

TẦN SUẤT BIẾN THỂ INSERTION/DELETION CỦA GEN ANGIOTENSIN - CONVERTING ENZYME Ở BỆNH NHÂN VIÊM THẬN LUPUS KHÔNG SUY THẬN VÀ SUY THẬN NẶNG CẦN CHẠY THẬN NHÂN TẠO

Nguyễn Ngọc Lan Anh¹, Trần Thị Bích Hương^{1,2}

¹Bộ môn Nội, Đại Học Y Dược, Tp Hồ Chí Minh

²Khoa Thận, Bệnh Viện Chợ Rẫy

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Gen Angiotensin - converting enzyme (ACE) có vai trò quan trọng trong bệnh học của viêm thận lupus có suy thận. Nghiên cứu nhằm mục tiêu khảo sát (1) Tần suất kiểu gen, allele của biến thể I/D; (2) Mối liên quan giữa kiểu gen và đặc điểm lâm sàng ở bệnh nhân (bn) viêm thận lupus không suy thận và suy thận nặng cần chạy thận nhân tạo (CTNT).

Đối tượng, phương pháp: Nghiên cứu cắt ngang mô tả.

Kết quả: Từ 12/2021 đến 10/2022, có 53 (52,5%) bn suy thận nặng cần CTNT (nhóm 1) và 48 (47,5%) bn không suy thận với eGFR > 60ml/ph/1,73m² (nhóm 2). Tần suất kiểu gen II, ID, DD lần lượt là 0,396; 0,472; 0,132 (nhóm 1); 0,646; 0,313; 0,042 (nhóm 2). Tần suất allele I, D lần lượt là 0,632; 0,368 (nhóm 1); 0,802; 0,198 (nhóm 2). Nguy cơ suy thận nặng cần CTNT tăng ở bn có allele D (OR = 2,359; p = 0,008), DD (OR = 3,5; p = 0,111); ID + DD (OR = 2,779; p = 0,012). Bn có kiểu gen DD cần CTNT cao hơn so với II và DD (p < 0,05).

Kết luận: Allele D và kiểu gen ID ưu thế ở bn viêm thận lupus nặng cần CTNT. Kết quả của tính đa hình biến thể I/D của gen ACE giúp bổ sung dữ liệu tiên lượng cho bn viêm thận lupus.

Từ khóa: Gen Angiotensin - converting enzyme, biến thể I/D (insertion/deletion), tính đa hình, viêm thận lupus, chạy thận nhân tạo.

ABSTRACT

INSERTION/DELETION POLYMORPHISM OF THE ANGIOTENSIN - CONVERTING ENZYME GENE IN LUPUS NEPHRITIS WITH AND WITHOUT RENAL FAILURE

Nguyen Ngoc Lan Anh¹, Tran Thi Bich Huong^{1,2}

Ngày nhận bài:

05/3/2023

Ngày chỉnh sửa:

12/5/2023

Chấp thuận đăng:

19/5/2023

Tác giả liên hệ:

Nguyễn Ngọc Lan Anh

Email: nguyennngoclananhdr

1984@ump.edu.vn

SĐT: 0915513178

Background: Angiotensin - converting enzyme (ACE) gene plays an important role in pathology of lupus nephritis (LN) with renal failure. Our study aims to describe (1) Frequency of genotypes and allele I/D; (2) Correlation between I/D genotypes and clinical features of LN patients without renal failure and with dialysis - requiring renal failure.

Methods: A descriptive cross - sectional study.

Results: From 12/2021 to 10/2022, there were 53 (52.5%) LN patients with dialysis - requiring renal failure (group 1) and 48 (47.5%) without renal failure with eGFR > 60ml/ph/1.73 m² (group 2). The frequencies of II, ID, DD genotype were 0.396; 0.472; 0.132 (group 1); 0.646, 0.313, 0.042 (group 2), respectively. The frequencies of allele I, D were 0.632; 0.368 (group 1); 0.802, 0.198 (group 2), respectively. The risk of dialysis

was increased in those with allele D (OR = 2.359; p = 0.008), DD (OR = 3.5; p = 0.111), ID + DD (OR = 2.779; p = 0.012). The dialysis rate was higher in DD as compared to II or ID (p < 0.05).

Conclusion: Allele D and genotype ID were predominant in LN patients with dialysis - requiring renal failure. Data of I/D polymorphism may contribute to the prognosis of such patients.

Keywords: Angiotensin - converting enzyme gene, insertion/deletion, polymorphism, lupus nephritis, hemodialysis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm thận lupus là kết quả của sự tương tác đa yếu tố như môi trường, nội tiết tố, nhiễm trùng, di truyền, trong đó có gen Angiotensin - converting enzyme (gen ACE). Hiện nay, biến thể I/D (insertion/deletion) (rs1799752) của gen ACE là biến thể được nghiên cứu nhiều nhất. Kết quả khảo sát về tương quan giữa biến thể I/D và viêm thận lupus vẫn chưa được đồng thuận do khác biệt cỡ mẫu và đặc điểm của dân số nghiên cứu. Tại Trung Quốc, giữa 2 allele I và D của gene ACE, nghiên cứu ghi nhận allele D chiếm ưu thế ở bệnh nhân (bn) viêm thận lupus có suy thận tiến triển so với bn có chức năng thận ổn định [1]. Ngoài ra, sự hiện diện của allele D làm tăng nguy cơ suy thận gấp 6 lần ở bn viêm thận lupus người châu Á [2]. Một số nghiên cứu khác không tìm thấy khác biệt về phân bố của biến thể I/D giữa viêm thận lupus có và không suy thận [3, 4]. Tại Việt Nam, nghiên cứu về biến thể I/D đã thực hiện ở bn tăng huyết áp nguyên phát [5], nhồi máu cơ tim cấp [6], nhưng chưa thực hiện ở bn viêm thận lupus không suy thận và suy thận nặng cần chạy thận nhân tạo (CTNT). Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu khảo sát: (1) Tần suất kiểu gen và allele của biến thể I/D; (2) Tương quan giữa kiểu gen của biến thể I/D với đặc điểm lâm sàng ở bn viêm thận lupus không suy thận và suy thận nặng cần CTNT.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng

Bệnh nhân viêm thận lupus ≥ 18 tuổi nhập khoa Thận, bệnh viện Chợ Rẫy từ tháng 12/2021 đến tháng 10/2022, đồng ý tham gia nghiên cứu. Tiêu chí loại trừ: suy thận mạn giai đoạn cuối CTNT định kỳ, thai kỳ, hồ sơ không đủ số liệu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu cắt ngang mô tả.

Quy trình nghiên cứu và thu thập số liệu: Số liệu được thu thập theo bệnh án mẫu. Xét nghiệm về sinh hóa, huyết học thực hiện tại khoa Sinh hóa, khoa Huyết học, xét nghiệm gen được thực hiện bởi cử nhân Lê Tú Anh, Đơn vị Sinh học phân tử, Bệnh Viện Chợ Rẫy.

Quy trình lấy máu định danh biến thể insertion/deletion của gen ACE: Lấy 2ml máu bn đựng trong ống EDTA (Becton Dickson, NJ, USA) để tách chiết DNA bằng Qiamp DSP DNA blood mini Kit (Qiagen, Đức), sau đó lưu trữ DNA ở -20°C . Quá trình định danh biến thể I/D của gen ACE gồm 2 giai đoạn. Phản ứng PCR lần 1 được thực hiện trên tất cả bn nghiên cứu nhằm xác định kiểu gene II, ID, DD. Phản ứng PCR lần 2 chỉ thực hiện ở bn có kiểu gene DD với phản ứng PCR lần 1 nhằm khẳng định kiểu gen thực sự là DD hay ID [7]. Phản ứng PCR được thực hiện bằng máy SimpliAmp™ Thermal Cycler.

Phản ứng PCR lần 1: Thành phần phản ứng gồm 5X MyTaq Buffer 10 μL , MyTaq HS Polymerase 1 μL , ACE-F primer 1 μL , ACE-R primer 1 μL , H₂O 32 μL , DNA sample 5 μL . Nồng độ primer pha loãng 20 pg/ μL , nồng độ DNA trong mỗi phản ứng 50 - 100 ng. Chứng âm là mẫu nước free - nuclease hay NTC (No Template Control), chứng dương là sản phẩm được khẳng định bằng kỹ thuật CVD Stripassay A (ViennaLab, Austria). Cặp mồi được sử dụng có thể phát hiện được cả 2 allele nhờ điện di trên gel agarose 1,5%. Cặp mồi được thiết kế đặc hiệu với gen ACE và không thể khuếch đại được pseudogen của ACE (ACE3P) bằng phần mềm CLC Main Workbench 5.5.

Mồi xuôi (ACE - F): 5' - CTCCCATCCTTTCT CCCATT - 3'; mồi ngược (ACE - R): 5' - CATG CCCATAACAGGTCTTC - 3'. Chu trình nhiệt sau khi tối ưu phản ứng: 94 $^{\circ}\text{C}$ (1 phút); 94 $^{\circ}\text{C}$ (30 giây), 58 $^{\circ}\text{C}$ (15 giây), 72 $^{\circ}\text{C}$ (10 giây) và thực hiện 25 chu kỳ; 72 $^{\circ}\text{C}$ (1 phút). Điện di sản phẩm PCR lần 1

và ladder với Gelred 0.5X và quan sát bằng máy chụp gel UV. Kiểu gen được xác định là II (1 band 500bp), ID (1 band 500bp và 1 band 210bp), DD (1 band 210bp) (**Hình 1**).

Phản ứng PCR lần 2: Thành phần phản ứng gồm 5X MyTaq Buffer 10 μ L, MyTaq HS Polymerase 1 μ L, HACE-F primer 1 μ L, HACE-R primer 1 μ L, H₂O 32 μ L, DNA sample 5 μ L. Nồng độ primer pha loãng 20 pg/ μ L, nồng độ DNA trong mỗi phản ứng 50 - 100 ng. Chứng âm là mẫu nước free - nuclease hay NTC, chứng dương là sản phẩm được khẳng định bằng kỹ thuật CVD Stripassay A (ViennaLab, Austria). Cặp mồi được tham khảo từ tác giả Klaus Lindpaintner [8].

Mồi xuôi (HACE - F primer): 5' - TGGG ACCACAGCGCCCGCCACTAC - 3'; mồi ngược (HACE - R primer): 5' - TCGCCAGCCCTCC CATGCCATAA - 3'. Chu trình nhiệt sau khi tối ưu phản ứng: 94°C (1 phút); 94°C (30 giây), 58°C (15 giây), 72°C (10 giây) và thực hiện 25 chu kỳ; 72°C (1 phút). Điện di sản phẩm PCR lần 2 và ladder với Gelred 0.5X và quan sát bằng máy chụp gel UV. Kiểu gen được xác định là ID (1 band 335bp), DD (không có band) (**Hình 2**).

Các định nghĩa:

Chức năng thận được đánh giá dựa vào creatinine huyết thanh (CreHT) và độ lọc cầu thận ước đoán (estimated glomerular filtration rate, eGFR) theo công thức CKD-EPI (Chronic kidney disease-Epidemiology Collaboratory) [9]. $eGFR = 142 \times \min(Scr/\kappa, 1)^\alpha \times \max(Scr/\kappa, 1) - 1,200 \times 0,9938^{tuổi} \times 1,012$ [nếu là nữ]; Scr là CreHT (mg/dL), $\kappa = 0,7$ (nữ) hoặc 0,9 (nam), $\alpha = -0,241$ (nữ) hoặc -0,302 (nam), $\min(Scr/\kappa, 1)$ là giá trị thấp nhất Scr/ κ và 1, $\max(Scr/\kappa, 1)$ là giá trị cao nhất Scr/ κ và 1. Không suy thận: $eGFR > 60$ ml/ph/1,73m² da lúc nhập viện (NV), trong đó, eGFR dựa vào CreHT thấp nhất trong 3 ngày đầu NV và không diễn tiến đến CTNT trong thời gian nằm viện. Suy thận: $eGFR \leq 60$ ml/phút/1,73m² da. Những bn nặng được CTNT cấp cứu dựa theo đồng thuận ADQI (Acute Dialysis Quality Initiative) năm 2017 khi bn đe dọa tử vong và không đáp ứng điều trị nội khoa. Các chỉ định bao gồm (1) hội chứng ure huyết cao, (2) quá tải thể tích tuần hoàn, (3) toan chuyển hóa, (4) rối loạn điện giải; hoặc khi nhu cầu chuyển hóa và cân bằng dịch vượt quá khả năng

thải của thận [10]. Lupus đỏ hệ thống và viêm thận lupus: theo tiêu chuẩn của Hội Thấp Học Hoa Kỳ 1997 (American College of Rheumatology, ACR) [11] hoặc Các Khoa Lâm Sàng Hợp Tác Quốc Tế về Lupus 2012 (Systemic Lupus International Collaborating Clinics, SLICC) [12]. Hoạt tính bệnh lupus (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index - 2K, SLEIDAI - 2K) được đánh giá lúc NV hoặc trong 30 ngày trước NV [13]. Điểm của mỗi chỉ số từ 1 đến 8, tổng điểm tối đa 105 và xếp loại không hoạt tính (0 điểm), hoạt tính nhẹ (1 - 5 điểm), hoạt tính trung bình (6 - 10 điểm), hoạt tính cao (11 - 19 điểm), hoạt tính rất cao (≥ 20 điểm) [13]. Tăng huyết áp: huyết áp $\geq 140/90$ mmHg hoặc bn đang dùng thuốc hạ áp [14]. Thiếu niệu: lượng nước tiểu ≤ 400 ml/24 giờ. Tuổi bệnh của lupus tính từ lúc chẩn đoán lupus đỏ đến lúc NV, tuổi bệnh của viêm thận lupus tính từ lúc chẩn đoán viêm thận lupus đến lúc NV, antidsDNA được thực hiện bằng kỹ thuật ELISA (bình thường 0,5 - 10UI/mL), bổ thể C3, C4 được thực hiện bằng kỹ thuật miễn dịch độ đục (bình thường: C3 70 - 150 mg/dL, C4 10 - 30 mg/dL).

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý với phần mềm SPSS 24.0. Phép kiểm Mann Whitney dùng để so sánh 2 biến liên tục không phân phối chuẩn, phép kiểm χ^2 dùng để so sánh 2 biến phân tầng. So sánh tần suất kiểu gen và allele bằng phép kiểm χ^2 và kiểm định Fisher. Chỉ số nguy cơ (odd ratio, OR) và khoảng tin cậy 95% (KTC 95%) được tính với $p < 0,05$ có ý nghĩa thống kê.

2.4. Vấn đề đạo đức

Nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh (Quyết định 014/HĐĐĐ-ĐHYD ngày 19/11/2021).

III. KẾT QUẢ

Từ tháng 12/2021 đến tháng 10/2022, chúng tôi có 121 bn viêm thận lupus thỏa tiêu chuẩn chọn bệnh, trong đó 53 bn suy thận nặng cần CTNT, 20 bn suy thận không chỉ định CTNT và 48 bn không suy thận. Do số lượng bn suy thận không CTNT không đủ để phân tích nên chúng tôi chọn so sánh 2 nhóm suy thận nặng cần CTNT (nhóm 1, 53 bn) và không suy thận (nhóm 2, 48 bn) trong bài báo này. Nữ chiếm ưu thế (93 bn, 92,1%), tuổi từ 16 đến 65 (trung vị 27). Các biến số liên tục đều không phân

Tần suất biến thể Insertion/Deletion của Gen Angiotensin...

phối chuẩn qua kiểm định Kolmogorov-Smirnow, nên được trình bày dạng trung vị và tứ phân vị.

3.1. Đặc điểm chung của dân số nghiên cứu

Nhóm 1 có huyết áp cao hơn, thể tích nước tiểu 24 giờ ít hơn và protein niệu 24 giờ thấp hơn nhóm 2. Không khác biệt về mức độ tiểu máu, tuổi bệnh lupus và tuổi bệnh viêm thận lupus ở 2 nhóm (**Bảng 1**). Trong điểm SLEIDAI-2K, đa số

bn (87/101, 86,2%) có hoạt tính lupus cao và rất cao bất kể chức năng thận lúc NV. Trong 53 bn nhóm 1, có 21 bn (39,6%) được ngưng CTNT với thời gian CTNT là 45 (30 - 98) ngày và 32 bn vẫn tiếp tục CTNT. Chỉ định CTNT gồm 37 bn (70%) quá tải thể tích tuần hoàn, 10 bn (19%) hội chứng ure huyết cao, 6 bn (11%) tăng kali máu không đáp ứng điều trị nội khoa.

Bảng 1: Đặc điểm lâm sàng của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Chung (N = 101)	Nhóm 1 (N = 53)	Nhóm 2 (N = 48)	P
Tuổi (năm)	27 (22 - 34)	27 (23 - 33)	27 (22 - 34)	0,740
Nữ (n,%)	93 (92,1)	47 (88,7)	46 (95,8)	0,184
Tuổi bệnh lupus (năm)	2 (0 - 7)	0,5 (0 - 6,5)	3 (0 - 7)	0,190
Tuổi bệnh viêm thận lupus (năm)	0 (0 - 5)	0 (0 - 3)	0,5 (0 - 5)	0,256
Số bn mới chẩn đoán lupus (n,%)	43 (42,6)	26 (49,1)	17 (35,4)	0,166
Huyết áp tâm thu (mmHg) ^	128 (110 - 140)	140 (120 - 150)	120 (100 - 130)	< 0,0001
Huyết áp tâm trương (mmHg)^	80 (70 - 80)	80 (70 - 90)	70 (60 - 80)	< 0,0001
Huyết áp trung bình (mmHg)^	93,3 (83,3 - 105)	100 (83,3 - 110)	86,7 (80 - 96,7)	< 0,0001
Số bn tăng huyết áp (n,%)	52 (51,5)	32 (60,4)	20 (41,7)	0,060
Thể tích nước tiểu 24 giờ (ml)^	1000 (500 - 1500)	500 (450 - 1350)	1400 (1000 - 1600)	< 0,0001
Số bn thiếu niệu (n,%)	13 (12,9)	13 (24,5)	0 (0)	< 0,0001
Protein niệu 24 giờ (g)^	2,8 (1,4 - 6,4)	2,4 (1,2 - 5,5)	5,2 (1,8 - 9,2)	0,038
Hồng cầu/phút (Cận Addis)^	56667 (7222 - 182000)	68666 (10055 - 206590)	27500 (3194 - 215999)	0,349
Chức năng thận lúc NV				
BUN (mg/dL)^	35,5 (18,1 - 62,8)	60 (48,5 - 83)	18 (13,8 - 22)	< 0,0001
CreHT (mg/dL)^	1,3 (0,7 - 3,3)	3,1 (2,1 - 5,1)	0,7 (0,6 - 0,9)	< 0,0001
eGFR (ml/ph/1,73m ² da)^	54,7 (17,6 - 105)	17,8 (11,2 - 32,3)	109 (88,8 - 127,4)	< 0,0001
Chức năng thận thấp nhất trong thời gian nằm viện				
BUN (mg/dL)^	49 (21 - 78)	78 (59 - 97)	20 (15 - 29)	< 0,0001
CreHT (mg/dL)^	2 (0,8 - 4,6)	4,3 (3,2 - 6,4)	0,8 (0,6 - 1)	< 0,0001
eGFR (ml/ph/1,73m ² da)^	30,8 (11,9 - 96,2)	13,8 (8,6 - 19,4)	99,3 (70,9 - 116,8)	< 0,0001

Ghi chú: tỷ lệ phần trăm theo cột, (^) Trung vị, khoảng tứ phân vị

Tần suất biến thể Insertion/Deletion của Gen Angiotensin...

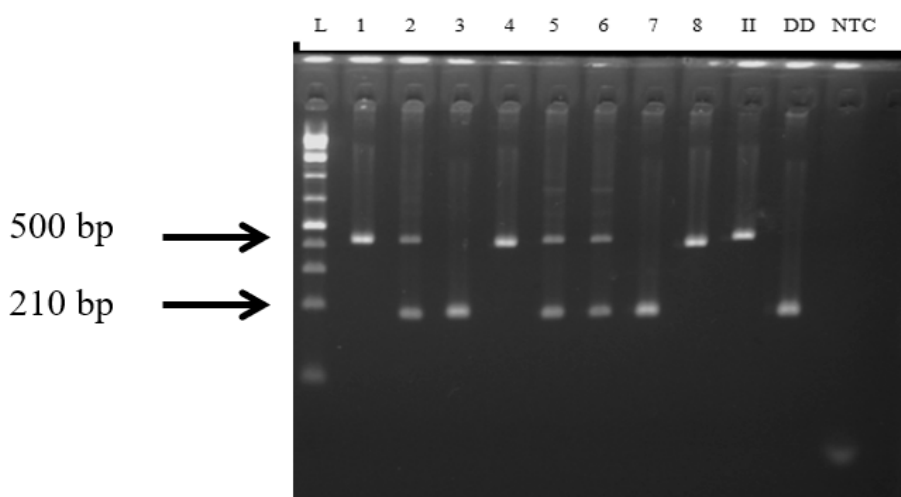
Bảng 2: Hoạt tính lupus đỏ và kết cục ngắn hạn của nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Chung (N = 101)	Nhóm 1 (N = 53)	Nhóm 2 (N = 48)	p
Anti dsDNA (UI/L)^	68,5 (28,5 - 200)	80,8 (43,1 - 240)	46,5 (17,2 - 147,5)	0,150
Nồng độ C3 (mg/L)^	46,9 (28,8 - 71,1)	35,2 (21,7 - 56,7)	66,5 (45,9 - 93,1)	0,001
Nồng độ C4 (mg/L)^	8,5 (4,5 - 20,9)	6,4 (4 - 15,5)	10,7 (7,6 - 26,4)	0,085
Điểm SLEIDAI 2K^	18 (14 - 22)	19 (16 - 22)	18 (13 - 22)	0,062
Thời gian nằm viện (ngày)^	12 (7 - 25)	22 (14 - 32)	9 (6 - 12)	< 0,0001
Tử vong chung (n,%)	14 (13,9)	11 (20,8)	3 (6,3)	0,035

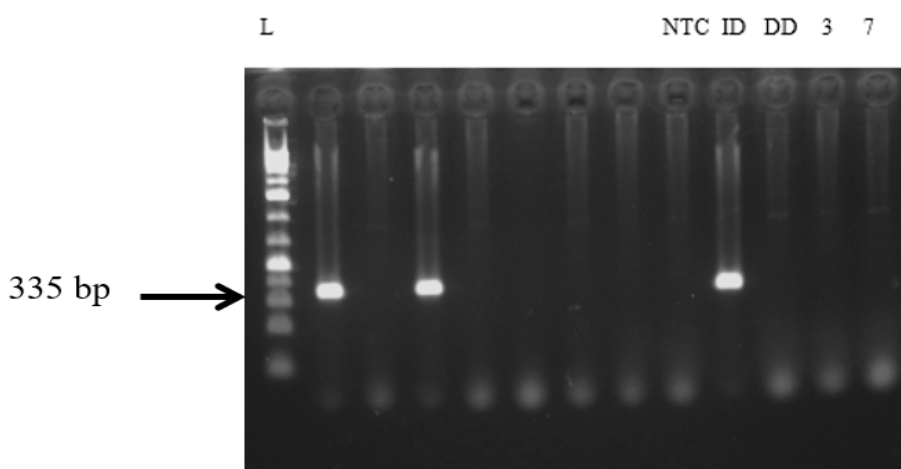
Ghi chú: tỷ lệ phần trăm theo cột, (^) Trung vị, khoảng tứ phân vị

3.2. Tần suất kiểu gen và allele của biến thể I/D ở nhóm nghiên cứu

Allele D và kiểu gen ID chủ yếu tập trung ở nhóm 1. Nguy cơ suy thận cần CTNT tăng ở bn viêm thận lupus có allele D và kiểu gen ID và/hoặc DD (**Bảng 3**). Đối chiếu với lâm sàng, kiểu gen DD chiếm ưu thế ở bn CTNT so với kiểu gen ID và II. Phân bố kiểu gen tuân theo quy luật cân bằng Hardy - Weinberg ($p = 0,972$).



Hình 1: Phản ứng PCR lần 1 ở 8 bn với kết quả: bn số 1, 4, 8 là kiểu gen II, bn số 2, 5, 6 là kiểu gen ID, bn số 3, 7 là kiểu gen DD



Hình 2: Phản ứng PCR lần 2 thực hiện ở bn số 3, 7 để kiểm chứng với kết quả cả 2 bn đều là kiểu gen DD

Tần suất biến thể Insertion/Deletion của Gen Angiotensin...

Bảng 3: Đặc điểm kiểu gen và allele của biến thể I/D ở nhóm nghiên cứu

Đặc điểm	Chung (N = 101)	Nhóm 1 (N = 53)	Nhóm 2 (N = 48)	OR (KTC 95%)	p
Kiểu gen					
II	52 (51,5)	21 (39,6)	31 (64,6)	-	
ID	40 (39,6)	25 (47,2)	15 (31,3)	1,964 (0,870 - 4,435)	0,102
DD	9 (8,9)	7 (13,2)	2 (4,2)	3,5 (0,690 - 17,752)	0,111
Kiểu gen có allele D					
0 (II)	52 (51,5)	21 (39,6)	31 (64,6)	-	
1 hoặc 2 (DD+ID)	49 (48,5)	32 (60,4)	17 (35,4)	2,779 (1,239 - 6,234)	0,012
Kiểu gen có allele I					
0 (DD)	9 (8,9)	7 (13,2)	2 (4,2)	-	
1 hoặc 2 (II+ID)	92 (91,1)	46 (86,8)	46 (95,8)	0,286 (0,056 - 1,449)	0,111
Allele					
I	144 (71,3)	67 (63,2)	77 (80,2)	-	
D	58 (28,7)	39 (36,8)	19 (19,8)	2,359 (1,246 - 4,468)	0,008

Ghi chú: tỷ lệ phần trăm theo cột.

3.3. Tương quan giữa kiểu gen với đặc điểm lâm sàng của nhóm nghiên cứu

Bảng 4: Đặc điểm về tổn thương thận theo phân nhóm kiểu gen

Đặc điểm	Kiểu gen			p
	II (N = 52)	ID (N = 40)	DD (N = 9)	
Điểm SLEIDAI-2K [^]	19 (14 - 22)	18 (13 - 23)	19 (18 - 21)	0,823
Số bn tăng huyết áp (n,%)	26 (50)	20 (50)	6 (66,7)	0,634
Số bn thiếu niệu (n,%)	4 (7,7)	8 (20)	1 (11,1)	0,214
BUN lúc NV (mg/dL) [^]	24 (15 - 44,6)	50 (21 - 75,3)	64 (33,5 - 80,5)	0,006
CreHT lúc NV (mg/dL) [^]	0,9 (0,7 - 2,4)	2,1 (0,9 - 3,5)	3,8 (0,9 - 5,1)	0,040
Số bn có eGFR<60 lúc NV (n,%)	21 (40,4)	25 (62,5)	7 (77,8)	0,031
Protein niệu 24 giờ (g) [^]	3,7 (1,5 - 6,8)	2,7 (1,6 - 5,3)	2,6 (1,2 - 10)	0,808
Hồng cầu/phút (Cận Addis) [^]	32289 (5103 - 118139)	79249 (26319 - 476124)	141750 (5444 - 2805556)	0,233
Số bn CTNT (n,%)	21 (40,4)	25 (62,5)	7 (77,8)	0,031
Ngưng CTNT (n,%)	10 (47,6)	7 (28)	4 (57,1)	0,238

Ghi chú: tỷ lệ phần trăm theo cột. (^) Trung vị, khoảng tứ phân vị

III. BÀN LUẬN

Qua nghiên cứu 2 nhóm viêm thận lupus có suy thận nặng cần CTNT (nhóm 1) và không suy thận (nhóm 2), chúng tôi nhận thấy allele D và kiểu gen ID ưu thế ở nhóm 1. Allele D, kiểu gen DD và/hoặc ID làm tăng nguy cơ suy thận nặng cần CTNT ở bn viêm thận lupus.

Gen mã hóa Angiotensin - converting enzyme (ACE) có chiều dài 21 kilobases, nằm trên nhánh dài nhiễm sắc thể 17 (17q23.3), gồm 26 exon và 25 intron, với biến thể được nghiên cứu nhiều nhất là biến thể I/D (insertion/deletion) (rs1799752), đặc trưng bởi sự có (insertion) hoặc không (deletion) của đoạn DNA dài 287 basepairs ở intron 16. Biến thể này được phát hiện lần đầu năm 1988 bằng kỹ thuật RFLP (Restriction fragment length polymorphism), sau đó là kỹ thuật PCR (Polymerase chain reaction) [15]. Tuy nhiên, chỉ bằng một phương pháp PCR, kỹ thuật khuếch đại ưu tiên (Preferential amplification PCR) của allele D ngắn hơn có thể xác định nhầm kiểu gen ID thành DD với tỷ lệ 4 - 5%. Do vậy, cần thực hiện phản ứng PCR lần 2 với đoạn mồi đặc hiệu hơn cho allele I để khẳng định kiểu gen DD thực sự là DD hay ID. Việc áp dụng kết hợp PCR chuẩn và PCR khẳng định sau đó được dùng trong hầu hết các nghiên cứu về biến thể I/D [7].

3.1. Tần suất kiểu gen và allele của biến thể I/D ở bn viêm thận lupus

Các nghiên cứu về tính đa hình của biến thể I/D với cỡ mẫu lớn chủ yếu so sánh bn lupus đỏ và nhóm chứng là người khỏe mạnh. Khi thu nhỏ phạm vi nghiên cứu ở nhóm viêm thận lupus có

và không suy thận, cỡ mẫu của các nghiên cứu cũng ít hơn. Kết quả phân bố kiểu gen và allele của biến thể I/D không thống nhất, có thể do khác biệt về chủng tộc, cỡ mẫu nhỏ và định nghĩa suy thận (**Bảng 5**).

Parsa và cộng sự (cs) nghiên cứu ở 642 bn lupus đỏ đa chủng tộc tại Hoa Kỳ, trong đó phân nhóm viêm thận lupus có GFR < 60 và ≥ 60 ml/phút/1,73m² da, tác giả ghi nhận ở người Mỹ gốc Phi, allele D, kiểu gen DD ưu thế cho cả 2 nhóm, người da trắng có allele D, kiểu gen ID ưu thế ở 2 nhóm, nhưng người gốc Á có allele D, kiểu gen ID chỉ ưu thế ở nhóm GFR < 60, trong khi allele I và kiểu gen DD chiếm ưu thế ở nhóm GFR ≥ 60 ml/phút/1,73m² da [2]. Tương tự, nghiên cứu trên 144 bn viêm thận lupus ở Trung Quốc cũng ghi nhận allele D chiếm ưu thế ở nhóm có suy thận [1]. Kết quả nghiên cứu của Abbas, Sprovieri và Topete-Reyes cũng giống Parsa khi thấy allele D, kiểu gen ID/DD ưu thế ở nhóm suy thận [16 - 18]. Chúng tôi ghi nhận allele D và kiểu gen ID/DD làm tăng nguy cơ suy thận nặng cần CTNT (allele D: OR = 2,359; p = 0,008; DD: OR = 3,5; p = 0,111; ID+DD: OR = 2,779; p = 0,012) ở bn viêm thận lupus. Phân bố kiểu gen của chúng tôi ở nhóm không suy thận, chủ yếu là II, khác với các nghiên cứu khác, chủ yếu là ID. Việc nổi trội của kiểu gen II ngược lại là một dấu tiên lượng tốt cho bn. Khác biệt về phân bố này có thể liên quan đến sai lệch của chọn bn lúc NV. Các nghiên cứu trên có bn suy thận nhẹ và trung bình, trong khi dân số nghiên cứu của chúng tôi là những bn suy thận nặng cần CTNT.

Bảng 5: Tần suất kiểu gen và allele của biến thể I/D ở bn viêm thận lupus trên thế giới

Tác giả Quốc gia	Chủng tộc	Đối tượng viêm thận lupus CreHT (mg/dL)		Kiểu gen (%)			Allele (%)	
				II	ID	DD	I	D
Sprovieri Brazil [18]	Châu Mỹ	N=15	CreHT > 1,3	13,3	26,7	60	27	73
		N=60	CreHT ≤ 1,3	11,7	50	38,3	37	63
Abbas Ai Cập [16]	Châu Phi	N=35	CreHT > 1,2	0	28,6	71,4	14,3	85,7
		N=15	CreHT ≤ 1,2	13,3	46,7	40	36,7	63,3
Topete-Reyes Mexico [17]	Châu Mỹ La tinh	N=41	CreHT 1,82 ± 2,46	17,1	63,4	19,5	48,8	51,2
		N=24	CreHT 0,76 ± 0,14	29,2	45,8	25	52,1	47,9
Chúng tôi Việt Nam	Châu Á	N=53	CreHT 3,1 (2,1 - 5,1)	39,6	47,2	13,2	63,2	36,8
		N=48	CreHT 0,7 (0,6 - 0,9)	64,6	31,3	4,2	80,2	19,8

3.2. Mối liên quan giữa kiểu gen biến thể I/D với đặc điểm lâm sàng

Về hoạt tính của lupus, chúng tôi không thấy khác biệt về điểm SLEIDAI giữa 2 nhóm, dù C3 giảm có ý nghĩa hơn ở nhóm 1 so với nhóm 2. Nghiên cứu của Molad ở Israel [3] hay Pitipakorn ở Thái Lan [19] không thấy có tương quan giữa kiểu gen với điểm SLEIDAI, trong khi nghiên cứu ở Nhật Bản [20, 21] cho thấy allele I kết hợp với hoạt tính lupus cao (dựa vào anti dsDNA, bổ thể CH50, điểm SLEIDAI) và nghiên cứu ở Ai Cập [16] ghi nhận kiểu gen DD ưu thế ở nhóm có điểm SLEIDAI cao.

Về chức năng thận, chúng tôi ghi nhận tỷ lệ bn cần CTNT cao hơn ở kiểu gen DD so với II và ID ($p < 0,05$), tương đồng với các nghiên cứu khác [1, 3, 4, 17]. Sprovieri nhận thấy GFR giảm nhiều hơn ở bn viêm thận lupus có kiểu gen DD [18]. Nguy cơ diễn tiến đến suy thận mạn giai đoạn cuối tăng với bn viêm thận lupus có allele D và kiểu gen DD (allele D: OR 1,2; $p = 0,003$; DD: OR = 1,47; $p = 0,0001$ ở dân số nghiên cứu; allele D: OR = 1,34; $p = 0,01$; DD: OR = 2,01; $p = 0,002$ ở người Đông Á) [22]. Theo Guan [1], kiểu gen ID có tương quan với độ nặng trên mô học và các kết cục xấu về thận ở bn viêm thận lupus. Cụ thể, kiểu gen ID có liên quan với tiểu máu, viêm thận lupus class IV, chỉ số hoạt động, liềm ở cầu thận, viêm ống thận mô kẽ nặng và suy thận tiến triển. Nghiên cứu này ghi nhận kiểu gen ID gặp nhiều hơn ở bn suy thận tiến triển so với bn không suy thận ($p < 0,01$) [1]. Topete-Reyes không thấy có liên quan giữa phân nhóm kiểu gen của gen ACE với CreHT, huyết áp hay protein niệu, và cho rằng việc dùng thuốc ức chế hệ renin angiotensin cũng như ức chế miễn dịch đã làm giới hạn tiến triển bệnh thận và tính đồng nhất của dân số viêm thận lupus trong nghiên cứu [17].

Nghiên cứu của chúng tôi có hạn chế sau: (1) Do thiếu cỡ mẫu của nhóm suy thận không CTNT, chúng tôi chỉ chọn bn suy thận nặng cần CTNT vào phân tích; (2) Tiến triển suy thận của bn chỉ được đánh giá trong thời gian nằm viện.

IV. KẾT LUẬN

Allele D và kiểu gen ID chiếm ưu thế ở bn viêm thận lupus có suy thận nặng cần CTNT. Allele D và kiểu gen ID và/hoặc DD làm tăng nguy cơ suy

thận nặng cần CTNT ở bn viêm thận lupus. Kết quả của tính đa hình biến thể I/D của gen ACE góp phần bổ sung dữ liệu tiên lượng bệnh cho bn viêm thận lupus.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Guan T, Liu Z, Chen Z. Angiotensin - converting enzyme gene polymorphism and the clinical pathological features and progression in lupus nephritis. *Zhonghua Nei Ke Za Zhi*. 1997;36(7):461-4.
2. Parsa A, Lovett DH, Peden EA, Zhu L, Seldin MF, Criswell LA. Renin - angiotensin system gene polymorphisms predict the progression to renal insufficiency among Asians with lupus nephritis. *Genes Immun*. 2005;6(3):217-24.
3. Molad Y, Gal E, Magal N, Sulkes J, Mukamel M, Weinberger A, et al. Renal outcome and vascular morbidity in systemic lupus erythematosus (SLE): lack of association with the angiotensin - converting enzyme gene polymorphism. *Semin Arthritis Rheum*. 2000;30(2):132-7.
4. Uhm WS, Lee HS, Chung YH, Kim TH, Bae SC, Joo KB, et al. Angiotensin - converting enzyme gene polymorphism and vascular manifestations in Korean patients with SLE. *Lupus*. 2002;11(4):227-33.
5. Trần Thanh Tuấn, Lê Gia Hoàng Linh, Đỗ Đức Minh, Châu Ngọc Hoa. Khảo sát sự liên quan của biến thể gen ACE I/D với khối cơ thất trái ở bệnh nhân tăng huyết áp nguyên phát. *Y học Thành phố Hồ Chí Minh*. 2020;24(1):219-225.
6. Trần Công Duy, Lê Gia Hoàng Linh, Đỗ Đức Minh, Châu Ngọc Hoa. Khảo sát mối liên quan của các biến thể gen AGT M235T, ACE I/D, AGTR1 A1166C với nhồi máu cơ tim cấp. *Tim Mạch Học*. 2018;20(5):93-99.
7. Shanmugam V, Sell KW, Saha BK. Mistyping ACE heterozygotes. *PCR Method Appl*. 1993;3(2):120-1.
8. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Eng J Med*. 1995;332(11):706-11.
9. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*. 2009;150(9):604-612.
10. Annigeri RA, Ostermann M, Tolwani A, Vazquez-Rangel A, Ponce D, Bagga A, et al. Renal Support for Acute Kidney Injury in the Developing World. *Kidney International Reports*. 2017;2(4):559-578.
11. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ,

- Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1982;25(11):1271-7.
12. Petri M, Orbai AM, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64(8):2677-2686.
13. Touma Z, Urowitz MB, Ibañez D, Gladman DD. SLEDAI-2K 10 days versus SLEDAI-2K 30 days in a longitudinal evaluation. *Lupus.* 2011;167-70.
14. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA.* 2003;289(19):2560-2572.
15. Rigat B, Hubert C, Alhenc-Gelas F, et al. An Insertion/Deletion Polymorphism in the Angiotensin I-converting Enzyme Gene Accounting for Half the Variance of Serum Enzyme Levels. *J Clin Invest.* 1990;86:1343-1346.
16. Cho Y, Sautenet B, Rangan G, Craig JC, Ong ACM, Chapman A, et al. Standardised Outcomes in Nephrology-Polycystic Kidney Disease (SONG-PKD): study protocol for establishing a core outcome set in polycystic kidney disease. *Trials.* 2017;18(1):560.
17. Topete-Reyes JF, Soto - Vargas J, Moran-Moguel MC, Dávalos-Rodríguez IP, Chávez-González EL G-dlTI, et al. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene in lupus nephritis among Mexicans. *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2013;35(1):174-80.
18. Sprovieri SRS, Sens YAS. Polymorphisms of the renin-angiotensin system genes in Brazilian patients with lupus nephropathy. *Lupus.* 2005;14:356-362.
19. Pitipakorn U, Suwannalai P, Trachoo O, Rattanasiri S, Chitphuk S, Ngamjanyaporn P, et al. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Thai patients with systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis.* 2016;19:693-699.
20. Sato H, Akai Y, Iwano M, Kurumatani N, Kurioka H, Kubo A, et al. Association of an insertion polymorphism of angiotensin - converting enzyme gene with the activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 1998;7(8):530-4.
21. Akai Y, Sato H, Iwano M, Kurumatani N, Kurioka H, Kubo A, et al. Association of an insertion polymorphism of angiotensin - converting enzyme gene with the activity of lupus nephritis. *Clin Nephrol.* 1999;51(3):141-6.
22. Zhou TB, Yin SS, Qin YH. Association between angiotensin - converting enzyme insertion/deletion gene polymorphism and end - stage renal disease susceptibility. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst.* 2014;15(1):22-31.