và béo phì, có tình trạng đáp ứng với điều trị kém hơn thể hiện bởi sự thay đổi  $FEV_1$ ,  $FEV_1/FVC$  ít hơn và chỉ số chất lượng sống thấp hơn so với bệnh nhân hen khác. Nghiên cứu của Sasaki trên 3066 trẻ hen Nhật Bản, tình trạng không kiểm soát hen gặp ở trẻ béo phì với OR 1,44 ( $CI_{95\%}$ : 1,05-1,99). Béo phì và hen đáp ứng kiểm soát có liên quan mật thiết với nhau và béo phì là một dấu hiệu đã được nhận biết liên quan đến kiểu hình hen nặng và khó trị, kém đáp ứng với thuốc kiểm soát.

Mặc dù tỷ lệ thừa cân béo phì được thông báo tăng nhanh ở trẻ em Việt Nam, đặc biệt ở các đô thị lớn như Hà Nội, thành phố Hồ Chí Minh nhưng trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ số BMI của bệnh nhân nhìn chung khá thấp. Trong 186 bệnh nhân nghiên cứu, chỉ có 3 bệnh nhân thừa cân, không có bệnh nhân béo phì. Còn ở 97 bệnh nhân được theo dõi đáp ứng thuốc

qua 3 tháng, có duy nhất một bệnh nhân thừa cân với BMI bằng 28,5 nên không tìm thấy sự khác biệt giữa đáp ứng thuốc của 2 nhóm.

#### 4.2.2.3. Phơi nhiễm với khói thuốc lá

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa nhận thấy sự khác biệt giữa nhóm không kiểm soát và kiểm soát theo GINA và ACT ở những bệnh nhân có phơi nhiễm với khói thuốc lá. Nhưng nếu đánh giá sự đáp ứng thuốc theo thay đổi FEV<sub>1</sub> với ngưỡng cắt FEV<sub>1</sub> < 7,5% - không đáp ứng, FEV<sub>1</sub> ≥ 7,5% - đáp ứng ICS, thì những trẻ hen trong gia đình có người hút thuốc không đáp ứng nhiều hơn: 50% so với 27,7% với OR = 2,61, CI95%: 1,12 - 6,09; p = 0,024 (số liệu không trình bày ở phần kết quả).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ trẻ bị phơi nhiễm với khói thuốc lá khá cao, chúng tôi ghi nhận nhiều trường hợp cả người bố và người ông trong gia đình trẻ đều hút thuốc lá hoặc thuốc lào từ 1-2 điếu/ngày cho đến 60 điếu/ ngày. Đáng lo ngại là người hút thuốc rất ít khi chủ động tránh đi chỗ khác mà thường hút thuốc lá luôn trong nhà, gần nơi trẻ sinh hoạt và học tập khiến cho các cháu bị phơi nhiễm trực tiếp với khói thuốc. Việc phơi nhiễm với khói thuốc lá làm cho triệu chứng hen nặng hơn, suy giảm chức năng hô hấp theo thời gian nhanh hơn và tăng tỷ lệ tử vong khi lên cơn cấp phải nhập viện. Thêm nữa, hút thuốc hay phơi nhiễm với khói thuốc làm giảm đáp ứng với corticoid cả đường phun hít hay uống trong điều trị hen.

#### 4.2.2.4. Chức năng hô hấp

Chúng tôi cũng nhận thấy mối liên quan thuận giữa mức độ của test phục hồi phế quản với sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau 12 tuần điều trị ICS với r = 0,319 và p = 0,003. Phù hợp với nghiên cứu của Gould: test phục hồi phế quản cao thì đáp ứng với ICS tốt với kết quả cứ tăng 1% của test phục hồi phế quản thì sự thay tăng FEV<sub>1</sub> sau điều trị là 0,48%.

Như vậy, với kết quả nghiên cứu của chúng tôi thấy rằng nên điều trị ICS cho các bệnh nhân có sự phục hồi phế quản nhiều, các bệnh nhân này sẽ đạt kiểm soát tốt hơn mặc dù chưa giảm liều ICS được rõ ở nhóm bệnh nhân này.

#### 4.2.2.5. IgE và bạch cầu ái toan trong máu, FE<sub>NO</sub>

Những chỉ điểm về viêm được sử dụng để tiên đoán với đáp ứng điều trị ICS như bạch cầu ái toan trong máu, trong đờm, IgE toàn phần, nồng độ oxit nitrit trong hơi thở ra, hạt cationic protein trong huyết thanh.

Một số nghiên cứu liên quan bạch cầu ái toan hay IgE với đáp ứng ICS: tác giả Angela Rogers nhận thấy nồng độ IgE tăng cao sẽ bị nhiều cơn hen cấp hơn khi sử dụng ICS dự phòng theo dõi trong 4,3 năm, nghĩa là đáp ứng với ICS kém hơn. Trong khi đó Szeffler và cộng sự lại nhận thấy bệnh nhân có nồng độ IgE > 200 UI/mL và bạch cầu ái toan máu > 350 G/L đáp ứng tốt với ICS hơn khi đánh giá bằng sự thay đổi FEV<sub>1</sub>. Với tác giả Joe Gerald thấy với ngưỡng IgE ≥ 350 UI/mL bệnh nhân có cơn hen cấp nhiều hơn trong 11 tháng điều trị beclomethasone với HR 0,16 (CI<sub>95%</sub>:0,03-0,92; p < 0,05), nhưng cùng nghiên cứu này khi lấy số ngày kiểm soát hen trong năm là tiêu chuẩn để đánh giá đáp ứng corticoid thì tác giả lại thấy IgE ≥ 350 UI/mL bệnh nhân kiểm soát tốt hơn.

Với nghiên cứu của chúng tôi khi tìm mối liên quan đơn biến thì nồng độ IgE có liên quan nghịch với điểm ACT sau điều trị 3 tháng r = -0,225; p = 0,039 và bạch cầu ái toan máu liên quan nghịch với mức độ kiểm soát thông qua thay đổi FEV<sub>1</sub> r = - 0,301; p = 0,003.

Kết quả nồng độ IgE và bạch cầu ái toan máu liên quan đến đáp ứng với corticoid không nhất quán trong cùng một nghiên cứu hay trong các nghiên cứu khác nhau có lẽ do

sự khác nhau về chỉ số để đánh giá đáp ứng corticoid và cũng có thể là độ nhạy, độ đặc hiệu của xét nghiệm này chưa cao.

Khác với IgE, bạch cầu ái toan máu, chỉ điểm về viêm  $F_{E}NO$  có các kết luận thống nhất hơn trong các nghiên cứu trước đó và trong nghiên cứu của chúng tôi cũng vậy. Nồng độ  $F_{E}NO$  ban đầu của bệnh nhân cao hơn được quan sát thấy ở nhóm đáp ứng thuốc theo GINA và ACT. Thêm vào đó, khi lấy ngưỡng cắt (cut-off) là 35 ppb theo khuyến cáo của Hội lồng ngực Mỹ đánh giá đáp ứng corticoid chúng tôi nhận thấy nhóm  $F_{E}NO \geq 35$  ppb kiểm soát tốt hơn theo GINA (OR = 1,70; CI95%: 0,51-5,65) và ACT (OR = 2,0; CI95%: 0,52-7,60).

Xác định được kiểu hình hen trước khi điều trị là một yêu cầu cơ bản mang tính chiến lược để điều trị hen cho từng cá thể, trong đó xác định được tình trạng viêm đường dẫn khí có thể đáp ứng tốt bằng corticoid là một vấn đề quan trọng. Hầu hết các nghiên cứu cho thấy rằng ở những bệnh nhân hen có nồng độ  $F_{E}NO$  tăng cao sẽ đáp ứng với corticoid. Tuy nhiên, giá trị chính xác của  $F_{E}NO$  giúp tiên đoán khả năng đáp ứng với corticoid hít trong hen trẻ em vẫn chưa được thống nhất.

### 4.3. Mối liên quan giữa đa hình gen và đáp ứng thuốc

#### 4.3.1. Kiểu hình hen theo đa hình gen *FCER2* và *CRHR1*

Như đã đề cập, việc phân loại hen thành các kiểu hình (phenotype) là rất quan trọng trong tiếp cận và điều trị, nhưng đến nay với sự tiến bộ của sinh học phân tử, các tác giả còn đề cập đến những dưới nhóm của hen phé quản xác định bằng cơ chế sinh bệnh học phân tử chức năng riêng (endotype). Trong đó, những dấu ấn miễn dịch, những gen gây hen, các gen liên quan đến đáp ứng thuốc ngày càng được quan tâm.

Trong nghiên cứu, 107 bệnh nhân giải trình tự gen *FCER2*, xác định tính đa hình rs28364072, kiểu gen TT chiếm tỷ lệ cao nhất là 54,3%, kiểu gen TC là 36,4% và kiểu gen CC là 10 bệnh nhân chiếm tỷ lệ 9,3%.

Chúng tôi nhận thấy rằng không có sự khác biệt giữa giới nam và nữ ở các kiểu gen. Tỷ lệ cơ địa dị ứng quan sát thấy ở nhóm TT cao nhất 53,6%. Tuy nhiên khi phân tích kỹ chúng tôi nhận thấy số bệnh nhân có cơ địa dị ứng so với số bệnh nhân không có cơ địa dị ứng của từng nhóm kiểu gen TT, TC, CC lần lượt là 44/14, 29/10 và 9/1 thì nhóm kiểu gen CC cao nhất. Trong 10 bệnh nhân có kiểu gen CC thì có tới 9 bệnh nhân có tiền sử dị ứng. Cũng tương tự đối với tỷ lệ trẻ có tiền sử gia đình dị ứng và trẻ không có tiền sử gia đình dị ứng thì nhóm kiểu gen CC, TC, TT lần lượt là 8/2, 30/9, 34/24; nhóm CC tỷ lệ cao nhất. Phải chăng có mối liên quan giữa tình trạng dị ứng của trẻ và đa hình rs28364072 ở gen *FCER2*, kiểu gen CC?

Các chỉ số như nồng độ oxit nitrit trong hơi thở ra  $F_{E}NO$  ở nhóm có kiểu gen CC là 31,7 ppb so với 20,7 ppb của TC và 27,0 ppb của TT, bạch cầu ái toan ở nhóm kiểu gen CC cao hơn 2 nhóm còn lại. Nồng độ IgE ở nhóm kiểu gen CC là 1366,6 UI/mL so với 546,6 UI/mL của TC và 732,2 UI/mL của TT, nhóm CC cao hơn 2 nhóm TC và TT, phù hợp với lâm sàng nhóm bệnh nhân kiểu gen CC nghiêng về dị ứng nhiều hơn. Thêm vào đó, nếu chúng tôi so sánh nồng độ IgE của nhóm kiểu gen ít gặp CC là 1366,6 UI/mL (min-max: 470,5-2471,0) và nồng độ IgE của nhóm kiểu gen phổ biến gồm TC và TT là 664,1 UI/mL (min-max: 14,6-9643,0) thì sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,022$  (không trình bày ở phần kết quả). Nồng độ IgE ở nhóm CC trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn phù hợp với nghiên cứu của Tantisira, nghiên cứu trên trẻ sử dụng budesonide dự phòng, nồng độ IgE cao hơn ở nhóm trẻ da trắng có đa hình T2206C liên

quan đến số cơn hen cấp nặng với OR = 1,85 (95%CI: 1,04-3,26; p=0,006). Tăng nồng độ IgE đã được các nghiên cứu đề cập đến có liên quan đến tăng số cơn hen cấp, số lần khám cấp cứu hay nhập viện vì hen ở trẻ.

Trong 107 bệnh nhân phân tích gen *CRHR1*, xác định tính đa hình rs242941, kiểu gen GG và kiểu gen GT chiếm tỷ lệ chính 80,3% và 18,7%, chỉ có 1 bệnh nhân có kiểu gen tần số nhỏ TT. Bệnh nhân kiểu gen TT là trẻ nam, 6 tuổi, gầy với BMI là 14,3, thỉnh thoảng nổi mề đay nhiều không rõ nguyên nhân, có số lượng bạch cầu ái toan trong máu 810 G/L, IgE toàn phần là 885 UI/mL, F<sub>E</sub>NO là 47 ppb, bệnh nhân được đo chức năng hô hấp nhưng không đạt tiêu chuẩn chấp nhận và lặp lại. Chúng tôi không thấy sự biệt các chỉ số về lâm sàng và xét nghiệm ở các nhóm kiểu gen ở rs242941 trên gen *CRHR1*.

#### 4.3.2. *Mối liên quan giữa đa hình rs242941 gen CRHR1 và đáp ứng thuốc*

*CRHR1* mã hóa cho thụ thể kết cặp G-protein liên kết với các neuropeptide, *CRHR1* liên quan đến sản xuất corticoid nội sinh và do đó có thể được dự báo sẽ ảnh hưởng đến đáp ứng với corticoid ngoại sinh.

Trên 2 thử nghiệm lâm sàng cả ở người lớn và trẻ em sử dụng corticoid hít từ 6 đến 8 tuần, tình trạng cải thiện FEV<sub>1</sub> nhiều nhất được nhận thấy ở nhóm kiểu gen TT của rs242941. Sự biến đổi FEV<sub>1</sub> ở nhóm kiểu gen TT là 13,28 ± 3,11% so với nhóm GG là 5,49 ± 1,40% trong nghiên cứu ở người lớn, trong nghiên cứu CAMP với sự biến đổi FEV<sub>1</sub> là 17,80 ± 6,77% ở nhóm kiểu gen TT so với 7,57 ± 1,5% ở nhóm kiểu gen GG.

Tuy nhiên, có một số nghiên cứu cho kết quả ngược lại: Mougey và cộng sự vào năm 2013 nghiên cứu trên 65 người hen da trắng (nghiên cứu LOCCS) nhận thấy sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau 16 tuần điều trị ICS ở alen hiếm gặp của rs242941 thấp hơn so với alen phổ biến. Roger và cộng sự nhận cũng nhận thấy đa hình rs 242941, kiểu gen TT của *CRHR1* liên quan đến sự kém cải thiện chức năng hô hấp (OR = 1,9) và không liên quan với số cơn hen cấp (OR=0,95) khi theo dõi điều trị 4 năm. Trong một nghiên cứu khác theo dõi đáp ứng với ICS dài hạn trong 20 năm, Dijkstra nhận thấy không có mối liên quan giữa đa hình *CRHR1* ở rs242941, rs242939, rs1876828 với sự cải thiện chức năng hô hấp ở bệnh nhân hen.

Sự khác biệt giữa các kết quả này có thể do tiêu chí đánh giá sự thay đổi FEV<sub>1</sub>, hay thời gian nghiên cứu là khác nhau. Có lẽ corticoid liên quan đến sự thay đổi tốt hơn chức năng hô hấp trong thời gian ngắn hạn ở nhóm kiểu gen ít gặp TT rõ ràng hơn khi nghiên cứu trung và dài hạn.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có một bệnh nhân kiểu gen TT ở rs242941 của gen *CRHR1*, tần suất alen hiếm gặp là 10,3%, tần suất kiểu gen TT là 1%. Bệnh nhân này kiểm soát một phần sau 3 tháng điều trị và có điểm kiểm soát đánh giá theo ACT là 21 điểm, bệnh nhân không đo được chức năng hô hấp ban đầu. Với quy mô và cỡ mẫu nhỏ, chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa đa hình gen *CRHR1* với mức độ đáp ứng thuốc theo GINA, theo ACT hay theo sự thay đổi FEV<sub>1</sub>. Hy vọng với thời gian nghiên cứu lâu hơn với cỡ mẫu lớn hơn, chúng tôi sẽ đánh giá được mối liên quan của đa hình gen *CRHR1* với mức độ đáp ứng corticoid chính xác.

#### 4.3.3. *Mối liên quan giữa đa hình rs28364072 gen FCER2 và đáp ứng thuốc*

*FCER2* mã hóa cho CD23 là thụ thể gắn với IgE ái lực thấp, trong khi đó corticosteroid giảm biểu hiện của *FCER2* và giảm sản xuất CD23. Đa hình rs28364072 (T2206C) ở gen *FCER2* liên quan đến tăng nồng độ IgE, các cơn hen nặng ở trẻ hen dù đã được điều trị bằng ICS.

Vào năm 2009, Rogers và Tantisira công bố trên 17 đa hình gen *FCER2* ở 311 trẻ trên nghiên cứu CAMP có liên quan đến giảm chức năng hô hấp và tăng đợt cấp ở bệnh nhân hen da trắng. Ở trẻ kiểu gen CC của rs28364072 (T2206C) có nguy cơ kém cải thiện chức năng phổi qua FEV<sub>1</sub> khi điều trị corticosteroid với  $p = 0,03$  và số cơn hen cấp tăng cao hơn 1,9 lần với  $p < 0,05$  so với trẻ có kiểu gen phổ biến.

Trên 2 nghiên cứu cohort (thuần tập) PACMAN ( $n = 336$ ) và BREATH ( $n = 939$ ) ở trẻ hen ở Netherland năm 2001, Koster và cộng sự nhận thấy đa hình vị trí rs28364072 liên quan đến số lần nhập viện (OR: 1,91, 95% CI: 1,08 - 3,40) phù hợp với các phân tích gộp trước đó đã công bố liên quan chặt chẽ giữa rs28364072 và cơn hen (OR: 2,58, 95%, 95% CI: 1,47 - 3,85,  $p = 0,0004$ ). Đa hình rs28364072 của gen *FCER2* cũng liên quan đến tăng nguy cơ không kiểm soát hen dựa vào câu hỏi kiểm soát hen ACQ (Asthma Control - Questionnaire) với OR: 2,64 (CI 95%: 1,00 - 6,98) và liên quan đến việc tăng liều ICS trên ngày OR: 2,46 (CI 95%: 1,38 - 4,39).

Nghiên cứu của Tantisira chỉ ra sự thay đổi nucleotid T thành C ở rs28364072 nằm gần khu vực exon 9 và do đó có thể ảnh hưởng đến biểu hiện của gen *FCER2* bằng cách thay đổi liên kết và sẽ kết hợp với thay đổi biểu hiện gen trong các dòng tế bào lympho. Biểu hiện gen ở những người đồng hợp tử CC thấp hơn đáng kể so với các kiểu gen khác.

Các nghiên cứu trên đa hình rs28364072 gen *FCER2* không nhiều nhưng kết quả khá thống nhất. Đa hình đồng hợp tử alen hiếm gặp CC ở rs28364072 liên quan đến tăng nồng độ IgE trong máu cả trước và sau điều trị corticoid, tăng số cơn hen cấp, tăng số lần nhập viện, tăng tỷ lệ không kiểm soát hen dựa trên bảng câu hỏi, tăng liều ICS và kém cải thiện chức năng phổi.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 10 bệnh nhân kiểu gen CC ở rs28364027 của gen *FCER2*, tần suất alen hiếm gặp là 27,6%, tần suất kiểu gen ít gặp CC là 9,3%. Trong số 85 bệnh nhân được phân tích gen quay lại tái khám và được đánh giá đáp ứng điều trị với ICS trong 3 tháng có 9 bệnh nhân kiểu gen CC. Ở những bệnh nhân có kiểu gen thay đổi này, có 3 bệnh nhân kiểm soát 1 phần và 6 bệnh nhân kiểm soát hoàn toàn, không có bệnh nhân nào không kiểm soát. Do đó, chúng tôi chưa phát hiện ra mối liên quan giữa kiểu gen CC ở rs28364072 của gen *FCER2* với mức độ kiểm soát hen theo GINA. Khi đánh giá tình trạng kiểm soát hen theo ACT, kết quả cũng tương tự: 9 kiểu gen CC đều kiểm soát với ACT  $\geq 20$  điểm sau 3 tháng điều trị bằng ICS.

Tuy nhiên, một điều rất quan trọng mà chúng tôi nhận thấy khi phân tích sự liên quan giữa kiểu gen CC ở rs28364072 của gen *FCER2* với đáp ứng corticoid hít thông qua chỉ số đánh giá là sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau 3 tháng điều trị là nhóm bệnh nhân có kiểu gen CC có sự thay đổi FEV<sub>1</sub> sau 3 tháng điều trị thấp nhất là 8,4%, còn kiểu gen TT có sự thay đổi FEV<sub>1</sub> lớn nhất là 27,1%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,044$ . Thêm vào nữa, nồng độ F<sub>E</sub>NO sau 3 tháng điều trị ICS của nhóm kiểu gen CC là 23,6 ppb cao hơn 2 nhóm TC là 15,6 ppb và TT là 14,7 ppb với  $p = 0,041$ .

Đánh giá đáp ứng thuốc theo GINA và ACT mang tính chất chủ quan, sự thay đổi FEV<sub>1</sub> kém hơn cũng như nồng độ F<sub>E</sub>NO ở nhóm kiểu gen ít gặp còn cao hơn mang tính khách quan phản ánh tình trạng viêm của nhóm bệnh nhân kiểu gen CC chưa giảm nhiều với chức năng hô hấp kém cải thiện hơn so với nhóm khác khi điều trị bằng ICS.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi đồng nhất với các nghiên cứu trước đó khi nhận xét đa hình rs28364072 ở gen *FCER2*: nồng độ IgE trong máu cao hơn, FEV<sub>1</sub> kém cải thiện hơn ở nhóm có kiểu gen CC.

Cho đến nay, gen dược học trong thực hành lâm sàng của hen phế quản còn hạn chế bởi vì chưa có nhiều thuốc thay thế phù hợp cho bệnh nhân không đáp ứng với điều trị chuẩn thông thường. Phát hiện được sớm những bệnh nhân không đáp ứng với ICS có thể làm giảm tỷ lệ tử vong do hen bằng cách chủ động thay thế thuốc sớm. Tuy nhiên, với những cá thể không đáp ứng với ICS, thay thế điều trị bằng thuốc kháng leukotriene, phối hợp với LABA hay tăng liều ICS có phải là lựa chọn thay thế tối ưu? Các đa hình gen liên quan đến tính không đáp ứng thuốc có giúp gì cho sự lựa chọn, phát triển thuốc mới trong tương lai?

Đa hình rs28364072 trên gen *FCER2* có thể dự đoán bệnh nhân có nhiều khả năng đáp ứng với các phương pháp điều trị qua trung gian IgE. Gần đây, liệu pháp kháng IgE (Omalizumab) đã được chấp thuận như một chiến lược điều trị chống viêm mới trong hen phế quản. Điều trị với Omalizumab cho thấy để cải thiện kết quả bệnh hen ở cả trẻ em và người lớn bị hen nặng.

Thụ thể IgE đóng một vai trò quan trọng trong việc điều hòa đáp ứng IgE ở bệnh hen. Mức IgE tăng cao liên quan đến hen nặng. Liệu pháp kháng IgE dẫn đến việc kết hợp IgE tự do với thuốc tạo thành các phức hợp IgG-IgE mà không thể liên kết với thụ thể IgE. Do đó làm giảm nồng độ IgE dẫn đến giảm các triệu chứng liên quan đến hen. Tuy nhiên, liệu pháp kháng IgE đắt tiền và khó quản lý (cần tiêm thường xuyên), có thể liên quan đến phản vệ muộn. Các nghiên cứu gần đây cho thấy hiệu quả của liệu pháp chống IgE khá biến đổi mặc dù liệu pháp này cải thiện kiểm soát hen và chất lượng sống này một cách sâu sắc. Từ kết quả nghiên cứu cùng với các nghiên cứu trên có thể giả thuyết rằng liệu pháp chống IgE có hiệu quả hơn ở những bệnh nhân có biến đổi gen tại rs28364072 của *FCER2*. Để chứng minh giả thuyết cần phân tích trên các thử nghiệm ngẫu nhiên có đối chứng lớn và kiểm tra hiệu quả và an toàn của omalizumab. Nếu những phân tích như vậy được thực hiện và tìm thấy để hỗ trợ giả thuyết trên, sẽ có một nhu cầu để thực hiện các nghiên cứu tìm hiểu xem liệu pháp kháng IgE có thể được cá thể hóa với những bệnh nhân có kiểu gen thay đổi.

Thêm vào đó, một số liệu pháp mới như Lumiliximad là kháng thể đơn dòng CD23 tác dụng làm giảm vòng tuần hoàn của IgE được nghiên cứu pha I ở bệnh nhân hen hay vaccine dựa trên đoạn peptid của IgE liên quan đến sản xuất kháng thể IgE đặc hiệu có thể hữu ích ở những bệnh nhân hen với kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2*.

Với hạn chế của đề tài như cỡ mẫu nghiên cứu còn nhỏ (không đủ để tìm ra liên quan của đa hình trên gen *CRHR1* với thuốc), thời gian theo dõi ngắn (3 tháng) không đủ để đánh giá các cơn hen cấp hay số lần nhập viện (cần thời gian năm), các thăm dò của bệnh nhân chưa được đầy đủ (chức năng hô hấp,  $F_{ENO}$ ,...). Chúng tôi đã cố gắng sử dụng duy nhất một thuốc corticoid trong quá trình điều trị tránh sai số thuộc về chất lượng thuốc, tá dược, dạng bào chế,... hay loại trừ những bệnh nhân không tuân thủ điều trị, dùng thuốc không đủ liều hay bỏ thuốc để tìm hiểu yếu tố nào liên quan đến đáp ứng thuốc của bệnh nhân. Với một đề tài đầu tiên tìm hiểu gen liên quan đến đáp ứng corticoid trong hen phế quản được tiến hành ở Việt Nam, ngoài một số đặc điểm lâm sàng, chúng tôi nhận thấy yếu tố di truyền có liên quan đến đáp ứng thuốc.

## KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 186 bệnh nhân hen phế quản trên 5 tuổi chúng tôi rút ra những kết luận sau:

### 1. Kiểu hình hen phế quản

- Kiểu hình hen phế quản ở trẻ em chủ yếu gặp theo hướng Th2: trẻ có tiền sử dị ứng, các chỉ điểm dị ứng như test lấy da với các dị nguyên dương tính, bạch cầu ái toan trong máu tăng, nồng độ IgE toàn phần trong huyết thanh tăng cao và cùng với sự tăng của nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra.

### 2. Mối liên quan giữa đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng với mức độ đáp ứng corticosteroid dạng hít

- Sau điều trị dự phòng 3 tháng bằng corticosteroid dạng hít kết quả cho thấy bệnh nhân đáp ứng tốt với điều trị được minh chứng bằng điểm ACT tăng, chức năng hô hấp cải thiện, chất chỉ điểm viêm  $F_{ENO}$  giảm dần.

- Chưa tìm thấy mối liên quan giữa các đặc điểm: tuổi, giới, chỉ số khối cơ thể, tình trạng dị ứng, phơi nhiễm với khói thuốc lá,  $FEV_1$ , IgE, bạch cầu ái toan với mức độ đáp ứng thuốc corticosteroid dạng hít của bệnh nhân.

- Trẻ có sự phục hồi phế quản nhiều thì cải thiện chức năng hô hấp  $FEV_1$  sau điều trị sẽ tốt hơn. Tỷ lệ bạch cầu ái toan, nồng độ IgE toàn phần trong máu tăng thì kém cải thiện  $FEV_1$  và thang điểm đánh giá hen ACT sau điều trị.

- Đối với nhóm bệnh nhân có  $F_{ENO}$  ban đầu lớn hơn 35 ppb thì đáp ứng với ICS tốt hơn.

### 3. Nghiên cứu mối liên quan giữa gen *FCER2*, *CRHR1* và mức độ đáp ứng corticosteroid

- Trong 107 bệnh nhân được phân tích gen *FCER2* và *CRHR1*: 9,3% bệnh nhân có kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* và 1% bệnh nhân có kiểu gen TT ở rs242941 trên gen *CRHR1*.

- Nhóm trẻ có kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* xu hướng dị ứng nhiều hơn. Đặc biệt, nồng độ IgE ở nhóm kiểu gen CC cao hơn hai nhóm TC và TT có ý nghĩa thống kê ( $p = 0,022$ ).

- Chưa phát hiện ra mối liên quan giữa kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* và kiểu gen TT ở rs242941 trên gen *CRHR1* với mức độ kiểm soát hen theo GINA và ACT.

- Có sự đáp ứng với ICS kém hơn có ý nghĩa thống kê về chức năng hô hấp  $FEV_1$  ( $p=0,044$ ) và nồng độ oxit nitrit trong khí thở ra  $F_{ENO}$  ( $p = 0,041$ ) ở nhóm bệnh nhân có kiểu gen CC ở rs28364072 trên gen *FCER2* so với kiểu gen TT và TC.

## KHUYẾN NGHỊ

Nên lựa chọn điều trị corticosteroid dạng hít trong dự phòng hen đối với nhóm trẻ hen có kiểu hình dị ứng theo hướng Th2.

Đối với bệnh nhân hen khó kiểm soát, cần nhắc phân tích đa hình rs28364072 thuộc gen *FCER2* để lựa chọn điều trị phù hợp.

Cần mở rộng quy mô nghiên cứu phân tích gen trong hen phế quản trẻ em nhằm cá thể hóa chiến lược điều trị đích.



## THE THESIS INTRODUCTION

Asthma is a diverse disease with various clinical phenotype, complex pathogenesis, and multiple genes involved. There are abundant medications prescribed for prevention and treatment asthma. Among them, inhaled corticosteroids (ICS) are the most widely first-line used drugs. However, corticosteroids responses are varied between individuals.

There are numerous factors involving in the corticosteroids responses and genetic factor is one of them. According to previous studies, genes contribute to 60-80% of the individual treatment responsiveness. Among the suspected genes, *FCER2* and *CRHR1* are mentioned in many studies.

In Vietnam until now, the study of asthma related factors, especially genetic factors, associated with ICS responsiveness has not been well established. Therefore, we carried out this work to "*Study of factors related to inhaled corticosteroid therapy responsiveness in children with asthma*" with the following objectives:

- 4. Describe the asthma phenotype in children.**
- 5. Study the correlations between clinical, laboratory features and inhaled corticosteroid responsiveness in children with asthma.**
- 6. Study the correlations between rs28364072 in *FCER2* gene, rs242941 in *CRHR1* gene and inhaled corticosteroid responsiveness in children with asthma.**

### THE NECESSITY OF THE STUDY SUBJECT

Asthma is a diverse disease of pathology, phenotype and therapies used for controller treatment. According to the current recommendations, inhaled corticosteroids (ICS) are the first-line treatment in control asthma. Unfortunately, some patients do not respond to this treatment due to a number of factors, particularly the genetic factors. The study of factors related to corticosteroid responses, especially genetic characteristics provides a comprehensive approach for physicians to predict the drug response in each individual subject and prepare the suitable action plan and treatment strategy. For this reason, this study is valid in respect of the necessity and practical demand.

### THE NEW CONTRIBUTIONS OF THE THESIS

- The phenotype of characteristics in asthmatic children is mainly allergic phenotype. Children with higher degree of baseline bronchodilator reversibility demonstrated a better improve of FEV<sub>1</sub> with ICS treatment. Children with higher blood eosinophils and total serum IgE levels were less likely to improve FEV<sub>1</sub> and ACT scores with ICS treatment.
- This is the first study about genetic factors in asthma controlled treatment in Vietnam. The thesis had the new results:
- + The characteristics of childhood asthma genotype: homozygous variant CC rs28364072 in *FCER2* gene had 9.3% and rs242941 homozygous variant TT in *CRHR1* gene had 1%. Children with genotype CC rs28364072 in *FCER2* gene had tendency more allergic symptoms. Interestingly, total serum IgE levels of study

subjects with homozygous variant CC was higher than one of heterozygous TC and homozygous wild type TT.

- + The correlation between homozygous variant CC rs28364072 in *FCER2* gene and homozygous variant TT rs242941 in *CRHR1* gene with asthma control level according to GINA and ACT was not established.
- + Children with homozygous variant CC rs28364072 in *FCER2* gene was poor ICS responsiveness as defined by the change in FEV<sub>1</sub> and the level of fraction exhaled nitric oxide (F<sub>E</sub>NO).

## **THE THESIS STRUCTURE**

- The thesis has 128 main pages, including 06 sections: Introduction (2 pages), Chapter 1: Overview (35 pages), Chapter 2: Study subjects and methods (20 pages), Chapter 3: Study results (34 pages), Chapter 4: Discussion (34 pages), Conclusions (2 pages), Recommendations (1 page).
- The thesis has 39 tables, 22 figures, 16 pictures, 1 flowchart and 1 diagram, 4 appendixes, 1 example of medical report and the patient list.
- The references consist of 196 documents, including 15 in Vietnamese, one in French, and 180 English.

## **Chapter 1: LITERATURE OVERVIEW**

### **1.1. Inflammation mechanism in asthma**

The pathology of asthma is complex, with airway inflammation being the most important. Airway inflammation in asthma is very diverse, involving many types of cells and more than 100 types of inflammatory mediators. In the inflammatory mechanism of asthma, there is an imbalance of the immune response between Th1 and Th2 resulting in different types of asthma. Most asthma predominates in the Th2 direction with pre-existing allergic manifestations, as well as clinical manifestations of eosinophilia, increased susceptibility to allergic manifestations with the skin prick test, or the increase of fractional exhaled nitric oxide levels.

### **1.2. Factors related to corticosteroid response**

Corticosteroid is a cornerstone in the treatment and management of asthma because of its potent anti-inflammatory effect. However, up to 40% of children do not respond to treatment and 5% of corticosteroid resistance according to previous studies.

Several factors related to inhaled corticosteroids have been identified:

Gender: a poor response to corticosteroids is more common in women than men. It might be related to hormones, airway morphology, or genetic factors. Exposure to cigarette smoke inhibits the anti-inflammatory effect of corticosteroids due to its effects on the mechanism of action of the drug. Other factors play an important role in the corticosteroid response in asthma, such as allergic rhinitis, sinusitis, obesity... Positive allergen skin prick test, elevated total serum IgE levels greater than 200 UI/mL also has prognostic value in response to ICS in children. Fractional exhaled nitric oxide F<sub>E</sub>NO help to distinguish the clinical phenotype of patients before treatment, thereby advancing the corticosteroid therapeutic direction or substituting with other drugs.

***Genetic factor:***

One of the causes leading to poor response to ICS is due to genetic differences. Recent studies focused on targeting genes and target SNPs associated with ICS response to classify patients for optimal therapeutic outcomes with undesirable side effects in individual.

The pathogenesis of asthma and its mechanism of action or pharmacokinetics, pharmacodynamics of corticosteroids, corticosteroid-related genes in asthma in studies subdivided into major groups with more than 20 target genes: *FCER2*, *TBX21*, *CRHR1*, *NR3C1*, *STIP1*,.... Among these genes, *FCER2* and *CRHR1* are two genes that have been demonstrated in the series of studies related to acute asthma, the change in FEV<sub>1</sub> lung function in patients with the most obvious corticosteroid use.

The *FCER2* gene coding protein is CD23 - low affinity IgE receptor. It has been found that some polymorphisms in the *FCER2* gene may interfere with back regulating mechanisms in synthesis and IgE activity thus associated with asthma. Studies have shown that elevated levels of IgE in the blood are associated with poorer outcomes in asthma such as increased frequency of acute asthma attacks and number of visits to hospital or hospitalizations due to asthma. Tantisira's study showed that rs28364072 polymorphism was associated with increased acute asthma episodes in ICS inhaled patients. Concurrently, Koster also found that the polymorphisms at rs28364072 in the *FCER2* gene were associated with elevated IgE levels, poorly improved FEV<sub>1</sub> for lung function, increased risk of uncontrolled asthma, and associated with ICS increase dose.

The *CRHR1* gene coding protein is the G protein receptor. The *CRHR1* gene plays a major role in the mechanism of stress through the synthesis of endogenous glucocorticoids and the production of catecholamine, so that *CRHR1* may be involved response to exogenous glucocorticoid. The authors found that rs242941 polymorphism on the *CRHR1* gene was associated with improved FEV<sub>1</sub> respiratory function after ICS treatment. However, according to Roger's study, if the cut-off value of FEV<sub>1</sub> was less than 7.5% to define a change in lung function after ICS use, the authors found that the rs242941 polymorphism of the gene *CRHR1* was associated with less improvement in FEV<sub>1</sub> after ICS treatment.

From the above studies, the correlation between rs28364072 polymorphism in *FCER2* gene, rs242941 in *CRHR1* gene with corticosteroid response to asthma. Thus, study of the polymorphism rs28364072 in *FCER2* gene and rs242941 in *CRHR1* gene may be a useful predictor of drug response to treatment, towards effective asthma control for individual patients.

## **Chapter 2: SUBJECTS AND METHODS**

### **2.1. Study subjects**

Study subjects included 186 children over 5 years of age with asthma in outpatient treatment at the Department of Immunology - Allergy - Arthritis of National Children's Hospital from May 2014 to May 2016.

### **2.1.1. Inclusion criteria**

- Patients over 5 years of age are diagnosed with GINA 2014.
- Have not been in asthma control (newly treated patients) or quit at least 1 month of preventive treatment.
- Do not use corticosteroids for 1 month (ICS or systemic corticosteroids).
- Children and parents, guardians agree to participate in research.

### **2.1.2. Exclusion criteria: with one of the following criteria**

- Patients with asthma accompanied by other severe diseases
- Patients with severe asthma attacks
- There are congenital diseases: congenital heart disease, nephrotic syndrome, chronic glomerulonephritis.
- Family does not agree to participate in research.

**2.1.3. Criteria for diagnosis of asthma:** Using 2014 Global Initiative for Asthma (GINA) guidelines for children > 5 years old to diagnose asthma.

## **2.2. Methods**

### **2.2.1. Study design**

Objective 1 A prospective study, cross sectional description.

Objectives 2 and 3: A prospective study, description, pre and post-intervention assessment of asthma with ICS following the GINA regimen for 3 months.

### **2.2.2. Sample size calculation**

Applying a sample size formula for prospective studies estimates an absolute error rate:

$$n = Z^2 (1 - \alpha/2) \times \frac{p(1-p)}{\Delta^2}$$

Where: n: number of asthma patients; p: proportion of patients not responding to medication (according to some studies is 40%);  $\Delta$ : Absolute error = 0.1;  $Z (1 - \alpha / 2)$ : coefficient of confidence,  $\alpha$ : with a probability of 95%, the index is 1.96. So, the sample size needed for the study was 93 patients. Objective 1 was a cross-sectional descriptive study, taking in double number of sample size by approximately 186 patients.

### **2.3.3. Research process**

- Children who are eligible to research work will be invited to study.
- Physicians directly ask about the disease and do the clinical examination. The total peripheral blood cell assay, total serum IgE, skin prick test with some allergens,  $F_E NO$  measurement, respiratory function, *FCER2* and *CRHR1* gene analysis will be done.
- Classification of severity of patients: according to GINA and dividing into 4 grades. This classification is used to determine how to treat asthma for study patients.
- Physicians directly treat patients according to the GINA regimen and monitor the treatment monthly. We use the dose of ICS according to GINA guidelines and use only one ICS: Flixotide HFA (fluticasone propionate 125 mcg). Patients can use ventolin bronchodilator as needed.
- First visit (after 1 month) and second visit (after 3 months): Assessment of asthma control status of patients following GINA and ACT, record times and duration of short bronchodilator use, lung function measurement, and  $F_E NO$  measurement.
- Assessment of corticosteroid response: based on 3 criteria:

*Criteria 1:* Assessment of drug response based on the level of asthma control according to GINA.

*Criteria 2:* Drug interactions assessment according to asthma control test ACT.

*Criteria 3:* Evaluation of drug response based on change in FEV<sub>1</sub> after ICS treatment compared to baseline.

### 2.3. Statistical analysis

SPSS software 22.0 was used to analyze these data.

Chi - square test was used to compare the ratios and correlations between two quantitative variables. For quantitative variables with standard distribution: Using Student's t test, One way ANOVA to compare the differences. For non-standard distribution quantitative variables: the Mann-Whitney U test, the Kruskal-Wallis H test was used. Comparison paired test was used to compare quantitative data for the same patient.

The correlation between two standard distributions and quantitative variables was done by using Pearson test, if non-standard distribution Spearman test. Multivariate regression analysis was used for evaluating the factors related to drug response. The comparisons were statistically significant when p values < 0.05.

### 2.4. Research Ethics:

- The research work was approved by the Ethics Council of National Children's Hospital, certificate number 954B/BVNTW-VNCSKTE dated on 23/05/2014.

- All personal information of research subjects are kept confidentially.

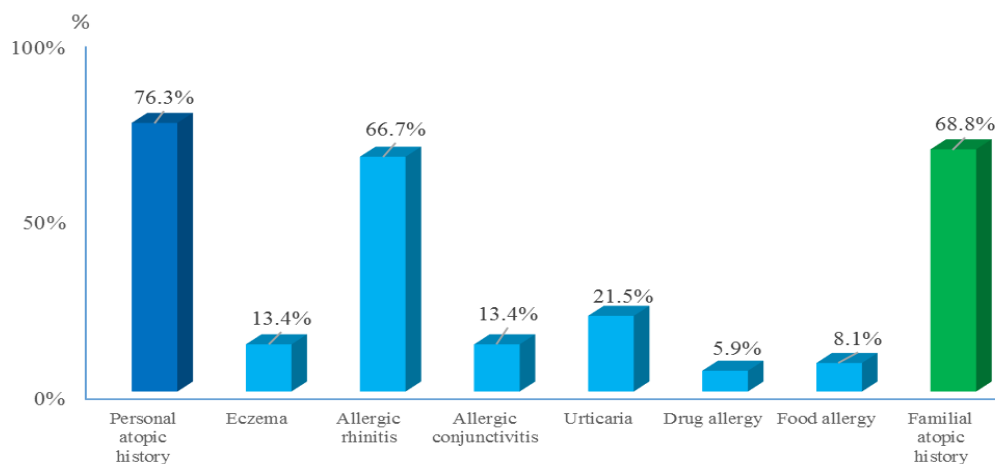
## Chapter 3: RESULTS

### 3.1. Clinical and functional characteristics of study subjects

- 186 patients were included in the study (Objective 1).
- 97 patients were followed to response to ICS in 3 months (Objective 2).
- 107 patients were randomly assigned to the *FCER2* and *CRHR1* gene analysis, and ICS responders were screened for 85 of these patients (Objective 3).

#### 3.1.1. Clinical features

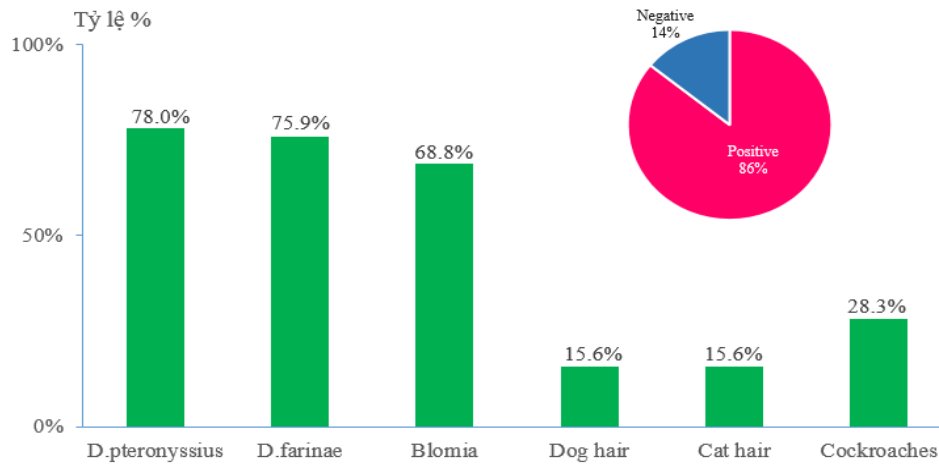
The mean age of the study patients was  $9.0 \pm 2.3$  years; BMI was  $17.1 \pm 3.0$ ; the rate of male/female was 1.9/1 with 1.6% of 1st grade asthma patient; 51.6% of second-grade asthma patients; 46.8% of third-grade asthma patients.



**Figure 3.1: Allergic features**

*Comment:* 76.3% had a personal atopic history, 68.8% had a familial atopic history.

### 3.1.2. Laboratory features



**Figure 3.2: Skin Prick Test Features**

*Comment:* A positive skin prick test with at least one allergy was found at 85.8%.

**Table 3.1: Characteristics of eosinophils, IgE,  $F_{ENO}$ , respiratory function**

Variables	n	Results
Eosinophils, %	177	$6.0 \pm 4.8$
Eosinophils, absolute <i>G/L</i>		$595 \pm 482$
IgE, <i>UI/mL</i> Median (min – max)	157	660.1 (14.6- 9643.0)
$F_{ENO}$ , <i>ppb</i>	177	$23.8 \pm 19.2$
$FEV_1$ , % of predicted	162	$78.5 \pm 19.7$
$FEV_1/FVC$ , %	162	$83.0 \pm 8.8$

*Comment:* Eosinophils and total serum IgE levels are all high. The mean  $F_{ENO}$  was  $23.8 \pm 19.2$  ppb.

### 3.2. Asthma phenotype

*Asthma phenotype of fraction exhaled nitric oxide  $F_{ENO}$*

**Table 3.2: Clinical characteristics of patients classified by  $F_{ENO}$  levels**

		$F_{ENO}$	< 20 ppb <i>n</i> = 98	$\geq$ 20 ppb <i>n</i> = 79	<i>p</i>
Gender	Male (%)		62 (53.9)	53 (46.1)	0.596
	Female (%)		36 (58.1)	26 (41.9)	
Age	$\bar{X} \pm SD$		$8.6 \pm 2.3$	$9.7 \pm 2.4$	<b>0.002</b>
BMI	$\bar{X} \pm SD$		$17.2 \pm 3.2$	$17.1 \pm 2.8$	0.904
Individual allergy	No (%)		23 (57.5)	17 (42.5)	0.758
	Yes (%)		75 (54.7)	62 (45.3)	
Skin Prick Test	Negative (%)		14 (77.8)	4 (22.2)	<b>0.041</b>
	Positive (%)		62 (52.1)	57 (47.9)	

*Comment:* In children with  $F_{ENO} > 20$  ppb, children were positive for skin prick test more than those with  $F_{ENO} < 20$  ppb: 47.9% vs 22.2%, the difference was statistically significant with  $p < 0.05$ .

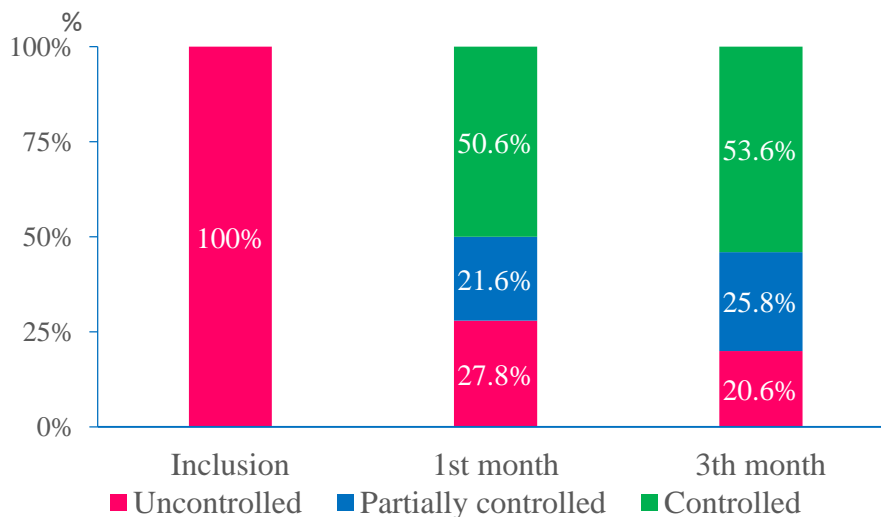
**Table 3.3: Laboratory features of patients classified by F<sub>E</sub>NO levels**

F <sub>E</sub> NO		< 20 ppb	≥ 20 ppb	p
Characteristics				
FEV <sub>1</sub> , % of predicted	$\bar{X} \pm SD$	78.6 ± 20.2	77.6 ± 19.0	0.768
	liter	1.282 ± 0.455	1.442 ± 0.527	<b>0.042</b>
	n	90	69	
IgE, UI/mL	Median (min– max)	530.0 (18.2-6088)	852.0 (14.6-9643.0)	<b>0.028</b>
	n	89	62	
Eosinophils, G/L	$\bar{X} \pm SD$	414 ± 365	790 ± 529	< <b>0.001</b>
	n	93	76	

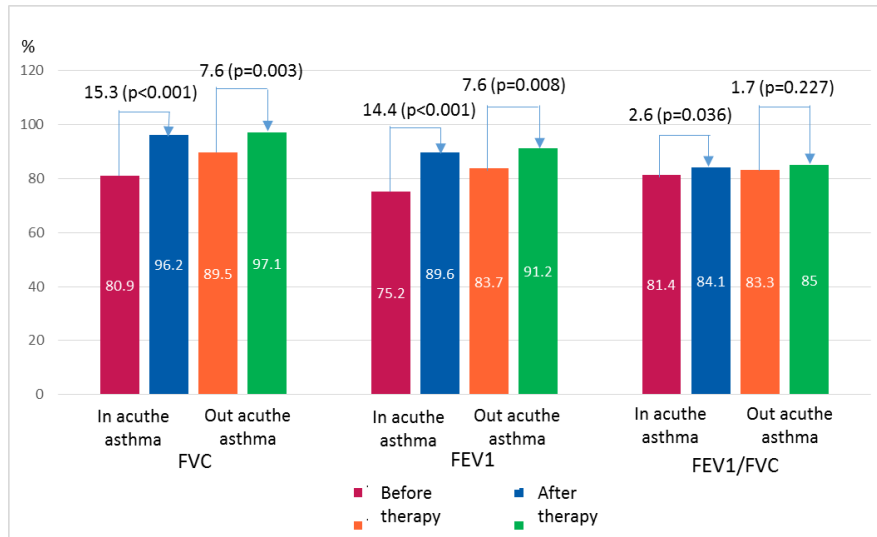
*Comment:* IgE levels in the F<sub>E</sub>NO group ≥ 20 ppb were 852.0 UI/mL higher than F<sub>E</sub>NO < 20 ppb at 530 UI/mL with p < 0.05. Blood eosinophils in the F<sub>E</sub>NO group ≥ 20 ppb were 790 G/L higher than the F<sub>E</sub>NO group < 20 ppb at 414 G/L, the difference was statistically significant with p < 0.001.

### 3.3. Correlations between patient characteristics and drug response

#### 3.3.1. Progression of asthma control after 3 months with ICS therapy

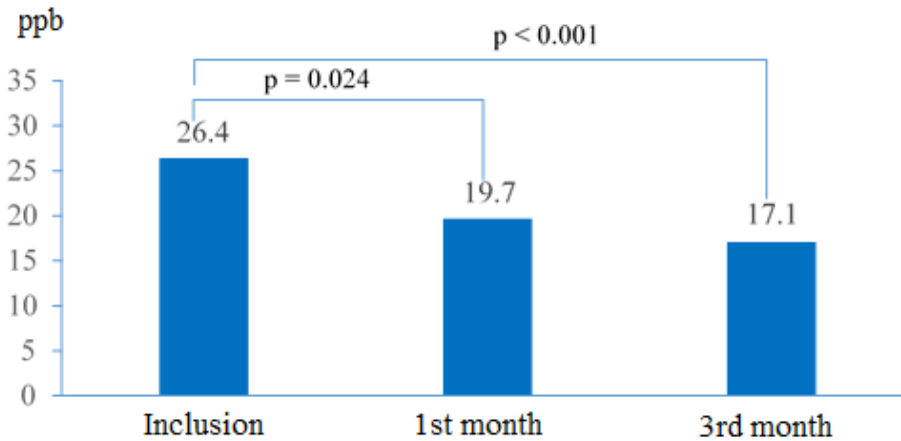
**Figure 3.3: The level of asthma control according to GINA**

*Comment:* At the beginning of the study, 100% of asthmatics were uncontrolled, with uncontrolled rates declined to 20.6% in the third month after ICS therapy.



**Figure 3.4: Variation of lung function after therapy**

*Comment:* FEV<sub>1</sub>, FVC all increased after 3 months of ICS treatment with  $p < 0.05$ . FEV<sub>1</sub>/FVC increased 2.6% after treatment in asthmatic patients with  $p < 0.05$ .



**Figure 3.5: Variation of FE(NO) after therapy**

*Comment:* fraction exhaled nitric oxide level decreased from  $26.4 \pm 21.1$  ppb to  $19.7 \pm 16.9$  ppb after 1 month and  $17.1 \pm 11.9$  ppb after 3 months with significant difference and statistical significance with  $p < 0.05$ .

### 3.3.2. Correlations between patient characteristics and ICS response

#### 3.3.2.1. Correlations between clinical characteristics and level of asthma control

**Table 3.4: Correlations between gender, age and level of asthma control**

Characteristics	n	Gender			Age	p
		Male (n, %)	Female (n, %)	p		
Uncontrolled - GINA	20	14 (20.9)	6 (20.0)	0.920	$9.1 \pm 2.5$	0.731
Controlled - GINA	77	53 (79.1)	24 (80.0)			
ACT < 20	17	15 (22.4)	2 (6.7)	0.060	$9.2 \pm 2.1$	0.873



ACT $\geq$ 20	80	52 (77,6)	28 (93.3)		9.3 $\pm$ 2.3	
---------------	----	-----------	-----------	--	---------------	--

*Comment:* There is no difference in the gender, age of the patient in the uncontrolled and control group according to GINA and ACT with  $p > 0.05$ .

**Table 3.5: Correlations between body mass index (BMI) and level of asthma control**

Characteristics	n	BMI	p
Uncontrolled - GINA	20	17.8 $\pm$ 4.2	0.538
Controlled - GINA	77	17.3 $\pm$ 2.9	
ACT < 20	17	17.3 $\pm$ 3.3	0.914
ACT $\geq$ 20	80	17.4 $\pm$ 3.2	

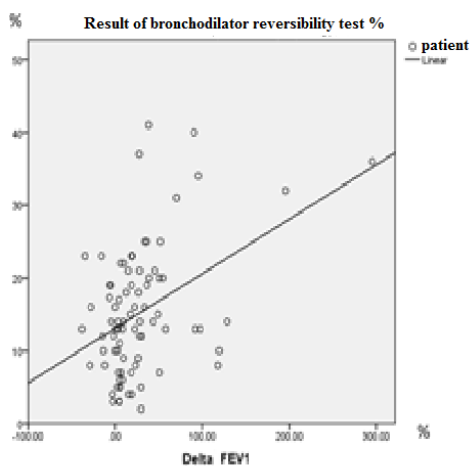
*Comment:* There was no difference in BMI of patients in the uncontrolled and control group according to GINA and ACT with  $p > 0.05$ .

**Table 3.6: Correlations between cigarette smoke exposure and level of asthma control**

Characteristics	n	Exposure to tobacco smoke		p
		Yes (%)	No (%)	
Uncontrolled - GINA	20	9 (18.0)	11 (23.4)	0.511
Controlled - GINA	77	41 (82.0)	36 (76.7)	
ACT < 20	17	7 (14.0)	10 (21.3)	0.346
ACT $\geq$ 20	80	43 (86.0)	37 (78.7)	

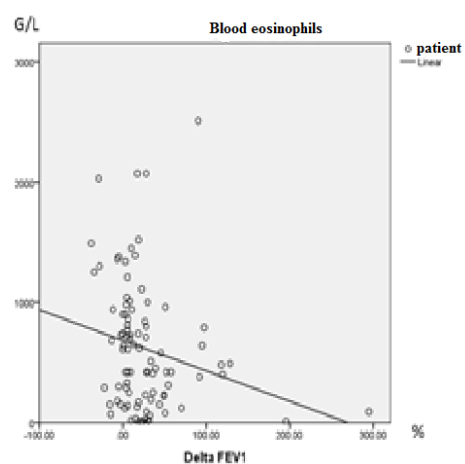
*Comment:* There was no difference in exposure to tobacco smoke of patient in the uncontrolled and uncontrolled asthma under GINA and ACT with  $p > 0.05$ .

### 3.3.2.2. Correlations between laboratory characteristics and level of asthma control



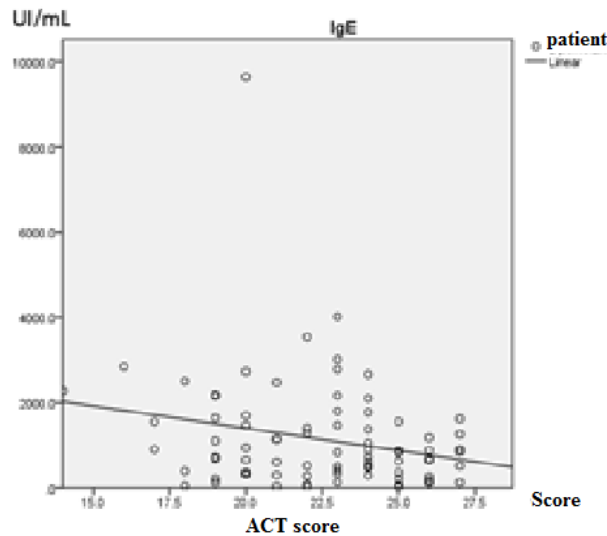
**Figure 3.6: Correlations between bronchodilator reversibility level and FEV<sub>1</sub> change**

*Comment:* There was a positive correlation between bronchodilator reversibility and FEV<sub>1</sub> change after treatment with  $r = 0.319$ ,  $p = 0.003$ .



**Figure 3.7: Correlations between blood eosinophils and FEV<sub>1</sub> change**

*Comment:* There was a negative correlation between eosinophilia and FEV<sub>1</sub> change after  $r = -0,301$ ,  $p = 0.003$ .



**Figure 3.8: Correlations between IgE levels and ACT scores after therapy**

*Comment:* There was a negative correlation between serum IgE levels and ACT scores after 3 months with  $r = -0.225$ ,  $p = 0.039$

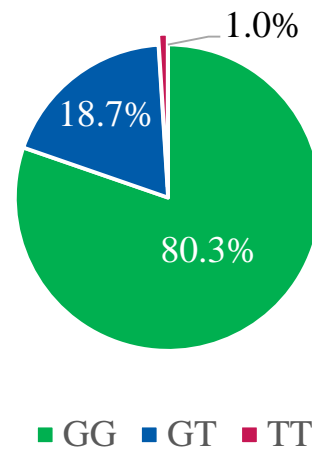
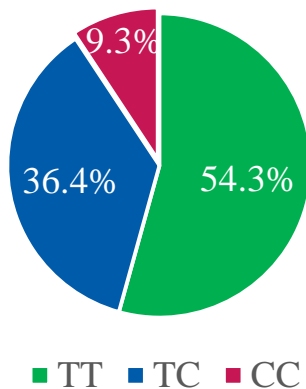
**Table 3.7: Correlations between FENO and level of control**

Characteristics	n	F <sub>E</sub> NO, ppb				
		$\bar{X} \pm SD$	p	$\geq 35$ (n)	$< 35$ (n)	p, OR
Uncontrolled - GINA	20	24.5 $\pm$ 20.6	0.648	4	16	0.383. OR = 1.7. CI 95%: 0.51-5.65
Controlled - GINA	77	26.9 $\pm$ 21.2		23	54	
ACT < 20	17	23.0 $\pm$ 22.6	0.349	3	14	0.309. OR = 2.0. CI 95%: 0.52-7.60
ACT $\geq$ 20	80	27.4 $\pm$ 20.7		24	56	

*Comment:* In patients with F<sub>E</sub>NO  $\geq 35$  ppb, GINA and ACT control were better than those with F<sub>E</sub>NO  $< 35$  ppb (OR = 1.70; CI95%: 0.51-5.65 and OR = 2.0; CI95%: 0.52-7.60 respectively). However, the difference was not statistically significant with  $p > 0.05$ .

### 3.4. Correlations between rs28364072 in FCER2 gene, rs242941 in CRHR1 gene and response to asthma after treatment by ICS

#### 3.4.1. Genotyping rs28364072 of FCER2 gene, rs242941 of CRHR1 gene



**Figure 3.8: Distribution of patient' genotypes for rs28364072 FCER2 gene**  
*Comment:* 107 patients were analyzed FCER2 gene. The rate of homozygous variant CC rs28364072 in FCER2 gene had 10 patients, corresponding to 9.3%.

**Figure 3.8: Distribution of patient' genotypes for rs242941 CRHR1 gene**  
*Comment:* 107 patients were analyzed CRHR1 gene. The rate of homozygous variant TT rs242942 in CRHR1 had one patient, corresponding to 1%.

#### 3.4.2. Phenotype asthma follow of rs28364072 in FCER2 gene

**Table 3.8: Characteristics of gender, allergy status classified by rs28364072 FCER2 gene**

<i>FCER2</i>		TT <i>n</i> = 58	TC <i>n</i> = 39	CC* <i>n</i> = 10	p
Gender	Male (%)	42 (57.5)	24 (32.9)	7 (9.6)	0.520
	Female (%)	16 (47.1)	15 (44.1)	3 (8.8)	
Personal atopic history	Yes (%)	44 (53.6)	29 (35.4)	9 (11.0)	0.568
	No (%)	14 (56.0)	10 (40.0)	1 (4.0)	
Familial atopic history	Yes (%)	34 (47.2)	30 (41.7)	8 (11.1)	0.113
	No (%)	24 (68.6)	9 (25.7)	2 (5.7)	

\* C: minor allele - change alleles; T: major allele - original alleles

*Comment:* There were no gender differences in the three genotypes. Children with allergic and family history of allergic disease tended to have more in the CC genotype, but this difference was not statistically significant with  $p > 0.05$ .

**Table 3.9: Characteristics of laboratory classified by rs28364072 FCER2 gene**

<b>FCER2</b> <b>Characteristics</b>	<b>TT</b>	<b>TC</b>	<b>CC*</b>	<b>p</b>
FEV <sub>1</sub> , % <i>LT</i> $\bar{X} \pm SD$	75.7 ± 20.6 <i>n</i> = 53	87.6 ± 16.1 <i>n</i> = 28	84.2 ± 21.3 <i>n</i> = 9	0.027
FEV <sub>1</sub> /FVC, % $\bar{X} \pm SD$	81.3 ± 9.8 <i>n</i> = 53	84.5 ± 8.2 <i>n</i> = 28	84.8 ± 5.1 <i>n</i> = 9	0.233
F <sub>E</sub> NO, <i>ppb</i> $\bar{X} \pm SD$	27.0 ± 21.0 <i>n</i> = 57	20.7 ± 16.1 <i>n</i> = 34	31.7 ± 25.5 <i>n</i> = 10	0.202
IgE, <i>UI/mL</i> Median (min-max)	732.2 (28.1-9643.0) <i>n</i> = 49	546.6 (14.6-6088.0) <i>n</i> = 34	1366.6 (470.5-2471.0) <i>n</i> = 8	0.063
Blood eosinophils, % $\bar{X} \pm SD$	5.9 ± 5.4 <i>n</i> = 58	6.0 ± 4.7 <i>n</i> = 38	6.4 ± 4.0 <i>n</i> = 10	0.957

*Comment:* IgE levels in the CC genotype were 1366.6 UI/mL higher than those in the TT group of 732.2 UI/mL and TC 546.6 UI/ml. However, the difference was not statistically significant with  $p > 0.05$ .

### 3.4.3. Phenotype asthma classified by rs242941 in CRHR1 gene

**Table 3.10: Characteristics of gender, allergy status follow of rs242941 CRHR1 gene**

<b>CRHR1</b> <b>Characteristics</b>		<b>GG</b> <i>n</i> =86	<b>GT</b> <i>n</i> =20	<b>TT*</b> <i>n</i> =1	<b>p</b>
Gender	Male (%)	57 (78.1)	15 (20.5)	1 (1.4)	0.595
	Female (%)	29 (85.3)	5 (14.7)	0 (0)	
Personal atopic history	Yes (%)	65 (79.3)	16 (19.5)	1 (1.2)	0.785
	No (%)	21 (84.0)	4 (16.0)	0 (0)	
Familial atopic history	Yes (%)	54 (75.0)	17 (23.6)	1(1.4)	0.127
	No (%)	32 (91.4)	3 (8.6)	0 (0)	

\* T: minor allele - change alleles; G: major allele - original alleles

*Comment:* There are no differences in gender, BMI, allergic conditions of the patients, and allergy allergen families in these three genotypes.

**Table 3.11: Characteristics of laboratory classified by rs242941 CRHR1 gene**

<b>CRHR1</b> <b>Characteristics</b>	<b>GG</b>	<b>GT</b>	<b>TT*</b>	<b>p</b>
FEV <sub>1</sub> , %LT $\bar{X} \pm SD$	78.6 ± 20.1 <i>n</i> = 73	87.0 ± 18.4 <i>n</i> = 17	Unmeasurable	0.117
FEV <sub>1</sub> /FVC, % $\bar{X} \pm SD$	81.7 ± 9.4 <i>n</i> = 73	86.3 ± 6.0 <i>n</i> = 17		0.088
F <sub>E</sub> NO, ppb $\bar{X} \pm SD$	25.7 ± 20.4 <i>n</i> = 82	22.9 ± 18.8 <i>n</i> = 18	47 <i>n</i> = 1	0.490
IgE, UI/mL Median (min-max)	724 (14.6-9643.0) <i>n</i> = 73	665.4 (62.7-2726.0) <i>n</i> = 17	885 <i>n</i> = 1	0.951
Blood eosinophils, % $\bar{X} \pm SD$	5.6 ± 4.9 <i>n</i> = 85	7.5 ± 5.3 <i>n</i> = 20	5.7 <i>n</i> = 1	0.302

*Comment:* Respiratory function FEV<sub>1</sub>, FEV<sub>1</sub>/FVC did not differ in GG and GT groups. Patients with TT genotype did not measure initial respiratory function. One patient of TT genotype had high F<sub>E</sub>NO at conclusion: 47 ppb; 885 UI/mL total serum IgE, increased 810 G/L absolute eosinophils in blood.

#### 3.4.4. Correlations between FCER2 genotype to response level

85 patients were analyzed genetic analysis and following to treat with ICS for 3 months:

**Table 3.12: Correlations between polymorphism rs28364072 FCER2 gene and GINA response level**

<b>Results</b> <b>FCER2</b>	<b>Uncontrolled</b>		<b>Controlled</b>		<b>p</b>
	<b>n</b>	<b>%</b>	<b>n</b>	<b>%</b>	
CC* ( <i>n</i> =9)	0	0	9	100.0	0.343
TC ( <i>n</i> =30)	6	20.0	24	80.0	
TT ( <i>n</i> =46)	7	15.2	39	84.8	
Total ( <i>n</i> =85)	13	15.3	72	84.7	

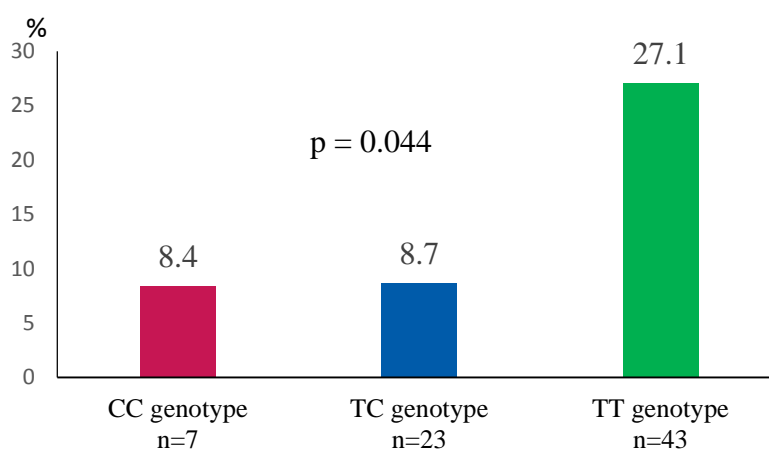
\* C: minor allele - change alleles; T: major allele - original alleles

*Comment:* There were 9 patients with CC genotype controls asthma after 3 months of ICS treatment. Of these 9 patients, 1 had partial control and 6 had complete control. No correlations between CC genotype at rs28364072 of FCER2 gene has been detected with GINA asthma control at  $p > 0.05$ .

**Table 3.13: Correlations between polymorphism rs28364072 FCER2 and ACT response level**

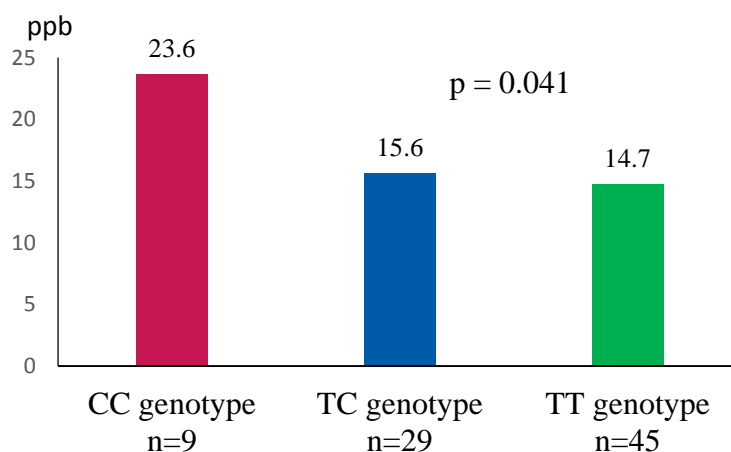
Results <i>FCER2</i>	ACT < 20		ACT ≥ 20		p
	n	%	n	%	
CC* (n=9)	0	0	9	100.0	0.343
TC (n=30)	6	20.0	24	80.0	
TT (n=46)	7	15.2	39	84.8	
Total (n=85)	13	15.3	72	84.7	

*Comment:* 9 patients with CC genotype had ACT ≥ 20 score after 3 months of ICS treatment. Of these 9 patients, 7 had ACT from 21 to 24 and 2 had ACT on 24 (25 and 27). There was no correlations between the CC genotype at rs28364072 of the *FCER2* gene with ACT control levels at  $p > 0.05$ .



**Figure 3.11: Correlations between polymorphism rs28364072 FCER2 and level drug response following FEV<sub>1</sub> change after treatment**

*Comment:* Of the 3 genotypes, patients with CC genotype changes in FEV<sub>1</sub> after 3 months of treatment were the lowest at 8.4% (min-max: -6.5 to 97.5%), genotype TC was 8.7% (min-max: -38.0 to 43.6%) while TT genotype had the largest FEV<sub>1</sub> variation of 27.1% (min-max: -34.7 to 295.0 %) with statistically significant difference  $< 0.05$ .



**Figure 3.12: Correlations between polymorphism rs28364072 FCER2 and drug response following change in FEV<sub>1</sub> after treatment**

*Comment:* F<sub>E</sub>NO levels after 3 months of ICS treatment of the CC genotype were  $23.6 \pm 14.0$  ppb, higher than those in the 2 groups TC was  $15.6 \pm 9.1$  ppb and TT was  $14.7 \pm 8.6$  ppb with statistically significant difference  $p < 0.05$ .

### 3.4.5. Relevance of CRHR1 genotype to response level

**Table 3.14: Relationship between polymorphism rs242941 CRHR1 gene and GINA response level**

Results <i>CRHR1</i>	Uncontrolled		Controlled		p
	n	%	n	%	
GG (n=69)	11	15.9	58	84.1	0.884
GT (n=15)	2	13.3	13	86.7	
TT* (n=1)	0	0	1	100.0	
Total (n=85)	13	14.6	72	85.4	

\* T: minor allele - change alleles; G: major allele - original alleles

*Comment:* One patient had a partial-control TT gene after 3 months of ICS treatment.

The correlations between polymorphism at rs242941 *CRHR1* with the level of asthma control according to GINA has not been detected.

**Table 3.15: Correlations between polymorphisms of rs242941 CRHR1 gene and ACT response level**

Results <i>CRHR1</i>	ACT < 20		ACT ≥ 20		p
	n	%	n	%	
GG (n=69)	10	14.5	59	85.5	0.790
GT (n=15)	3	20.0	12	80.0	
TT* (n=1)	0	0	1	100.0	
Tổng (n=85)	13	17.1	72	82.9	

*Comment:* There was 1 patient with TT genotype, ACT score after 3 months was 8 points, ACT parent score was 13 points, total of ACT children and parent of this patient was 21 points. The correlations between polymorphism at rs242941 *CRHR1* with the degree of asthma control according to ACT has not been detected.

## Chapter 4: DISCUSSION

### 4.1. Asthma phenotype

Since the onset of the concept of immunity, allergic responses are divided into two groups Th1 and Th2, asthma has been mentioned related to the Th2 direction of the expression of allergic mediated type I - hypersensitivity reactions allergic reactions, eosinophilia and corticosteroid response. But studies have shown that most asthma cases are in this way. In children, asthma is Th2 dominant: early onset is the most dominant, from 45 to 88% clinical.

In our study, children with a history of allergy and family history of allergy were 76.3% and 68.8%, respectively. About all signs of allergic inflammation in the study were high: the rate of a positive allergen from skin prick test was 85.8%, the fraction

exhaled nitric oxide (F<sub>E</sub>NO) more than 20 ppb is 45.3%, the blood eosinophil count higher than 400 G/L is 60.4%.

There are various methods of classifying and evaluating the association of allergic indications in asthma, in which fraction exhaled nitric oxide F<sub>E</sub>NO are a bio-maker of airway inflammation. F<sub>E</sub>NO values help diagnose airway inflammation with eosinophilia.

We took the F<sub>E</sub>NO cut-off of 20 ppb as recommended by the American Thoracic Society for low and high F<sub>E</sub>NO levels. In this study, we found no gender difference, body mass index (BMI) between these two groups. Studies have also shown no association between F<sub>E</sub>NO and obesity in asthmatic patients, suggesting that obese children do not increase inflammatory airway reactions.

In our study, children with F<sub>E</sub>NO above 20 ppb were more likely to have positive skin prick test than those with low F<sub>E</sub>NO with  $p < 0.05$ . This result is consistent with Nguyen Thi Dieu Thuy's research: there is a correlation between F<sub>E</sub>NO level and number of positive allergens in the skin prick test. Studies by Duong Quy Sy and colleagues in adults show that patients with acute respiratory allergy have higher F<sub>E</sub>NO level than those without allergies.

Airway inflammation is characteristic of asthma with very diverse inflammatory cells, in which eosinophils are most frequently mentioned. Numerous studies have been published on the relationship between F<sub>E</sub>NO and eosinophilia in airway. The relationship between F<sub>E</sub>NO and eosinophils in blood is also noted. Warke and colleagues pointed out that there was a link between F<sub>E</sub>NO and eosinophil in bronchial alveolar lavage. According to the Strunk' study, there was a correlation between F<sub>E</sub>NO with eosinophilia and total serum IgE. Low F<sub>E</sub>NO is indicative of eosinophilia absence in sputum and this phenotype may be less responsive to corticosteroids.

We found that total serum IgE and blood eosinophils significantly differed between high F<sub>E</sub>NO and low F<sub>E</sub>NO groups. IgE in the high F<sub>E</sub>NO group was 852.0 UI/mL versus the low F<sub>E</sub>NO group at 530.0 UI / mL with  $p < 0.05$  and blood eosinophils in high F<sub>E</sub>NO group at 790 G/L versus 414 G/L at the low F<sub>E</sub>NO group with  $p < 0.0001$ .

Thus, elevated F<sub>E</sub>NO often indirectly reflects eosinophilia, thereby reflecting eosinophilia in the airway: an important phenotype of asthma that needs to be identified for asthma treatment better.

The phenotypic classification is very important clinically, especially with severe asthma to orient and optimize the effect of treatment. The phenotype of asthma in adults is quite diverse, but in children, we find that the majority of asthmatic allergies in Th2 direction and phenotype change over time is a question requiring longitudinal studies than to evaluate.

## **4.2. Correlations between clinical and laboratory characteristics of the patient and drug response**

### ***4.2.1. Progression of asthma control after 3 months with ICS therapy***

In the study, we used a single inhaled corticosteroid (Flixotide) for asthma treatment in patients combined with monitoring of clinical signs and respiratory function to assess drug response. At the beginning of the study, 100% of the patients



were uncontrolled asthma. But the rate of control according to the clinical criteria of GINA increased gradually: after 1 month the rate of well controlled 50.5%, partial controlled 21.6%, and after 3 months reached 53.6% well controlled, 25.8%, only 20.6% uncontrolled.

FEV<sub>1</sub>, FVC increased significantly after 3 months of treatment, although patients started to study in acute asthma or out acute asthma. This is similar to a previous study in 317 adult patients treated with fluticasone for 12 weeks, the FEV<sub>1</sub> improved 16.79%. In the CAMP study (Childhood Asthma Management Program) of 147 asthmatics aged 8.7 on average for 8 weeks, FEV<sub>1</sub> improved respiratory function by 5.2%.

In our study, the fraction exhaled nitric oxide (F<sub>E</sub>NO) decreased from 26.4 ppb to 19.7 ppb after 1 month with  $p < 0.05$  and 17.1 ppb after 3 months of ICS treatment with  $p < 0.001$  reflects the decreased inflammation of the patient's airways. Corticosteroids inhibit the transcription of gene, which encode the induced NOS (iNOS), thus inhibiting the production of NO from inflammatory cells under the effect of cytokines.

In children, previous authors also found that using systemic or inhaled corticosteroids had the effect of reducing F<sub>E</sub>NO concentrations in patients with acute or stable asthma. Sorkness' study reported that fluticasone alone had significantly lower F<sub>E</sub>NO levels than either fluticasone/salmeterol or montelukast after 6 weeks of treatment and a reduction F<sub>E</sub>NO in fluticasone alone was associated with better control of asthma.

As a consequence, along with a gradual increase in asthma control rates, improvements in lung function, a gradual reduction in fraction exhaled nitric oxide have shown that the child responds well to corticosteroid therapy alone in the prevention of asthma. However, some children still did not achieve the desired asthma control despite good adherence.

#### ***4.2.2. Evaluation of factors related to response to ICS treatment***

##### ***4.2.2.1. Age and gender***

The prevalence of asthma in boys is higher than that of girls in asthma, but the response to medications, especially corticosteroids, in treatment of asthma does not differ significantly between men and women as well as differences in ages. We found that, regarding to GINA or ACT control, there was no difference between the gender and age of patients in the uncontrolled and controlled group.

Our study was consistent with the study of 114 Thailand children, whose mean age was 12.1, assessed GINA asthma control. The authors also found no difference between the gender and age of the patient. In the TREXA (Treatment of Children with Mild Persistent Asthma) study, the author noted that males may be more likely to benefit than females when using inhaled corticosteroids with a median day controlled in year is 45 (CI95%: 23-68;  $p < 0.01$ ). Most studies found no difference in gender and age when using corticosteroid therapy for asthma, some studies have found that males may be more responsive. Probably due to differences in airway morphology or hormonal changes at different stages of the sexes with respiratory function, different effects on the effect of inhaled corticosteroids.

##### ***4.2.2.2. Body mass index BMI***

The body mass index was not related to the ICS response to GINA or ACT in our study.

Our study was similar to Nualanong in Thailand asthmatic children. There was no difference in BMI between controlled group and uncontrolled group follow of GINA with  $p = 0.393$ . Stanley Szeffler's study of ICS for 8 weeks in mild asthmatic children did not show a BMI difference between controlled and uncontrolled asthma with  $p = 0.434$ .

However, most studies show a link between obesity and asthma control status. A meta-analysis of Sutherland from 10 studies in 1265 asthmatic patients found that in over weigh and obese patients with a worse response status as represented by  $FEV_1$  change,  $FEV_1/FVC$  is less and the quality of life is lower than for other asthma patients. Sasaki's research on 3066 Japanese asthmatics, asthma uncontrolled obesity in children with OR 1.44 (CI95%: 1.05-1.99). Obesity and asthma controlled are closely related and obesity is a recognized marker associated with severe and difficult to treat asthma and inadequate response to controlled medications.

Although the prevalence of overweight was reported to increase rapidly in Vietnamese children, especially in large cities such as Hanoi and Ho Chi Minh City, in our study, the BMI of patients quite low. Of the 186 patients studied, only 3 patients were overweight, no obese patients. In 97 patients who were followed for 3 months, only one patient was overweight with a BMI of 28.5, so there was no difference in response between the two groups.

#### 4.2.2.3. *Exposure to tobacco smoke*

In this study, we did not find a difference between the GINA and ACT control group in patients exposed to tobacco smoke. But if the  $FEV_1$  change in response to  $FEV_1 < 7,5\%$  - unresponsive,  $FEV_1 \geq 7.5\%$  - response to ICS, then asthmatics children, who were exposed in tobacco non - respond more than 50% vs 27.7% with OR = 2.61, CI95%: 1.12-6.09;  $p = 0.024$  (data not shown in the result).

In our study, the number of children exposed to cigarette smoke was quite high, and we noted that in many cases both parents and grandparents in the family smoke from 1-2 cigarettes per day to 60 cigarettes per day. It revealed that smokers rarely take the initiative to avoid other places that often smoke in the house, near the children living and studying, making children exposed directly to the smoke. Exposure to cigarette smoke can severe asthma symptoms, decrease respiratory function over time, and increase mortality from acute hospitalizations. In addition, smoking or exposure to cigarette smoke reduces the response to inhaled or oral corticosteroid treatment for asthma.

#### 4.2.2.4. *Lung function*

We also found a positive correlation between the level of bronchodilator reversibility with changes in  $FEV_1$  after 12 weeks of ICS treatment with  $r = 0.319$  and  $p = 0.003$ . In accordance with Gould's study: high bronchodilator reversibility good ICS response with 1% increase in bronchial recovery test, change in  $FEV_1$  after treatment was 0.48%.

Thus, with the results of our study, it was found that ICS treatment should be used in patients with high bronchodilator reversibility patient, who may have better control despite no clear ICS reduction in the this group.

#### 4.2.2.5. *IgE and eosinophils in blood, F<sub>E</sub>NO*

Indications of inflammation are used to predict ICS responses such as eosinophils in blood, sputum, total IgE, exhaled nitric oxide levels, serum cationic proteins.

Some studies related blood eosinophils or IgE with ICS response: Angela Rogers found that elevated IgE levels were associated with more severe asthma attacks when using ICS therapy for 4.3 years, meaning is less responsive to ICS. Szeffler and colleagues found that patients with IgE levels > 200 UI/mL and blood eosinophils > 350G /L responded better to ICS than those assessed with a change in FEV<sub>1</sub>. Joe Gerald found that with IgE levels  $\geq$  350 UI/mL and with acute asthma in 11 months under beclomethasone therapy with HR 0.16 (CI95%: 0.03-0.92 p <0.05 ), but this same study found that when the number of days of asthma control was the standard for assessing corticosteroid response, the authors found IgE  $\geq$  350 UI / mL with better control.

In our finding of a single association, IgE levels were inversely associated with ACT scores after 3 months of treatment  $r = -0.225$ ;  $p = 0.039$  and blood eosinophil were inversely related to the level of control via FEV<sub>1</sub> change  $r = -0.301$ ;  $p = 0.003$ .

The results of total serum IgE levels and blood eosinophils related to corticosteroid response inconsistencies in the same study or in different studies are probably due to differences in the index for assessing corticosteroid response and also the sensitivity, specificity of this test is not high.

Unlike total serum IgE, blood eosinophils, F<sub>E</sub>NO indications have more consistent conclusions in earlier studies and in our study. Higher initial F<sub>E</sub>NO levels were observed in the GINA and ACT response groups. In addition, at a cut-off of 35 ppb as recommended by the American Thoracic Society for corticosteroid response, we found that the F<sub>E</sub>NO group  $\geq$  35 ppb was better controlled under GINA (OR = 1.70 CI95%: 0.51-5.65 and) and ACT (OR = 2.0, CI95%: 0.52-7.60).

Determining the type of asthma prior to treatment is a strategic requirement for the treatment of asthma in individuals, it is important to identify airway inflammation that can respond well to corticosteroid therapy. Most studies have shown that in asthmatic patients with elevated F<sub>E</sub>NO levels respond to corticosteroids. However, the exact value of F<sub>E</sub>NO predicts the likelihood of corticosteroid inhalation response in children is still unclear.

### 4.3. Correlations between polymorphism gene and drug response

#### 4.3.1. *Asthma phenotype follow by polymorphism in FCER2 and CRHR1 gene*

As mentioned, the classification of asthma into phenotypes is very important in accessing and treating, but up to now, with the advancement of molecular biology, the authors also refer to the subgroups. The asthma is determined by the mechanism of molecular pathology endothelial function (endotype). In particular, immune markers, asthma genes, and genes involved in drug response are increasingly being considered.

In the study, 107 patients with *FCER2* gene sequencing, rs28364072 was analyzed homozygous wild type TT were 54.3%, heterozygous TC 36.4% and homozygous variant CC were 10 patients accounting for 9.3%.

We found that there was no difference between male and female genotypes. The percentage of allergic patient observed in the highest TT group was 53.6%. However, when analyzing carefully, we found that the number of patients with allergic and non-allergic patients was 44/14, 29/10, TT, TC, CC, respectively and 9/1 is the highest CC genotype. In 10 patients with CC genotype, up to 9 patients had a history of allergy. Similarly for the rate of children with a family history of allergies and children without a family history of allergy, the CC, TC and TT genotypes were 8/2, 30/9, 34/24; Group CC the highest rate. Is there a link between childhood allergy and polymorphism homozygous variant CC rs28364072 in the *FCER2* gene?

The indicator such as fraction exhaled nitric oxide levels  $F_{ENO}$  in the CC group was 31.7 ppb compared with 20.7 ppb in TC and 27.0 ppb in TT, blood eosinophils in the CC genotype higher than the other groups. Total serum IgE levels in the CC genotype were 1366.6 UI/mL compared with 546.6 UI/mL in the TC and 732.2 UI / mL in the CC group, CC is higher in the TC and TT groups, suitable to clinical of CC patients are more susceptible to allergies. In addition, if we compared the total serum IgE level of the minor allele CC genotype to 1366.6 UI / mL (min-max: 470.5-2471.0) and the IgE level of the major allele with genotype TC and TT was 664.1 UI / mL (min-max: 14.6-9643.0). This difference was statistically significant with  $p = 0.022$  (not reported in the results). The level of serum IgE in the CC group in our study was higher suitable to research of the Tantisira' study. Studies in children using budesonide treatment showed higher levels of IgE in White children with polymorphism T2206C correlation with severe acute asthma with OR = 1.85 (95% CI: 1.04-3.26;  $p = 0.006$ ). Increases in total serum IgE levels have been reported in studies that have been linked to an increase in asthma attacks, number of emergency visits or hospitalizations due to asthma in children.

In 107 patients analyzed for *CRHR1*, rs242941 polymorphism, homozygous wild type GG and heterozygous GT accounted for 80.3% and 18.7%, respectively. Only one patient had a homozygous variant TT. TT genotype was male, 6 years old, skinny with BMI of 14.3, occasional urticaria with unknown cause, eosinophilia 810 G/L, total serum IgE 885 UI/mL,  $F_{ENO}$  was 47 ppb, patients were measured respiratory function but not acceptable and repeatable. We did not distinguish the clinical and laboratory indices in the genotypes at rs242941 on the *CRHR1* gene.

#### **4.3.2. Correlations between polymorphisms of rs242941 in *CRHR1* gene and drug response**

*CRHR1* encodes for G-protein receptor agonist associated with neuropeptides, *CRHR1* is involved in the production of endogenous corticosteroids and can therefore be expected to affect exogenous corticosteroids.

In two clinical trials in both adults and children using inhaled corticosteroids for 6 to 8 weeks, the greatest  $FEV_1$  improvement was observed in the TT genotype of rs242941. The  $FEV_1$  variation in the TT genotype was  $13.28 \pm 3.11\%$  versus the GG

group of  $5.49 \pm 1.40\%$  in the Adult Study, in the CAMP study with FEV<sub>1</sub> variation of 17,  $80 \pm 6.77\%$  in the TT genotype compared to  $7.57 \pm 1.5\%$  in the GG genotype.

However, there are a number of studies that have shown the controversial results: Mougey et al in 2013 with the study of 65 White asthma patient (LOCCS study) found a change in FEV<sub>1</sub> after 16 weeks of ICS treatment in minor alleles of rs242941 lower than that of the major allele. Roger and colleagues also found that rs242941, the TT genotype of *CRHR1*, was associated with poorly improved lung function (OR = 1.9) and was not associated with acute asthma attacks (OR = 0, 95) when monitoring for 4 years. In another study that following long-term ICS responses for 20 years, Dijkstra found no association between *CRHR1* polymorphism at rs242941, rs242939, rs1876828 with improved respiratory function in asthmatic patients.

The difference between these results may be due to different criteria for evaluating FEV<sub>1</sub> changes or study time is different. Probably corticosteroid is associated with a better change in short-term respiratory function in the minor TT genotype than in the intermediate and long-term studies.

In our study, only one patient with TT genotype at rs242941 in *CRHR1* gene, rare allele frequency was 10.3%, frequency of TT genotype was 1%. This patient was in control after a 3-month treatment period and had an ACT score of 21, patient was not measured respiratory function. Given the small sample size, we did not find a correlation between *CRHR1* polymorphism and GINA response, ACT or FEV<sub>1</sub> change. Hoping for a longer study time with larger sample sizes, we will evaluate the association of *CRHR1* polymorphism with an accurate level of corticosteroid response.

#### **4.3.3. Correlations between polymorphism *FCER2* rs28364072 and drug response**

*FCER2* encoding for CD23 is a low affinity IgE receptor, whereas corticosteroids reduce the expression of *FCER2* and decrease CD23 production. *FCER2* gene rs28364072 (T2206C) is associated with elevated total serum IgE levels, severe asthma attacks in children despite treatment with ICS.

In 2009, Rogers and Tantisira published on 17 polymorphisms in *FCER2* gene in 311 children in CAMP studies that were associated with decreased respiratory function and increase acute asthma in White patients. CC genotype of rs28364072 (T2206C), there was a risk of impaired FEV<sub>1</sub> pulmonary function in corticosteroid therapy in children with  $p = 0.03$  and an increase in asthma symptoms of 1.9 times with  $p < 0.05$  with children have major alleles.

In two cohort studies of PACMAN (n = 336) and BREATH (n = 939) in asthma children in Netherland in 2001, Koster and colleagues found that rs28364072 correlation with hospitalizations (OR: 1.9, 95% CI: 1.08-3.40) in concordance with the meta-analysis previously published comprehensive association analysis between rs28364072 and acute asthma (OR: 2.58, 95%, 95% CI : 1.47 - 3.85,  $p = 0.0004$ ). rs28364072 *FCER2* gene was also associated with an increased risk of asthma control based on ACQ asthma control (Questionnaire) with OR: 2.64 (95% CI: 1.00 - 6.98) and involve increasing the dose of ICS with OR: 2.46 (95% CI: 1.38 - 4.39).

Tantisira' study demonstrated that nucleotide T changes to C at rs28364072 located near exon 9 and may thus interfere with expression of *FCER2* by altering the

linkage and will be associated with altered gene expression in the lymphocyte. Gene expression in homozygotes of CC is significantly lower than that of other genotypes.

Studies on rs28364072 *FCER2* gene were not much but the results were quite consistent. Allele homologous CC at rs28364072 was associated with increased serum IgE levels both before and after corticosteroid treatment, increased number of asthma attacks, increased number of admission, increased incidence of asthma control on the questionnaire, increased ICS dose and poorly improved lung function.

In our study, there were 10 patients with CC genotype at rs28364027 in *FCER2* gene, the frequency of minor alleles was 27.6%, and the frequency of homozygous variant CC was 9.3%. Among 85 patients analyzed for gene and evaluated for response to ICS for 3 months, 9 patients had homozygous variant CC. In patients with this genotype, there were 3 patients in one control and 6 patients in well controlled, with no patients uncontrolled. Therefore, we have not found a correlation between the CC genotype at rs28364072 in the *FCER2* gene with the level of asthma control follow by GINA. When evaluating asthma control status follow by ACT, the results were similar: 9 CC genotypes were controlled with ACT  $\geq$  20 after 3 months of ICS treatment.

However, the very important finding that we found when analyzing the correlation between the homozygous variant CC at rs28364072 in *FCER2* gene with inhaled corticosteroid response was the change in FEV<sub>1</sub> after 3 months of treatment. Patients with CC genotype changes in FEV<sub>1</sub> after 3 months of treatment were the lowest at 8.4%, while the TT group had the largest change in FEV<sub>1</sub> at 27.1%, the difference was significant with  $p = 0.044$ . In addition, F<sub>E</sub>NO levels after 3 months of ICS treatment of the CC genotype were 23.6 ppb, higher than those of the 15.6 ppb TC and 14.7 ppb TT groups respectively with  $p = 0.041$ .

A assessment of GINA and ACT response are subjective, the lower FEV<sub>1</sub> change as well as the higher F<sub>E</sub>NO level after ICS treatment in the minor alleles group were objective to be indicative of not much reduce inflammation of the homozygous variant CC and with less improved respiratory function than other groups treated with ICS.

Our findings are consistent with previous studies worked on the rs28364072 *FCER2* gene: higher levels of total serum IgE, less improved FEV<sub>1</sub> in the homozygous variant CC.

So far, the pharmacological gene in the clinical practice of asthma is limited because there are not many alternatives suitable for patients who do not respond to standard treatment. Early detection of patients not responding to ICS can reduce asthma mortality by actively initiating drug replacement therapy. However, for individuals not responding to ICS, substitution therapy with leukotriene inhibitors, combination with LABA or increased ICS dose is the best alternative? What are the genetic polymorphisms associated with non-response to drugs that will help in the selection and development of new drugs in the future?

The rs28364072 in *FCER2* gene predicts that patients are more likely to respond to IgE-mediated treatments. Recently, anti-IgE therapy (Omalizumab) has been approved as a new anti-inflammatory therapy strategy in asthma. Treatment

with omalizumab has been shown to improve the outcome of asthma in both children and adults with severe asthma.

The IgE receptors play an important role in regulating IgE response in asthma. Increased IgE levels are associated with severe asthma. IgE-resistant therapy leads to the incorporation of IgE-free with drugs into IgG-IgE complexes that cannot bind to IgE receptors. Thus reducing the level of IgE leads to asthma-related symptoms. However, this treatment is expensive and difficult-to-manage (need regular injections), and IgE therapy may be associated with late anaphylaxis. Recent studies have shown that the effectiveness of anti-IgE therapy is variable, although this therapy improves control of asthma and quality of life. The results of this study, together with the above studies, may be hypothesized that anti-IgE therapy is more effective in patients with polymorphism rs28364072 in *FCER2*. However, to demonstrate this effect, the hypothesis should be analyzed on large randomized controlled trials and to test the efficacy and safety of omalizumab. If such analyzes were performed and found to support the hypothesis, there would be a need to undertake studies to find out whether IgE resistance could be personalized with patients with genotype change.

In addition, new therapy such as Lumiliximad is the CD23 monoclonal antibody that effects the cyclic reduction of IgE studied in patients with asthma or peptide-based IgE antibody-associated antibody production. The specific IgE may be useful in asthma patients with the CC genotype at rs28364072 in *FCER2* gene.

The limitation of the thesis is the study worked on a small sample size (not enough to find the relevance of the *CRHR1* mutation to the drug), short follow-up time (3 months) that was not enough to assess acute asthma attacks or the number of times hospitalization (need many years), the patient's laboratory has not been fully (respiratory function,  $F_{E}NO$ , ...). We have tried to use only one corticosteroid in the course of treatment to avoid the quality of the drug, excipient, dosage form ... or exclude patients who do not well adhere to treatment, drug is not enough dosage to find out what factors relate to the patient's medication response. It is the first study of the genes involved in corticosteroid response in asthma conducted in Vietnam, in addition to some clinical features, we found that genetic factors were associated with drug response.

## CONCLUSION

The study of 186 patients with asthma over 5 years of age, we have following conclusions:

### 1. Asthma phenotype

- Asthma phenotype in children is mainly in the direction of Th2: children with a history of allergy, allergic indications such as positive skin prick test, hypereosinophils in blood, increased total serum IgE and elevated fraction exhaled nitric oxide.

## **2. The correlations between clinical, laboratory features and inhaled corticosteroid responsiveness**

- After 3 months of treatment with inhaled corticosteroid, the patient showed a good response to treatment confirming by increased ACT score, improved lung function, and decreased inflammation biomarker F<sub>E</sub>NO.
- There is no correlations between age, gender, body mass index, allergic status, cigarette smoke exposure, FEV<sub>1</sub>, IgE, blood eosinophils, and inhaled corticosteroid response of the patient.
- Children with higher degree of baseline bronchodilator reversibility demonstrated a better improve of FEV<sub>1</sub> with ICS treatment. Children with higher blood eosinophils and total serum IgE levels are less likely to improve FEV<sub>1</sub> and ACT scores with ICS treatment.
- Patients with F<sub>E</sub>NO higher than 35 ppb respond better to ICS.

## **3. Study the correlations between *FCER2* gene, *CRHR1* gene and level of corticosteroid response**

- Among 107 patients analyzed for *FCER2* and *CRHR1* gene, there are 9.3% of patients had the homozygous variant CC at rs28364072 in *FCER2* gene and 1% on the homozygous variant TT genotype at rs242941 in *CRHR1* gene.
- Children with homozygous variant CC rs28364072 in *FCER2* gene has tendency more allergic symptoms. Interestingly, total serum IgE levels of studied group with homozygous variant CC are higher than one with heterozygous TC and homozygous wild type TT ( $p = 0,022$ ).
- The correlation between rs28364072 homozygous minor CC in *FCER2* gene and rs242941 homozygous minor TT in *CRHR1* gene with asthma control level according to GINA and ACT is not established.
- Children with homozygous variant CC rs28364072 in *FCER2* gene is poor ICS responsiveness compare to homozygous wild type TT and heterozygous TC defined by the change in FEV<sub>1</sub> ( $p = 0,044$ ) and fraction exhaled nitric oxide F<sub>E</sub>NO ( $p = 0,041$ ).

## **RECOMMENDATION**

Inhaled corticosteroid therapy should be selected for asthma prevention in children with asthma who are allergic response with Th2.

For resistant asthmatic patients, consider to analysis the rs28364072 in *FCER2* for selecting the appropriate treatment.

It is important to develop the research on genetic factors in children with asthma to personalize the target treatment strategy.