

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

**NGUYỄN CÔNG TRUNG**

**NGHIÊN CỨU**

**MATRIX METALLOPROTEINASE-12 (MMP-12)**

**TRONG BỆNH PHỔI TẮC NGHỀN MẠN TÍNH**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH, năm 2021**

**BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO**

**BỘ Y TẾ**

**ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH**

**NGUYỄN CÔNG TRUNG**

**NGHIÊN CỨU**

**MATRIX METALLOPROTEINASE-12 (MMP-12)**

**TRONG BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH**

**NGÀNH: NỘI HÔ HẤP**

**MÃ SỐ: 62.72.01.44**

**LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC**

**NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC**

**PGS.TS.BS NGUYỄN VĂN TRÍ**

**PGS.TS.BS HOÀNG ANH VŨ**

**THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH, năm 2021**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của riêng tôi, các kết quả nghiên cứu được trình bày trong luận án là trung thực, khách quan và chưa từng được công bố ở bất kỳ nơi nào.

Nghiên cứu sinh

Nguyễn Công Trung

# MỤC LỤC

	Trang
Lời cam đoan	
Danh mục các chữ viết tắt	
Danh mục đối chiếu thuật ngữ Anh –Việt	
Danh mục các bảng	
Danh mục các sơ đồ	
Danh mục các hình, biểu đồ	
<b>ĐẶT VẤN ĐỀ .....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU .....</b>	<b>4</b>
1.1 Định nghĩa bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT) .....	4
1.2 Dịch tễ học .....	4
1.3 Yếu tố nguy cơ .....	4
1.4 Bệnh học, bệnh sinh, cơ chế bệnh sinh BPTNMT .....	6
1.5 Bệnh cảnh lâm sàng BPTNMT .....	13
1.6 Thang điểm CAT và thang điểm mMRC .....	16
1.7 Phân nhóm BPTNMT theo GOLD 2020 .....	17
1.8 Tổng quan Matrix Metalloproteinase (MMP) .....	18
1.9 Tình hình nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT .....	26
1.10 Realtime RT- PCR và phương thức phân tích mức độ biểu hiện gen .....	31
<b>CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>37</b>
2.1 Thiết kế nghiên cứu .....	37
2.2 Đối tượng nghiên cứu .....	37
2.3 Thời gian và địa điểm nghiên cứu .....	37
2.4 Cỡ mẫu nghiên cứu .....	38
2.5 Xác định các biến số độc lập và phụ thuộc .....	38
2.6. Phương pháp và công cụ đo lường, thu thập số liệu .....	46
2.7 Quy trình nghiên cứu .....	47
2.8 Phương pháp phân tích dữ liệu .....	54
2.9 Đạo đức trong nghiên cứu .....	54
<b>CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>55</b>
<b>3.1 ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, LÂM SÀNG VÀ BIỂU HIỆN GEN MMP-12 Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>55</b>
3.1.1 Tuổi: .....	55
3.1.2 Giới tính .....	56
3.1.3 Số đối tượng ở các giai đoạn GOLD .....	56
3.1.4 Số gói thuốc - năm (pack - years) ở các nhóm nghiên cứu .....	57



3.1.5 Giá trị trung bình các thông số hô hấp ở các nhóm nghiên cứu.....	57
3.1.6 Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ .....	59
3.1.7 Tỷ lệ đối tượng theo phân nhóm A, B, C, D ở nhóm BPTNMT.....	59
3.1.8 Mức độ biểu hiện gen MMP-12 và gen $\beta$ -Actin chung trong Realtime RT- PCR..	60
3.1.9 Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu .....	62
<b>3.2 KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHÓI THUỐC LÁ VỚI BIỂU HIỆN GEN MMP-12 DẪN ĐẾN BPTNMT.....</b>	<b>64</b>
3.2.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung.....	64
3.2.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc .....	65
3.2.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc .....	66
3.2.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc.....	67
3.2.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc .....	68
3.2.6 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc .....	69
3.2.7 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc .....	70
3.2.8 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm (pack – years) .....	71
<b>3.3. ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI BIỂU HIỆN LÂM SÀNG, VÀ VỚI ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH Ở NHÓM BỆNH NHÂN BPTNMT. ....</b>	<b>72</b>
3.3.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc .....	72
3.3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn GOLD I, II, III, IV.....	73
3.3.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng .....	75
3.3.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 nhóm BPTNMT - nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT – nguy cơ thấp.....	76
3.3.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 theo các nhóm tuổi .....	77
<b>3.4 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI DẤU HIỆU SỚM CỦA TẮC NGHẼN ĐƯỜNG DẪN KHÍ NHỎ .....</b>	<b>78</b>

3.4.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.....	78
3.4.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - hút thuốc- không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.....	80
<b>CHƯƠNG IV. BÀN LUẬN .....</b>	<b>82</b>
<b>4.1 ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, LÂM SÀNG VÀ BIỂU HIỆN GEN MMP-12 TRONG TẾ BÀO ĐÀM Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>82</b>
4.1.1 Tuổi tác.....	82
4.1.2 Giới tính .....	82
4.1.3 Số đối tượng ở các giai đoạn GOLD.....	83
4.1.4 Số gói - năm (pack - years) ở các nhóm.....	84
4.1.5 Giá trị trung bình các thông số hô hấp ở các nhóm nghiên cứu.....	86
4.1.6 Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ .....	88
4.1.7 Tỷ lệ đối tượng BPTNMT - nguy cơ cao và nhiều triệu chứng.....	89
4.1.8 Tỷ lệ đối tượng theo phân nhóm A, B, C, D ở nhóm BPTNMT.....	89
4.1.9 Đặc điểm mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu .....	90
<b>4.2 KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHÓI THUỐC LÁ VỚI BIỂU HIỆN GEN MMP-12 DẪN ĐẾN BPTNMT. ....</b>	<b>92</b>
4.2.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung.....	92
4.2.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng).....	100
4.2.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng).....	101
4.2.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc.....	102
4.2.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc .....	105
4.2.6 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm BPTNMT - không hút thuốc. ....	106
4.2.7 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc lá so với nhóm khỏe - không hút thuốc lá .....	107

4.2.8 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm ( pack - years).....	109
<b>4.3 MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI BIỂU HIỆN LÂM SÀNG, VÀ VỚI ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH Ở NHÓM BỆNH NHÂN BPTNMT.....</b>	<b>110</b>
4.3.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT - ngưng hút thuốc .....	110
4.3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn GOLD I, II, III, IV.....	111
4.3.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng .....	112
4.3.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 nhóm BPTNMT - nguy cơ cao và nhóm BPTNMT - nguy cơ thấp .....	113
4.3.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP- 12 theo các nhóm tuổi tác.....	114
<b>4.4 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI DẤU HIỆU SỚM CỦA TẮC NGHẼN ĐƯỜNG DẪN KHÍ NHỎ .....</b>	<b>115</b>
4.4.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ .....	115
4.4.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ .....	117
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>119</b>
<b>KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>121</b>
<b>PHỤ LỤC</b>	
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	

## DANH MỤC CÁC CHỮ VIẾT TẮT

<b>TIẾNG VIỆT</b>	
BN	Bệnh nhân
BPTNMT	Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính
<b>TIẾNG ANH</b>	
ACO	Asthma COPD Overlap
AM	Alveolar Macrophage
AAT ( $\alpha_1$ AT)	Alpha -1 Antitrypsin
AATD	Alpha-1 Antitrypsin Deficiency
CAT	COPD Assessment Test
CCL1	Chemokine (C - C Motif) Ligand 1
CCL5	Chemokine (C - C Motif) Ligand 5
cDNA	complementary DNA
COPD	Chronic Obstructive Pulmonary Disease
CXCL1	Chemokine (C - X - C Motif) Ligand 1
CXCR2	CXC Chemokine Receptors 2
ECM	Extracellular Matrix
EGF	Epidermal growth factor
FEF <sub>25 - 75%</sub>	Forced Expiratory Flow at 25 - 75%
FEV <sub>1</sub>	Forced Expiratory Volume in the first second
FVC	Forced Vital Capacity
GOLD	Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease
GWAS	Genome Wide Association Studies
HLA - DR	Human Leukocyte Antigen - D Related
HMOX1	Heme Oxygenase 1
4 HNE	4 - Hydroxy - 2 Nonena
IL - 1b	Interleukin - 1 beta
IL - 6	Interleukin - 6
IL - 8	Interleukin - 8

MMPs	Matrix Metalloproteinases
MMP - 1	Matrix Metalloproteinase - 1
MMP - 8	Matrix Metalloproteinase - 8
MMP - 9	Matrix Metalloproteinase - 9
MMP - 12	Matrix Metalloproteinase -12
mRNA	messenger RNA
NK1R	Neurokinin 1 Receptor
Nrf2	Nuclear factor (erythroid-derived 2) - like 2
PAR - 1	Proteinase Activated Receptor -1
PEF	Peak expiratory flow
PDE - 4	Phosphodiesterase - 4 inhibitor
PGP	Prolineglycine Tripeptide Proline
PI	Proteinase Inhibitor
ROS	Reactive Oxygen Species
RT- PCR	Reverse Transcription - Chain Polymerase Reaction
SERPIN2	Serpin Family E Member 2
SIRT1	Sirtuin1
SPR	Substance P Receptor
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SOD3	Superoxide Dismutase 3
TCR	T cell receptor
TGF	Transforming Growth Factor
TMPs	Tissue Inhibitor of Metalloproteinase
TIMP - 1	TIMP Metalloproteinase Inhibitor - 1
TIMP - 2	TIMP Metalloproteinase Inhibitor - 2
TIMP - 3	TIMP Metalloproteinase Inhibitor - 3
TIMP - 4	TIMP Metalloproteinase Inhibitor - 4
TLC	Total Lung Capacity
TNF	Tumor Necrosis Factor
VEGF	Vascular endothelial growth factor

## DANH MỤC ĐỐI CHIẾU THUẬT NGỮ ANH – VIỆT

Absolute quantification	Định lượng tuyệt đối
Asthma COPD overlap	Chồng lấp hen và COPD
$\alpha 1$ antitrypsin deficiency	Thiếu hụt $\alpha 1$ - antitrypsin
complementary DNA (cDNA)	DNA bổ sung
COPD Assessment Test (CAT)	Bộ câu hỏi đánh giá BPTNMT
Cellular differentiation	Sự biệt hóa tế bào
Cycle threshold (Ct)	Chu kì ngưỡng
Diffusing capacity of the lung for carbon monoxide (DLCO)	Khả năng khuếch tán của phổi với khí CO
Downregulation	Điều hòa xuống
Forced Vital Capacity (FVC)	Dung tích sống gắng sức
Forced Expiratory Volume -in the first second (FEV1)	Thể tích thở ra gắng sức trong 1 giây đầu
Fluorescent in situ hybridization	Kỹ thuật lai tại chỗ gắn huỳnh quang
Gene expression	Biểu hiện gen
Genetic variations	Các biến thể gen
Genome wide association studies	Phân tích tương quan trên bộ gen
Global Initiative for Chronic obstructive lung disease (GOLD)	Sáng kiến toàn cầu cho Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính
messenger RNA (mRNA)	RNA thông tin
MMP-12 inhibitor	Chất ức chế MMP-12
Modified Medical Council Research (mMRC)	Bộ câu hỏi của Hội Đồng Nghiên Cứu Y Khoa Anh cải biên
Oxidative stress	Stress oxy hóa
Reactive oxygen species (ROS)	Các phân tử phản ứng hóa học có oxy
Realtime RT - PCR	Phản ứng chuỗi polymerase sao chép ngược thời gian thực
Relative quantification	Định lượng tương đối
Single nucleotide polymorphism	Đa hình nucleotide đơn

## DANH MỤC CÁC BẢNG

	Trang
<b>Bảng 1.1:</b> Phân loại giai đoạn tắc nghẽn BPTNMT .....	14
<b>Bảng 1.2:</b> Câu hỏi đánh giá tác động của BPTNMT - câu hỏi CAT.....	16
<b>Bảng 1.3:</b> Câu hỏi đánh giá độ nặng khó thở - câu hỏi mMRC .....	17
<b>Bảng 1.4:</b> Phân nhóm A, B, C, D theo GOLD 2020 .....	17
<b>Bảng 1.5:</b> Tóm lược một số nghiên cứu về MMP-12 ở BPTNMT .....	31
<b>Bảng 2.1:</b> Tên biến số và cách tính các biến số trong nghiên cứu .....	44
<b>Bảng 3.1:</b> Tuổi trung bình các đối tượng.....	55
<b>Bảng 3.2:</b> Phân bố giới tính trong nhóm BPTNMT .....	56
<b>Bảng 3.3:</b> Số đối tượng ở các giai đoạn GOLD.....	56
<b>Bảng 3.4:</b> Số gói thuốc - năm (pack - years) ở các nhóm nghiên cứu .....	57
<b>Bảng 3.5:</b> Giá trị trung bình các thông số hô hấp ở các nhóm đối tượng.....	58
<b>Bảng 3.6:</b> Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ ở nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc .....	59
<b>Bảng 3.7:</b> Tỷ lệ đối tượng theo phân nhóm A, B, C, D ở nhóm BPTNMT chung và tỷ lệ đối tượng BPTNMT - nhiều triệu chứng, BPTNMT - nguy cơ cao ....	60
<b>Bảng 3.8:</b> Mức độ biểu hiện chung ở gen MMP-12 và gen $\beta$ -Actin trong phản ứng Realtime RT- PCR.. ..	61
<b>Bảng 3.9:</b> Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu:.....	62
<b>Bảng 3.10:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung. ....	64
<b>Bảng 3.11:</b> So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng).....	65
<b>Bảng 3.12:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng). ....	66
<b>Bảng 3.13:</b> So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc .....	67
<b>Bảng 3.14:</b> So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc. ....	68

## DANH MỤC CÁC BẢNG

	Trang
<b>Bảng 3.15:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc.....	69
<b>Bảng 3.16:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng). .....	70
<b>Bảng 3.17:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm (pack – years) .....	71
<b>Bảng 3.18:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT - ngưng hút thuốc .....	72
<b>Bảng 3.19:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn nặng GOLD I, II, III, IV. ....	73
<b>Bảng 3.20:</b> Kết quả phép kiểm Posthoc so sánh biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn GOLD.....	74
<b>Bảng 3.21:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng .....	75
<b>Bảng 3.22:</b> So sánh mức độ biểu gen MMP-12 nhóm BPTNMT- nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT - nguy cơ thấp.....	76
<b>Bảng 3.23:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 theo các nhóm tuổi .....	77
<b>Bảng 3.24:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có tắc nghẽn nhỏ sớm (FEF 25-75% - dự đoán < 60%) so với nhóm khỏe - không tắc nghẽn nhỏ sớm ở đường dẫn khí nhỏ. ....	78
<b>Bảng 3.25:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. ....	80



## DANH MỤC CÁC BIỂU ĐỒ

	Trang
<b>Biểu đồ 1.1:</b> Cấu trúc một proteinase MMP điển hình.....	19
<b>Biểu đồ 1.2:</b> Phân loại các MMP theo chức năng .....	19
<b>Biểu đồ 1.3:</b> Vị trí gen MMP-12 trên nhiễm sắc thể 11 .....	21
<b>Biểu đồ 3.1:</b> Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu.....	63
<b>Biểu đồ 3.2:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung.....	64
<b>Biểu đồ 3.3:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) .....	65
<b>Biểu đồ 3.4:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe- không hút thuốc (nhóm chứng). .....	66
<b>Biểu đồ 3.5:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc.....	67
<b>Biểu đồ 3.6:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe –hút thuốc. ....	68
<b>Biểu đồ 3.7:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc.....	69
<b>Biểu đồ 3.8:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe- không hút thuốc (nhóm chứng).....	70
<b>Biểu đồ 3.9:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm.....	71
<b>Biểu đồ 3.10:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc.....	72
<b>Biểu đồ 3.11:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn GOLD I, II, III, IV .....	74
<b>Biểu đồ 3.12:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT- ít triệu chứng.....	75
<b>Biểu đồ 3.13:</b> So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT–nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT- nguy cơ thấp.....	76
<b>Biểu đồ 3.14:</b> So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các nhóm tuổi.....	77

**Biểu đồ 3.15:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán < 60%) so với nhóm khỏe - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. .... 79

**Biểu đồ 3.16:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (FEF 25-75% - dự đoán < 60%) so với nhóm khỏe - hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. .... 81

## DANH MỤC CÁC SƠ ĐỒ

	Trang
<b>Sơ đồ 1.1:</b> Tiến trình tế bào và phân tử trong stress oxy hóa dẫn đến BPTNMT.....	9
<b>Sơ đồ 1.2:</b> Cơ chế bệnh sinh BPTNMT.....	11
<b>Sơ đồ 1.3:</b> Cơ chế bệnh sinh BPTNMT do gen MMP-12 .....	13
<b>Sơ đồ 1.4:</b> Vai trò các MMP và MMP-12 trong quá trình sinh lí.....	20
<b>Sơ đồ 1.5:</b> Vai trò các MMP và MMP-12 trong quá trình bệnh lí và vai trò MMP-12 trong BPTNMT:.....	20
<b>Sơ đồ 1.6:</b> Cơ chế hình thành MMP- 12 và phá vỡ thành phế nang.....	24
<b>Sơ đồ 1.7:</b> Những yếu tố thúc đẩy sản xuất và phóng thích ra proteinase MMP-12 trong BPTNMT.....	25
<b>Sơ đồ 1.8:</b> Các bước thực hiện định lượng mRNA sử dụng phương pháp Realtime RT- PCR (Phần 1).....	33
<b>Sơ đồ 1.9:</b> Các bước thực hiện định lượng mRNA sử dụng phương pháp Realtime RT- PCR (Phần 2).....	33
<b>Sơ đồ 1.10:</b> Mối liên quan số chu kì ngưỡng với mức độ biểu hiện gen trong phản ứng Realtime RT- PCR.....	35
<b>Sơ đồ 2.1:</b> Sơ đồ quy trình nghiên cứu mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong BPTNMT .....	49
<b>Sơ đồ 2.2:</b> Tách chiết tế bào từ mẫu đàm .....	50
<b>Sơ đồ 2.3:</b> Tách chiết mRNA từ tế bào.....	51
<b>Sơ đồ 2.4:</b> Tổng hợp cDNA từ mRNA mẫu .....	52
<b>Sơ đồ 2.5:</b> Phản ứng Realtime RT- PCR .....	53

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT) là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong và bệnh tật mạn tính trên toàn thế giới. Trong năm 2015 có hơn 3,17 triệu người chết trên toàn thế giới do BPTNMT (tức là khoảng 5% tổng số ca tử vong trên toàn thế giới mỗi năm) [142]. Đến nay, BPTNMT là nguyên nhân gây tử vong đứng hàng thứ 3 trên thế giới, đứng sau bệnh cơ tim thiếu máu cục bộ và đột quy [142]. Tại Việt Nam tỉ lệ mắc bệnh BPTNMT là 6,7% trong dân số người lớn [153], trong đó ở miền bắc Việt Nam là 7,1 % [62].

Các thuốc thường được sử dụng trong điều trị BPTNMT là thuốc giãn phế quản (kích thích Beta 2, kháng cholinergic, methylxanthine) và thuốc kháng viêm (corticosteroids, ức chế phosphodiesterase-4...) giúp cải thiện triệu chứng, giảm tần số đợt cấp và mức độ nặng của đợt cấp, cải thiện khả năng gắng sức và tình trạng sức khỏe. Tuy nhiên, tổ chức GOLD 2020 cho biết: cho đến nay, chưa có loại thuốc nào có chứng cứ lâm sàng làm giảm sự tắc nghẽn tiến triển của bệnh này [54]. Do đó, các nhà nghiên cứu đang chú ý nhiều đến hướng nghiên cứu các gen có liên quan đến giảm chức năng phổi, các gen có vai trò trong cơ chế bệnh sinh dẫn đến BPTNMT [34], nhằm mục đích can thiệp vào các gen này.

Cơ chế bệnh sinh dẫn đến BPTNMT do nhiều yếu tố, bao gồm: mất cân bằng proteinase - antiproteinase, tình trạng viêm dai dẳng và tình trạng stress oxy hóa [16], [49], mất cân bằng miễn dịch, giả thuyết về cytokine, và giả thuyết nhiễm khuẩn [137]. Các nhà nghiên cứu chú ý nhiều đến yếu tố mất cân bằng proteinase - antiproteinase do rối loạn biểu hiện các gen Matrix Metalloproteinase (MMP) [34] dẫn đến gia tăng sản xuất proteinase.

Trong số các gen MMP sản xuất (giải mã) các proteinase như: MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12, MMP-13..., các nhà nghiên cứu chú ý nhiều nhất đến gen MMP-12 (gen Matrix Metalloproteinase-12), lí do là, gen MMP-12 bị kích hoạt bởi khói thuốc lá - yếu tố nguy cơ chính dẫn đến gia tăng sản xuất proteinase MMP-12 gây ra mất cân bằng proteinase - antiproteinase, từ đó, dẫn đến thoái hóa protein ở chất nền (elastin, collagens) ở phổi, phá hủy cấu trúc mô, mất tính đàn hồi của phổi dẫn đến BPTNMT [15], [34], [115], [122].

Đến nay, có nhiều tác giả nghiên cứu về các gen MMP như: gen MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9 và MMP-12 [33], [34], [68] cho thấy mức độ biểu hiện của một số các gen MMP này đều có tăng đáng kể trong huyết thanh [39],

[99], dịch rửa phế quản [17], [99], [143], đàm kích thích (khạc ra) [39], [68] và trong hơi thở cô đặc [137].

Nghiên cứu của tác giả Hautamaki RD (1997) [61] sử dụng chất ức chế gen MMP-12 (MMP-12 inhibitor) trên chuột cho thấy có hiệu quả ngăn chặn được sự gia tăng tế bào đại thực bào ở phổi và bệnh khí phế thũng do khói thuốc lá. Nghiên cứu của tác giả Churg A (2012) [34] kết luận: Nếu can thiệp vào BPTNMT với chất ức chế gen MMP-12 (MMP-12 inhibitor) có thể là một liệu pháp hữu hiệu cho BPTNMT và tái cấu trúc đường thở nhỏ [129], [155]. Nghiên cứu của tác giả Kraen M (2019) [85] về khói thuốc lá liên quan đến 2 bệnh là BPTNMT và xơ vữa động mạch cảnh, tác giả kết luận “proteinase MMP-12 và MMP-1 là chỉ dấu sinh học có thể hữu ích trong lâm sàng, và cần có các nghiên cứu tiếp theo để làm sáng tỏ vai trò proteinase của chúng”. Tổ chức GOLD 2020 [54] cho biết gen MMP-12 liên quan đến giảm chức năng phổi, hoặc liên quan đến yếu tố nguy cơ BPTNMT.

Gen MMP-12 liên quan đến giảm chức năng phổi, và gen MMP-12 bị kích hoạt bởi khói thuốc lá [54]. Tuy nhiên, mối liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến kích hoạt sự tăng biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT là mối liên quan không đồng nhất, và mối liên quan biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng của BPTNMT là chưa rõ ràng; lí do là, trong bệnh học, có rất nhiều người không bao giờ hút thuốc lá vẫn mắc bệnh BPTNMT, và ngược lại, cũng có rất nhiều người hút thuốc lá vẫn không mắc bệnh BPTNMT.

Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm tìm kiếm mối liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT, và tìm kiếm sự liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng của BPTNMT. Từ đó, có thêm cơ sở số liệu về vấn đề này, để góp phần hiểu rõ hơn về vai trò của gen MMP-12 ở BPTNMT (của nhóm dân số nghiên cứu).

## MỤC TIÊU NGHIÊN CỨU

1. Mô tả đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm ở các nhóm nghiên cứu.
2. Khảo sát mối liên quan giữa khối thuốc lá với biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT ở các nhóm nghiên cứu.
3. Đánh giá mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng, và với độ nặng của bệnh ở nhóm bệnh nhân BPTNMT.
4. Đánh giá mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

## CHƯƠNG I. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

### TỔNG QUAN BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH

#### 1.1 Định nghĩa bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT)

Tổ chức GOLD 2020 định nghĩa: “Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính là một bệnh thường gặp, bệnh có thể ngăn ngừa và điều trị được (dù không chữa khỏi hẳn được), đặc tính của bệnh là những triệu chứng hô hấp và tình trạng giới hạn luồng khí dai dẳng do bất thường đường dẫn khí và / hoặc phế nang, thường do phơi nhiễm với phân tử độc hại hoặc khí độc hại, và bị ảnh hưởng bởi yếu tố thể tạng, bao gồm sự phát triển bất thường của phổi. Những bệnh đồng mắc nghiêm trọng có thể tác động đến tỉ lệ mắc bệnh và tử vong” [54].

Trên thế giới, hút thuốc lá là yếu tố nguy cơ phổ biến nhất gây ra bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính. Tuy nhiên, ở nhiều nước đang phát triển, ô nhiễm không khí do việc đốt củi than và nhiên liệu sinh khối khác được xác định là những yếu tố nguy cơ [8], [27], [42], [43], [103], [113], [114].

#### 1.2 Dịch tễ học

Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT) là một trong những nguyên nhân chính gây tử vong trên toàn thế giới. Theo tổ chức GOLD 2020, BPTNMT là nguyên nhân gây tử vong đứng hàng thứ 3 trên thế giới [54], Trên thế giới có 6 - 10 % dân số người lớn mắc bệnh BPTNMT, 3,17 triệu người chết do BPTNMT vào năm 2015, tăng 11, 6% so với năm 1990 [12], [18], [36], [37], [53], tại Việt Nam có 6,7% dân số người lớn mắc bệnh BPTNMT [153], trong đó miền bắc Việt Nam có 7,1% dân số người lớn từ 21 đến 70 tuổi mắc bệnh BPTNMT [62].

#### 1.3 Yếu tố nguy cơ

##### Phơi nhiễm với các phân tử độc hại, khí độc hại

Khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ hàng đầu dẫn đến BPTNMT, nguy cơ hút thuốc lá liên quan đến lượng thuốc lá đã hút, tuổi khởi đầu hút, tổng số gói thuốc đã hút trong nhiều năm và tình trạng hút thuốc hiện tại, có ý nghĩa tiên lượng tử vong do bệnh BPTNMT. Tuy nhiên, không phải tất cả những người hút thuốc đều mắc bệnh BPTNMT, chỉ có 10-20% người hút thuốc trong thời gian dài, tiến triển thành BPTNMT, do nguyên nhân yếu tố di truyền đóng vai trò chủ yếu. Phơi nhiễm nghề nghiệp gồm bụi vô cơ và hữu cơ, những tác nhân hóa chất và hơi hóa học [31],

[140]. Ô nhiễm trong nhà do sự đốt, nấu nướng trong môi trường không thông thoáng, ô nhiễm không khí do đốt cháy nhiên liệu các xe cộ lưu thông [2], [31].

### **Gen**

Mặc dù sự khiếm khuyết gen Alpha - 1 Antitrypsin ( $\alpha_1$ AT) (gen  $\alpha_1$ AT sản xuất ra antiproteinase) chỉ gặp ở một số ít người trong dân số, nhưng nó chứng minh sự tác động qua lại giữa gen và môi trường gây ra bệnh BPTNMT [16], [22]. Ở Mỹ, tỉ lệ thiếu hụt  $\alpha_1$ AT là 1 - 2% ở người bệnh khí phế thũng [34], [35], [42], [140]. Những trường hợp thiếu  $\alpha_1$ AT trầm trọng có thể gây BPTNMT ở tuổi nhỏ [31], [43], [140]. Nhiều biến thể gen (genetic variations) có liên quan giải mã antiproteinase, các biến thể gen này định vị trên gen PI hoặc gen SERPINA1- là gen được giải mã thành  $\alpha_1$ AT; alen M là thường gặp nhất có mức  $\alpha_1$ AT bình thường, alen S có mức  $\alpha_1$ AT giảm nhẹ, alen Z có mức  $\alpha_1$ AT giảm đáng kể và xảy ra với tần số >1% người da trắng, hiếm có cá thể không có alen, những người không có alen không sản sinh (giải mã) được  $\alpha_1$  AT. Những cá thể có 2 alen Z, 1 alen Z và không có alen là hình thức phổ biến nhất của khiếm khuyết  $\alpha_1$  AT nặng trong cơ thể [45], [145].

### **Stress oxy hóa**

Phổi liên tục phơi nhiễm với các chất oxy hóa. Stress oxy hóa làm tăng cao đột ngột các ROS (Reactive Oxygen Species) - là sản phẩm trong quá trình oxy hóa, sản phẩm ROS trực tiếp làm tổn thương phổi. Stress oxy hóa không chỉ trực tiếp làm tổn thương phổi mà còn hoạt hóa cơ chế phân tử khởi đầu gây ra viêm. Vì vậy, sự mất cân bằng giữa chất oxy hóa và chất chống oxy hóa đóng vai trò trong bệnh sinh BPTNMT [4], [36], [37], [84], [110], [156] Chất oxy hóa trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT có thể xuất phát từ 2 nguồn: (1) nguồn ngoại sinh do môi trường bên ngoài: khói thuốc lá, bụi, khí độc hại..., (2) nguồn nội sinh: từ ty lạp thể của các tế bào thực bào, tế bào viêm và tế bào khác, trong quá trình chuyển hóa tạo năng lượng, sản xuất ra các ROS (Reactive oxygen species) quá mức, dẫn đến tổn hại cấu trúc tế bào, DNA, RNA [36], [37], [54], [84].

### **Sự trưởng thành và phát triển của phổi**

Sự trưởng thành của phổi có liên quan đến thai kỳ, lúc sinh và thời kỳ thơ ấu;



những người có sự phát triển của phổi bị tổn thương từ lúc nhỏ do viêm nhiễm hay phơi nhiễm với ô nhiễm không khí, đến khi trưởng thành sẽ có tình trạng giảm chức năng phổi và những người này có nguy cơ cao mắc bệnh BPTNMT [31], [32].

### **Giới tính**

Trước đây, các nghiên cứu cho biết BPTNMT có tần xuất và tử vong cao hơn ở nam giới so với phụ nữ [12], [31], [58]. Các nghiên cứu gần đây cho biết tần xuất bằng nhau ở nam và nữ [33], một vài nghiên cứu cho rằng phụ nữ nhạy cảm với khói thuốc lá hơn nam giới [45].

### **Tuổi tác**

Tuổi thọ kéo dài đồng nghĩa với tiếp xúc yếu tố nguy cơ nhiều hơn [43], [54]

### **Nhiễm khuẩn đường hô hấp**

Nhiễm khuẩn (virus hoặc vi trùng) có thể góp phần vào bệnh sinh và tiến triển nặng BPTNMT. Sự xâm nhập vi trùng, virus vào phổi sẽ gây ra viêm đường hô hấp và có thể tạo ra đợt cấp BPTNMT [1], [2], [5], [73], [75].

### **Tiền sử hen, lao phổi**

Hen và lao phổi là các yếu tố nguy cơ độc lập gây ra tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ [59], [61], [75], [83], [116].

### **Tình trạng kinh tế xã hội**

Nguy cơ bệnh BPTNMT liên quan đến tình trạng kinh tế xã hội, bệnh nhân BPTNMT thường có tiền sử phơi nhiễm với không khí ô nhiễm như: không khí trong nhà ô nhiễm, môi trường sống ô nhiễm, sự đông đúc chật chội, dinh dưỡng kém và yếu tố khác do nền kinh tế nghèo nàn [27], [31], [32].

### **Dinh dưỡng**

Dinh dưỡng có thể là yếu tố độc lập gây ra BPTNMT, rối loạn dinh dưỡng và mất cân nặng gây ra giảm sức cơ hô hấp và sức bền căng cơ hô hấp [31], [32].

### **Bệnh đồng mắc (comorbidity)**

Hen có thể là yếu tố nguy cơ độc lập dẫn đến BPTNMT. Kiểu hình BPTNMT có thể chồng lấp với hen tạo thành kiểu hình ACO (Asthma COPD Overlap) [28], [42], [43], [119].

## **1.4 Bệnh học, bệnh sinh, cơ chế bệnh sinh BPTNMT**

### **1.4.1 Bệnh học**

BPTNMT là tình trạng viêm mạn tính, gia tăng số lượng tế bào viêm chuyên biệt ở các phần khác nhau trong phổi, thay đổi cấu trúc do tổn thương và tái cấu trúc ở đường dẫn khí gần, đường dẫn khí ngoại biên, nhu mô phổi và mao mạch phổi, viêm và thay đổi cấu trúc tiến triển nhanh ở người bệnh nặng và vẫn còn hút thuốc lá, viêm hệ thống hiện diện ở bệnh nhân BPTNMT và thường đóng vai trò trong bệnh đồng mắc với BPTNMT [93].

#### **1.4.2 Bệnh sinh**

Tình trạng viêm đường hô hấp là do đáp ứng viêm với những chất kích thích như khói thuốc lá, cơ chế tình trạng viêm tiến triển nặng có thể do tác động bởi gen. Ở bệnh nhân BPTNMT không có tiền sử hút thuốc, bản chất của đáp ứng viêm vẫn chưa được rõ. Sự stress oxy hóa và gia tăng quá mức của các proteinase, làm gia tăng tình trạng viêm trong phổi, tình trạng viêm vẫn tồn tại sau khi ngưng thuốc lá, có thể do vai trò các tự kháng nguyên, sự nhiễu loạn ở phổi và vi khuẩn [19], [57].

Cơ chế bệnh sinh chính của BPTNMT do mất cân bằng proteinase - antiproteinase, stress oxy hóa, gia tăng các tế bào viêm, các chất trung gian gây viêm, xơ hóa quanh tiểu phế quản và mô kẽ [4], [45].

##### **1.4.2.1 Mất quân bình giữa proteinase - antiproteinase**

##### **Các proteinase liên quan đến bệnh sinh BPTNMT**

Có 4 nhóm proteinase có liên quan đến bệnh sinh của BPTNMT là: (1) serine proteinase, (2) cysteine proteinase (3) aspartic proteinase và (4) MMP proteinase [128]. Trong đó: (1) nhóm serine proteinase gồm có: neutrophile elastase, dipeptidyl peptidase 4, cathepsin G, proteinase 3, cathepsin C, tryptase liên quan đến mức độ nặng của BPTNM; (2) nhóm cysteine proteinase gồm có: caspase-1, caspase-3, caspase-7, caspase-8, caspase-9, caspase-11, cathepsin K và cathepsin S được chứng minh tăng biểu hiện ở bệnh nhân BPTNMT; (3) nhóm aspartic proteinase cathepsin D và cathepsin E được chứng minh tăng biểu hiện trong mẫu mô của bệnh nhân BPTNMT; (4) nhóm MMP proteinase gồm có: MMP-2, MMP-8, MMP-9, MMP-12 và MMP-13... liên quan cơ chế bệnh sinh dẫn đến mất cân bằng giữa proteinase - antiproteinase dẫn đến BPTNMT [128]

Trong 4 nhóm proteinase nói trên, nhóm proteinase MMP được các nhà nghiên cứu chú ý nhiều nhất, lí do là, sự tăng nồng độ / biểu hiện gen các

proteinase MMP có liên quan với cơ chế bệnh sinh dẫn đến mất cân bằng giữa proteinase - antiproteinase dẫn đến BPTNMT [128]. Trong cơ thể bình thường, các proteinase MMP được cân bằng bởi các antiproteinase TIMP (TIMP1, TIMP2, TIMP3, TIMP4) [56]. Mất cân bằng proteinase - antiproteinase đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh dẫn đến BPTNMT. Mất cân bằng giữa proteinase - antiproteinase là do mất cân bằng giữa các MMP với các TIMP (Matrix Metalloproteinase với Tissue Inhibitor of Metalloproteinase).

Trong cơ thể có 23 loại gen MMP gồm có: MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-12, MMP-13... sản xuất (giải mã) ra các proteinase. Ngược lại, các gen TIMP gồm có 4 loại: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4, sản xuất (giải mã) ra antiproteinase; Các antiproteinase TIMP là chất ức chế các proteinase MMP.

Trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT do sự mất cân bằng giữa proteinase - antiproteinase, vai trò của gen MMP-12 / proteinase MMP-12 được các nhà nghiên cứu chú ý nhiều nhất, lí do là, gen MMP-12 là chất tiền viêm, trung gian gây viêm, lôi kéo tế bào viêm, tế bào miễn dịch, phá hủy sợi elastine ở chất nền ở phế nang, tái cấu trúc đường thở dẫn đến tắc nghẽn đường dẫn khí dẫn đến BPTNMT.

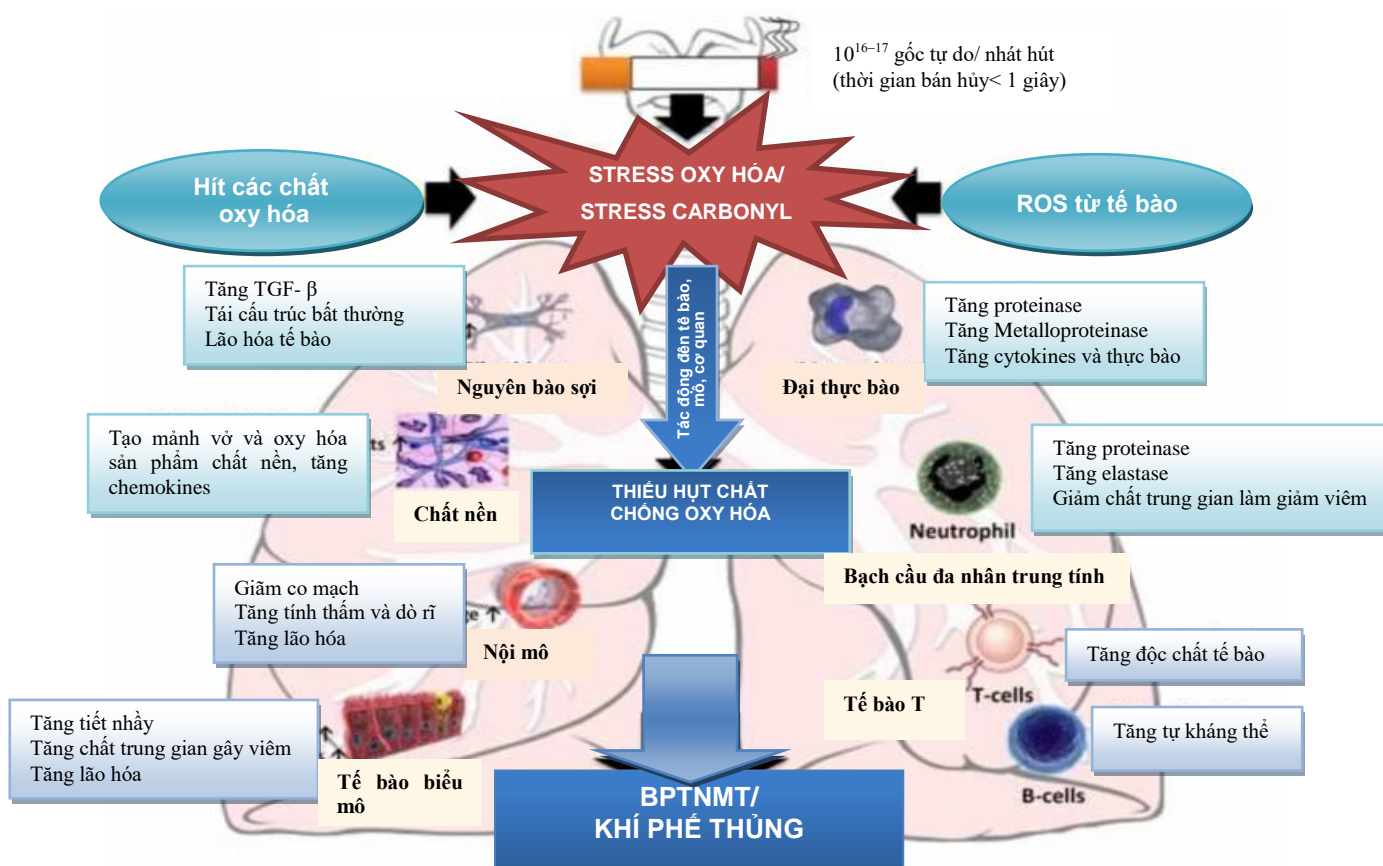
Sự mất cân bằng proteinase - antiproteinase ở BPTNMT là do sự gia tăng biểu hiện quá mức các proteinase dẫn đến phá hủy chất nền, các thành phần của mô liên kết ở phổi, và ngược lại, các antiproteinase có chức năng bảo vệ các mô liên kết này có mức biểu hiện thấp hơn tương đối. Ở bệnh lí BPTNMT, nhiều loại proteinase được tạo ra từ tế bào biểu mô, tế bào viêm, nguyên bào sợi. Các proteinase có tác động phá hủy cấu trúc elastine - thành phần chính của mô liên kết dẫn đến BPTNMT [27], [34], [45], [56] và ở BPTNMT sự mất cân bằng giữa proteinase - antiproteinase không những ở phổi mà còn cả hệ thống [102].

Khiếm khuyết  $\alpha_1$  AT (alpha -1 antitrypsin) là một trong những nguyên nhân di truyền dẫn đến BPTNMT. Các  $\alpha_1$  AT là các antiproteinase, một chất ức chế proteinase serine được sản xuất ra từ bạch cầu đa nhân trung tính, liên quan đến tín hiệu CXCR1 và Fc $\gamma$ RIIIb. Ngoài ra,  $\alpha_1$  AT cũng có vai trò điều chỉnh mức proteinase cathepsin B và metalloproteinase-2 (MMP-2). Vì vậy, sự khiếm khuyết gen  $\alpha_1$ AT (gen  $\alpha_1$ AT sản xuất ra antiproteinase) dẫn đến bệnh BPTNMT [16], [22].

Trong dân số, sự khiếm khuyết gen  $\alpha_1$ AT chỉ xảy ra ở thiểu số (1- 2% dân số ở Mỹ [34], [35]). Vì vậy, sự khiếm khuyết gen  $\alpha_1$ AT, chỉ là 1 phần riêng của bệnh sinh BPTNMT, không đại diện chung cho cơ chế bệnh sinh BPTNMT. Những bệnh nhân thiếu  $\alpha_1$ AT được điều trị bằng liệu pháp tăng  $\alpha_1$ AT [128].

#### 1.4.2.2 Stress oxy hóa (Oxidative stress)

Stress oxy hóa trong BPTNMT có thể từ nguồn ngoại sinh do môi trường bên ngoài như thuốc lá và các khói bụi, khí độc hại và có thể từ nguồn nội sinh do các tế bào đại thực bào và tế bào khác [82], [84], [110]; Stress oxy hóa làm tăng cao đột ngột các ROS (sản phẩm trong quá trình oxy hóa) trực tiếp làm tổn thương phổi và hoạt hóa cơ chế phân tử gây ra viêm. Ở bệnh nhân BPTNMT có hút thuốc lá, gen Nrf2 và gen HMOX-1 (là gen có chức năng chống stress oxy hóa do khói thuốc lá) bị suy giảm do đó dẫn đến gia tăng chết tế bào theo chương trình ở các tế bào biểu mô đường dẫn khí nhỏ ở bệnh nhân BPTNMT hút thuốc lá [150].



**Sơ đồ 1.1: Tiến trình tế bào và phân tử trong stress oxy hóa dẫn đến BPTNMT**

“Nguồn: Rahman Irfan, 2012” [110]

Sơ đồ 1.1: cho thấy bệnh sinh của BPTNMT liên quan đến một số tiến trình

tế bào và phân tử gây ra stress oxy hóa. Stress oxy hóa bị thúc đẩy bởi nguồn ngoại sinh - các chất oxy hóa các dạng hít và / hoặc các nguồn nội sinh - các chất oxy hóa được sản xuất từ các tế bào (tạo ra các ROS), tác động stress oxy hóa có thể dẫn đến sự thiếu hụt các chất chống oxy hóa, và dẫn đến việc kích hoạt các quá trình tế bào khác nhau dẫn đến các biến cố tế bào và phân tử liên quan đến bệnh sinh BPTNMT. Sự mất cân bằng chất oxy hóa / chất chống oxy hóa này đóng một vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT (Sơ đồ 1.1) [110].

Cơ chế dẫn đến BPTNMT do stress oxy hóa được thông qua sự hình thành của stress carbonyl. Stress oxy hóa từ các nguồn môi trường và nguồn tế bào (nguồn nội sinh) gây tổn thương các mô ở phổi thông qua quá trình peroxy hóa lipid và quá trình oxy hóa protein và carbohydrate dẫn đến sự hình thành stress cacbonyl; stress cacbonyl gây ra biến đổi protein, có thể làm thay đổi chức năng của protein, hình thành phân tử liên quan nguy hiểm (danger-associated molecular (DAMPs)) và tự kháng nguyên mới và sự thiếu hụt các chất chống oxy hóa (Sơ đồ 1.1) [82], [110].

#### **1.4.2.3 Gia tăng tình trạng viêm, tế bào gây viêm, và chất trung gian gây viêm**

BPTNMT là một tình trạng viêm hệ thống, biểu hiện qua sự gia tăng các chỉ dấu sinh học, các chemokine, cytokine và oxit nitric [14], [19], [20], [78], [79], viêm hệ thống trong BPTNMT liên quan đến các bệnh đồng mắc [19], [28], [98]. Khói thuốc lá và các loại khói độc hại có thể kích hoạt phản ứng viêm, dẫn đến thu hút các loại tế bào viêm khác nhau vào phổi như: bạch cầu trung tính, đại thực bào, tế bào lymphoT, bạch cầu ái toan tương bào, và gia tăng các cytokine, proteinase, thụ thể cytokine hòa tan; sự gia tăng các tế bào, và các chỉ dấu sinh học liên quan đến mức độ nặng của BPTNMT [14], [19], [45]. [19], [57], [93].

Tình trạng viêm do BPTNMT sự có gia tăng các chỉ dấu sinh học như các cytokine và oxit nitric và sự tăng các chemokine CCL5 gây ra tăng biểu hiện mRNA của gen CXCL5, IL-6, CXCL8 và IL-1  $\beta$  ở đợt cấp nặng BPTNMT và sự tăng bạch cầu đa nhân trung tính dẫn đến tăng biểu hiện mRNA của gen CXCL5 dẫn đến mã hóa chất hấp dẫn bạch cầu trung tính từ biểu mô như: CXCL-8 (IL-8), CXCR-1 và CXCR-2 [21], [41], [79], [109]. Sự phân mảnh ty thể, phân nhánh và giảm cristae có liên quan đến mức độ tăng IL-6, CXCL8 và IL-1  $\beta$  và với các tính năng lão hóa [109]. Rối loạn chức năng ty thể có thể là một mục tiêu điều trị ở BPTNMT [31].

#### **1.4.2.4 Gia tăng miễn dịch, hoạt hóa tế bào lympho T CD4+ và CD8+**

Ở BPTNMT có tình trạng đáp ứng miễn dịch rất mạnh, được đặc trưng bởi hoạt hóa tế bào lympho T, lympho B, tăng sinh loại tế bào lympho T tác động: Th1, Th2 và kèm theo là hiện tượng hóa ứng động đến phổi. Tình trạng đáp ứng miễn dịch ở BPTNMT làm gia tăng số lượng tế bào lympho T CD4+ và CD8+, đại thực bào và tăng biểu hiện HLA-DR (CD8 và HLA-DR antigens) [30], [105].

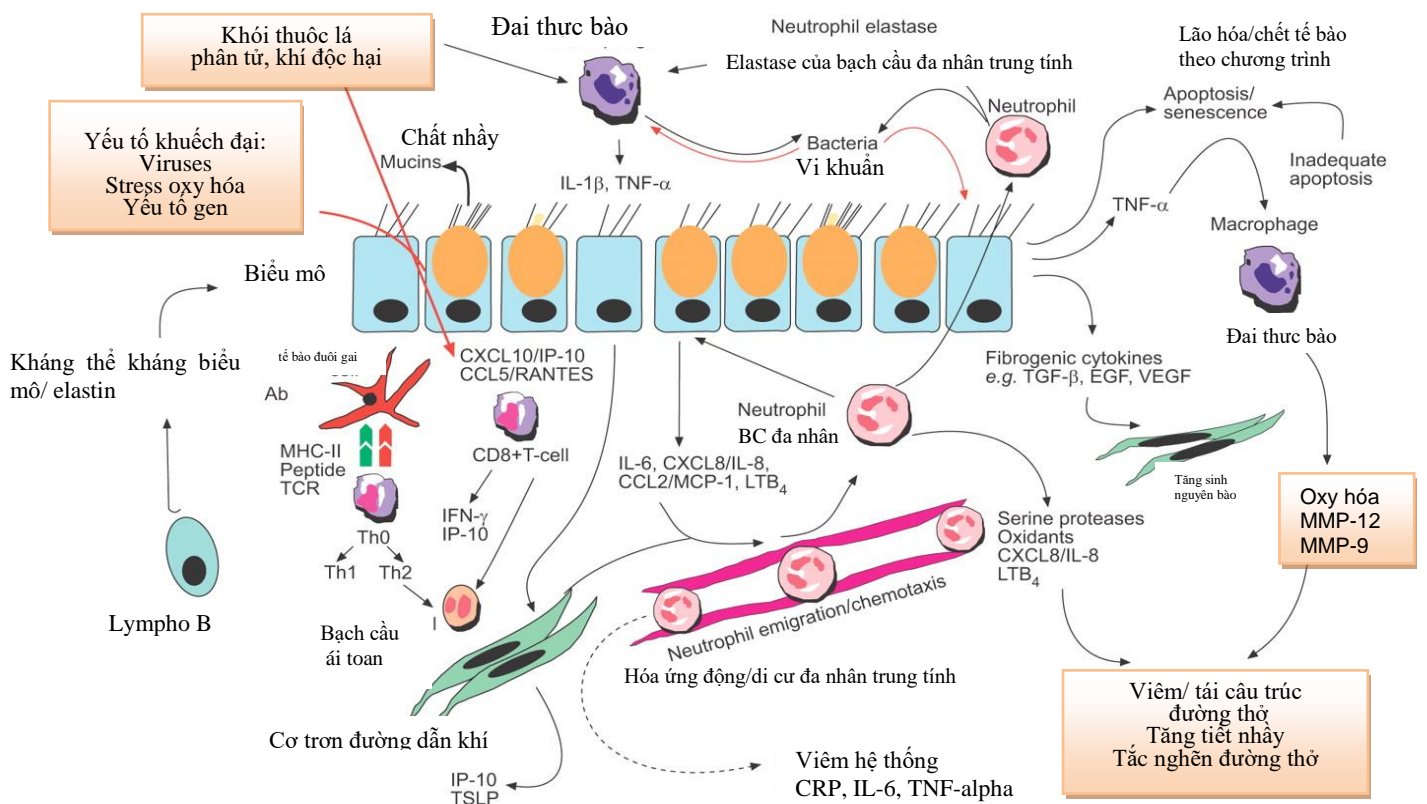
#### 1.4.2.5 Gia tăng các phân tử kết dính CD11b và CD44

Gia tăng các phân tử kết dính CD11b và CD44 - là chất thúc đẩy sự kết dính tế bào trong BPTNMT, có sự kết dính các bạch cầu đa nhân trung tính dưới niêm mạc ở giai đoạn nặng [126].

### 1.4.3 Cơ chế bệnh sinh BPTNMT

#### 1.4.3.1. Cơ chế bệnh sinh

Cơ chế bệnh sinh BPTNMT gồm rất nhiều yếu tố tác động: tình trạng viêm và gia tăng chất trung gian gây viêm, mất cân bằng miễn dịch, yếu tố gen, stress oxy hóa, yếu tố vi khuẩn, mất cân bằng proteinase - antiproteinase dẫn đến phá hủy phế nang và tái cấu trúc mô trong BPTNMT [30].



**Sơ đồ 1.2: Cơ chế bệnh sinh BPTNMT**  
 “Nguồn: Chung K. F, 2008” [30]

Viết tắt: ab: antibody; Th: T - helper cell; MHC: major histocompatibility complex; TCR: T - cell receptor; CXCL: CXC chemokine ligand; IP: interferon (IFN)-c-inducible protein; CCL: CC chemokine ligand; RANTES: regulated on activation, normal T - cell expressed and secreted; TSLP: thymic stromal lymphopoietin; IL: interleukin; TNF: tumour necrosis factor; MCP: monocyte chemotactic protein; LT: leukotriene; CRP: C - reactive protein; TGF: transforming growth factor; EGF: epidermal growth factor; VEGF: vascular endothelial growth factor; MMP: matrix metalloproteinase.

Sơ đồ 1.2: cho thấy tóm tắt phản ứng viêm và tương tác tế bào khi đường dẫn khí khi phổi nhiễm với thuốc lá, phân tử độc hại, khí độc hại dai dẳng dẫn đến hình thành tình trạng viêm mạn tính trong BPTNMT, dẫn đến hoạt hóa các bạch cầu trung tính, đại thực bào, các tế bào biểu mô, tế bào đuôi gai, tế bào lympho T (th1, th2, CD8+), tế bào lympho B, các nguyên bào sợi và tế bào cơ trơn đường dẫn khí dẫn đến phóng thích gia tăng các cytokine (IL- $\beta$ , IL-6, IL-8, TGF- $\beta$ ...), chemokine (CXCL8/IL8, CXCL10/IP-10, CCL5/RANTES, CCL2/MCP-1...), proteinase (MMP-9, MMP-12), chất oxy hóa, chất trung gian gây viêm (TNF $\alpha$ ), và khuếch đại tín hiệu làm tăng các phản ứng viêm, tất cả quá trình này là nền tảng bệnh học của BPTNMT [30].

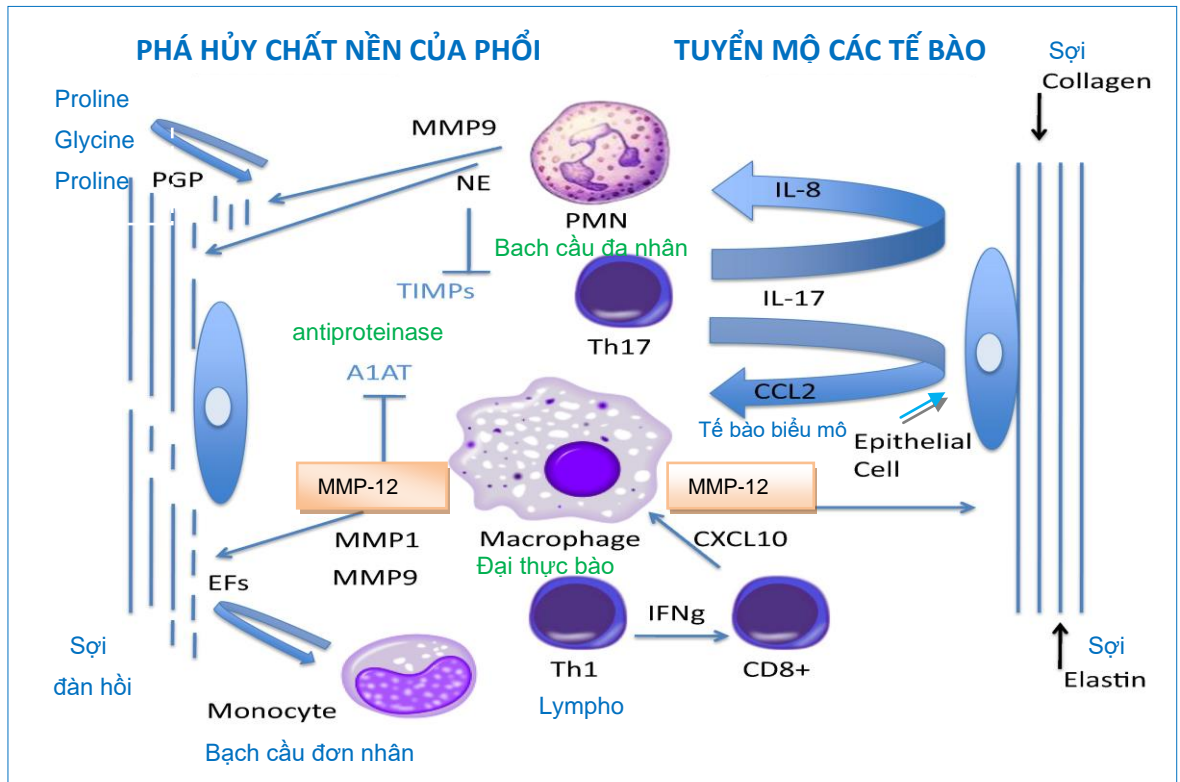
#### **1.4.3.2. Vai trò MMP-12 trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT**

Cơ chế bệnh sinh BPTNMT gồm rất nhiều yếu tố tác động (Sơ đồ 1.2). Trong đó MMP-12 có vai trò quan trọng (Sơ đồ 1.3).

Vai trò MMP-12 trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT là do MMP-12 phá hủy chất nền của phổi, tác động đến các sợi đàn hồi (sợi elastin), và MMP-12 là chất hóa ứng động tuyến mô các tế bào viêm.

Sơ đồ 1.3: cho thấy cơ chế bệnh sinh BPTNMT do MMP-12 và MMP-9: Phần bên phải: mô tả sự tuyến mô các tế bào viêm. Tế bào miễn dịch lympho Th17 phóng thích IL-17, tương tác với thụ thể IL-17 RA trên tế bào biểu mô phổi, dẫn đến phóng thích các cytokine, chemokine CC và CXC (IL-8, CCL-2..). Tế bào lympho Th1 miễn dịch phóng thích IFN $\gamma$  (Interferon gamma – IFN $\gamma$ ) cảm ứng các chemokine từ tế bào lympho CD8 + như CXCL10, CXCR3 tương tác với đại thực bào phóng thích MMP-12. Phần bên trái: mô tả tình trạng phá hủy chất nền của phổi do MMP-12 tác động đến các sợi đàn hồi trong chất nền (sợi elastin) tạo ra các EF<sub>s</sub>

(elastic fibers), các EFs là chất hóa ứng động các tế bào đơn nhân. Tương tự, MMP-9 tác động đến sợi collagen (ở chất nền) tạo ra men hủy protein nội sinh là prolyl endopeptidase tạo ra PGP (Proline-Glycine- Proline), các PGP là chất hóa ứng động các bạch cầu đa nhân trung tính sản xuất neutrophil elastase (NE) ở phổi, trong cơ chế bệnh sinh có sự tham gia của các gen TIMP, gen alpha-1 antitrypsin (A1AT) là gen sản xuất (giải mã) các antiproteinase.



**Sơ đồ 1.3: Cơ chế bệnh sinh BPTNMT do MMP-12**

“Nguồn: Houghton Mc Garry, 2015” [63]

## 1.5 Bệnh cảnh lâm sàng BPTNMT

### 1.5.1 Dấu hiệu lâm sàng

Triệu chứng đặc trưng nhất của BPTNMT là khó thở mạn tính tiến triển, ho có đàm gập ở 30% bệnh nhân, có thể thay đổi theo từng ngày và triệu chứng này có trước sự tắc nghẽn đường dẫn khí trong nhiều năm [53], [54].

Bệnh nhân BPTNMT hầu hết có tiền sử hút thuốc lá, khởi phát trong khoảng tuổi 50 và thường bắt đầu bằng ho khạc đàm mạn tính hoặc bệnh phổi. Khó thở gắng sức thường gặp ở tuổi 60 - 70. Khi bệnh BPTNMT đến giai đoạn tắc nghẽn nặng gây ra sụt cân, tâm phế mạn, rối loạn nhịp tim, rung nhĩ, phù ngoại biên, tràm cảm, mất ngủ [42].



### 1.5.2 Chẩn đoán BPTNMT

Chẩn đoán BPTNMT được dựa theo tiêu chuẩn GOLD 2020 gồm: (1) triệu chứng lâm sàng: khó thở, ho mạn tính có đờm; (2) yếu tố nguy cơ: hút thuốc lá, nghề nghiệp, ô nhiễm môi trường trong, ngoài nhà và (3) phế dung ký có  $FEV_1/FVC < 0,70$  sau dùng thuốc giãn phế quản [43], [45], [53], [54].

### 1.5.3 Phân loại giai đoạn tắc nghẽn BPTNMT

Phân loại giai đoạn tắc nghẽn BPTNMT được căn cứ theo kết quả đo phế dung ký của bệnh nhân và phân loại giai đoạn tắc nghẽn BPTNMT được căn cứ theo thông số  $FEV_1\%$  - dự đoán.

**Bảng 1.1: Phân loại giai đoạn tắc nghẽn BPTNMT**

<b>Phân loại mức độ nặng BPTNMT</b> ( $FEV_1/FVC < 0,70$ và căn cứ theo $FEV_1$ sau dùng thuốc giãn phế quản)	
<b>Giai đoạn I: nhẹ</b>	$FEV_1 \geq 80\%$ dự đoán
<b>Giai đoạn II: vừa</b>	$50\% \leq FEV_1 < 80\%$ dự đoán
<b>Giai đoạn III: nặng</b>	$30\% \leq FEV_1 < 50\%$ dự đoán
<b>Giai đoạn IV: rất nặng</b>	$FEV_1 < 30\%$ dự đoán

“Nguồn: GOLD, 2020” [54]

### Chẩn đoán phân biệt

BPTNMT chẩn đoán phân biệt với một số bệnh: (1) Lao phổi: X quang ngực, xét nghiệm đờm tìm vi trùng lao; (2) Giãn phế quản: chụp cắt lớp ngực lớp mỏng 1mm, độ phân giải cao; (3) Hen phế quản: thường bắt đầu khi còn nhỏ, tiền sử dị ứng, ngoài cơn hen có thể hoàn toàn bình thường; hồi phục hoàn toàn  $FEV_1 / FVC \geq 0,7$  sau dùng thuốc giãn phế quản.

Dao động xung ký (Impulse Oscillometry- IOS) là phương pháp mới để thăm dò các đặc điểm cơ học của hệ hô hấp: sức cản đường dẫn khí, tính giãn nở,...có hữu ích trong chẩn đoán xác định và phân biệt bệnh lý tắc nghẽn đường thở nhỏ.

### 1.5.4 Đợt cấp BPTNMT

Đợt cấp BPTNMT do sự tăng viêm nặng do những yếu tố nguy cơ gây ra, đợt cấp có thể do vi trùng, virus hoặc ô nhiễm môi trường. Trong đợt cấp BPTNMT

có gia tăng bạch cầu đa nhân trung tính trong đàm, gia tăng nồng độ các chất trung gian gây viêm, các chỉ dấu sinh học; trong đợt cấp nặng có sự gia tăng rất nhiều bạch cầu đa nhân trung tính ở thành đường dẫn khí và gia tăng chemokines, các chỉ dấu sinh học [43], [53], [54]. Biểu hiện lâm sàng trong đợt cấp là gia tăng ho có đàm, khó thở, giảm oxy máu..., những bệnh lý khác (viêm phổi, thuyên tắc huyết khối, suy tim cấp) có thể có biểu hiện giống như đợt cấp BPTNMT, hoặc làm nặng thêm tình trạng đợt cấp BPTNMT [54].

### 1.5.5 Các kiểu hình BPTNMT

Trước đây, BPTNMT được chia thành 2 nhóm kiểu hình là kiểu hình type A - là kiểu hình khí phế thũng chiếm ưu thế và kiểu hình type B - là kiểu hình viêm phế quản mạn chiếm ưu thế [50], [81]. Đến năm 2006, tác giả Fujimoto cho biết kiểu hình BPTNMT được phân loại dựa trên ưu thế của khí phế thũng, có 03 kiểu hình: kiểu hình A, E, M [50].

Nghiên cứu của tác giả Keisaku (2006), nghiên cứu về “Phân loại kiểu hình theo hình ảnh theo HRCT (High-Resolution Computed Tomography)”, tác giả kết luận đặc điểm lâm sàng BPTNMT có liên quan hình ảnh học [81].

Nghiên cứu của tác giả Marsh SE (2008), nghiên cứu về “phân loại kiểu hình BPTNMT, và tỉ lệ các kiểu hình, dựa trên bảng câu hỏi và kiểm tra chức năng phổi”, tác giả đề nghị: phân loại bệnh nhân BPTNMT vào nhóm kiểu hình riêng biệt, có ý nghĩa lâm sàng, nghiên cứu [95].

Nghiên cứu của tác giả Peter J Barner (2016) [108] kết luận về vai trò quan trọng các chỉ dấu sinh học liên quan với kiểu hình BPTNMT: "Trong tương lai, điều quan trọng là nhận ra kiểu hình đáp ứng của bệnh để điều trị tối ưu, với sự phát triển về chỉ dấu sinh học sẽ giúp nhận diện các kiểu hình đó" [144].

Trong số các đa hình ở các gen matrix metalloproteinase: đa hình các gen MMP-1, MMP-9 và MMP-12 là MMP-1 -1607G → GG, MMP-9 -1562C → T và MMP-12 N357S được báo cáo rằng chúng có liên quan đến COPD [87].

### 1.5.6 Bệnh đồng mắc với BPTNMT

Nghiên cứu của tác giả Białas Adam và cộng sự (2016) cho biết: khoảng 30% - 40% bệnh nhân BPTNMT có hai hoặc nhiều bệnh đi kèm. Tần số của bệnh đi kèm tăng theo tuổi tác. Tổng hợp nhiều nghiên cứu, tác giả kết luận: tăng huyết

áp, bệnh tim thiếu máu cục bộ, suy tim, tăng huyết áp phổi, đái tháo đường, hội chứng chuyển hóa, bệnh trào ngược dạ dày- thực quản, loãng xương, lo âu và trầm cảm có thể được xem là bệnh đồng mắc phổ biến nhất [24], [28].

## 1.6 Thang điểm CAT và thang điểm mMRC đánh giá tác động của BPTNMT đến sinh hoạt của bệnh nhân

### 1.6.1 Thang điểm CAT

Đánh giá tác động của BPTNMT đến sinh hoạt của bệnh nhân [52], [54].

**Bảng 1.2: Câu hỏi đánh giá tác động của BPTNMT - câu hỏi CAT**

Câu hỏi CAT đánh giá tác động của BPTNMT (The COPD Assessment Test )						Điểm	
Tôi hoàn toàn không ho	1	2	3	4	5	Tôi ho thường xuyên	
Tôi không có chút đàm nào trong phổi	1	2	3	4	5	Trong phổi tôi có rất nhiều đàm	
Tôi không có cảm giác nặng ngực	1	2	3	4	5	Tôi có cảm giác rất nặng ngực	
Tôi không bị khó thở khi lên dốc hoặc lên một tầng lầu	1	2	3	4	5	Tôi rất khó thở khi lên dốc hoặc lên một tầng lầu (gác)	
Tôi không bị hạn chế trong các hoạt động ở nhà	1	2	3	4	5	Tôi rất bị hạn chế trong các hoạt động ở nhà	
Tôi yên tâm ra khỏi nhà dù tôi có bệnh phổi	1	2	3	4	5	Tôi không yên tâm chút nào khi ra khỏi nhà bởi vì tôi có bệnh phổi	
Tôi ngủ ngon giấc	1	2	3	4	5	Tôi không ngủ ngon giấc vì có bệnh phổi	
Tôi cảm thấy rất khỏe	1	2	3	4	5	Tôi cảm thấy không còn chút sức lực nào	
<b>Điểm - TỔNG CỘNG</b>							

“Nguồn: GOLD, 2020” [54]

Bảng câu hỏi CAT (Bảng 1.2) gồm 8 câu hỏi, điểm tổng cộng là 40, điểm càng cao thì ảnh hưởng của BPTNMT đến tình trạng sức khỏe của bệnh nhân càng lớn. Tổng số điểm CAT < 10 được định nghĩa là BPTNMT - ít triệu chứng, ít ảnh hưởng đến sinh hoạt của bệnh nhân; tổng số điểm CAT ≥ 10 được định nghĩa là BPTNMT - nhiều triệu chứng, ảnh hưởng nhiều đến sinh hoạt của bệnh nhân.

### 1.6.2 Thang điểm khó thở mMRC (Modified Medical Research Council)

Tác giả Fletcher tạo ra bảng câu hỏi MRC vào năm 1952 [47].

Bảng câu hỏi sửa đổi của Hội Đồng Nghiên Cứu Y Khoa Anh cải biên (mMRC) (Bảng 1.3) gồm 5 câu hỏi với số điểm thấp nhất là 0 và cao nhất là 4, số điểm càng cao thì mức độ khó thở càng nhiều và ngược lại. Số điểm mMRC < 2 được định nghĩa là BPTNMT - ít triệu chứng, ít ảnh hưởng; số điểm mMRC ≥ 2 được định nghĩa là BPTNMT - nhiều triệu chứng, nhiều ảnh hưởng, [52], [54].

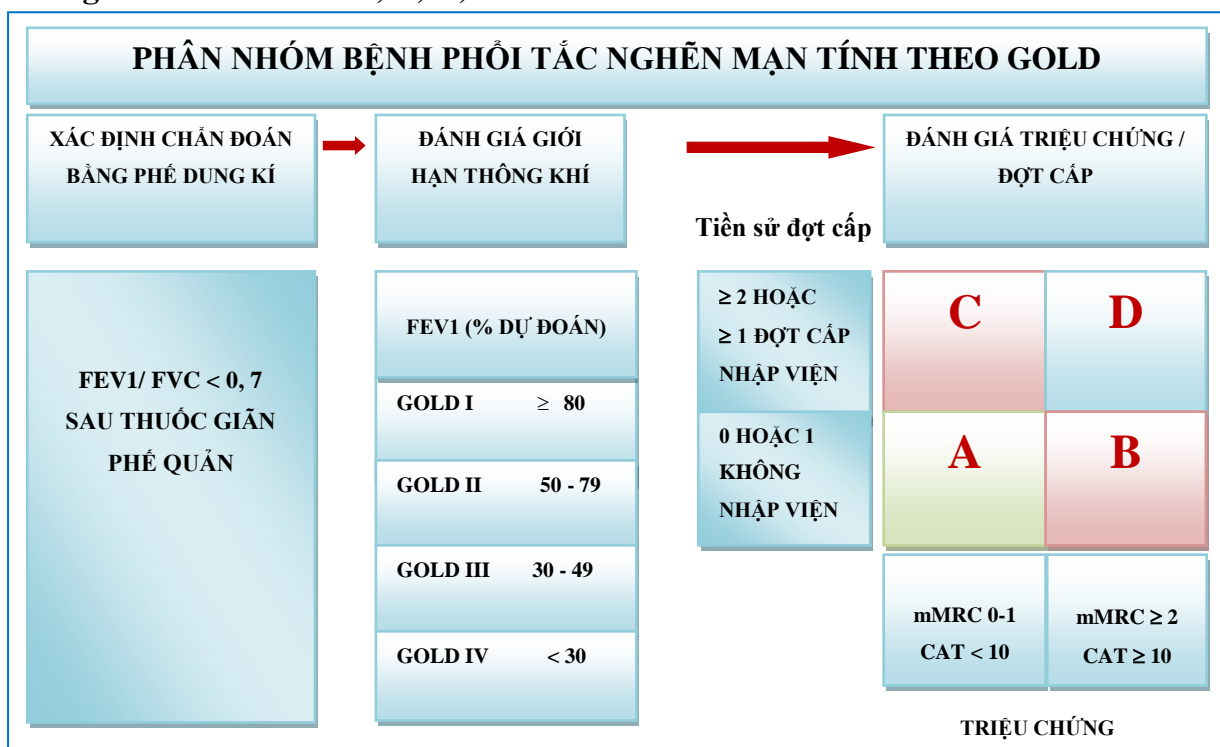
**Bảng 1.3: Câu hỏi đánh giá độ nặng khó thở mMRC**

Đánh giá mức độ khó thở - mMRC	Điểm
Khó thở khi gắng sức mạnh	0
Khó thở khi đi vội trên đường bằng hay đi lên dốc nhẹ	1
Đi bộ chậm hơn người cùng tuổi vì khó thở, hoặc phải dừng lại để thở khi đi cùng tốc độ của người cùng tuổi trên đường bằng	2
Phải dừng lại để thở khi đi bộ khoảng 100 mét hay vài phút trên đường bằng	3
Khó thở nhiều đến nỗi không thể ra khỏi nhà, khi thay quần áo	4

“Nguồn: GOLD, 2020” [54]

### 1.7 Phân nhóm BPTNMT theo GOLD 2020

**Bảng 1.4: Phân nhóm A, B, C, D theo GOLD 2020**



“Nguồn: GOLD, 2020” [54]

BPTNMT được chia thành 4 nhóm A, B, C, D dựa vào: mức độ triệu chứng ảnh hưởng đến sinh hoạt bệnh nhân, thang điểm khó thở mMRC và / hoặc thang điểm CAT và nguy cơ đợt cấp, tiền sử đợt cấp / năm, mức độ nặng đợt cấp [ 2 ].

- Nhóm A - Nguy cơ thấp, ít triệu chứng: có 0 - 1 đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, đợt cấp không nhập viện và mMRC 0 - 1 và/ hoặc CAT < 10.
- Nhóm B - Nguy cơ thấp, nhiều triệu chứng: có 0 - 1 đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, đợt cấp không nhập viện và mMRC  $\geq 2$  và/ hoặc điểm CAT  $\geq 10$ .
- Nhóm C - Nguy cơ cao, ít triệu chứng: có  $\geq 2$  đợt cấp trong vòng 12 tháng qua hoặc 1 đợt cấp nặng phải nhập viện và mMRC 0 - 1 và/ hoặc điểm CAT < 10.
- Nhóm D - Nguy cơ cao, nhiều triệu chứng: có  $\geq 2$  đợt cấp trong 12 tháng qua hoặc 1 đợt cấp phải nhập viện và mMRC  $\geq 2$  và/ hoặc điểm CAT  $\geq 10$ .

## **1.8 Tổng quan Matrix Metalloproteinase (MMP)**

### **1.8.1 Sơ lược về các gen MMP và khái niệm biểu hiện gen**

Các gen MMP sản xuất (giải mã) các protein MMP tương ứng. Các MMP là một họ protein, gồm nhiều loại protein có cấu trúc tương tự nhau, protein MMP có vai trò sinh lí và bệnh lí trong cơ thể.

Động vật có xương sống có 27 loại gen MMP. Riêng, ở con người có 23 loại gen MMP: gen MMP-1, MMP-2,..., MMP-7, MMP-8, MMP-9, MMP-10, MMP-11, MMP-12,... [104], các gen MMP đều nằm trên nhiễm sắc thể số 11; các MMP được sản xuất từ nhiều loại mô và tế bào: mô liên kết, các tế bào tiền viêm, tế bào vùng tử cung- nhau thai, nguyên bào sợi, nguyên bào xương, tế bào nội mô, tế bào cơ trơn mạch máu, đại thực bào, bạch cầu đa nhân, lympho... [90], [104].

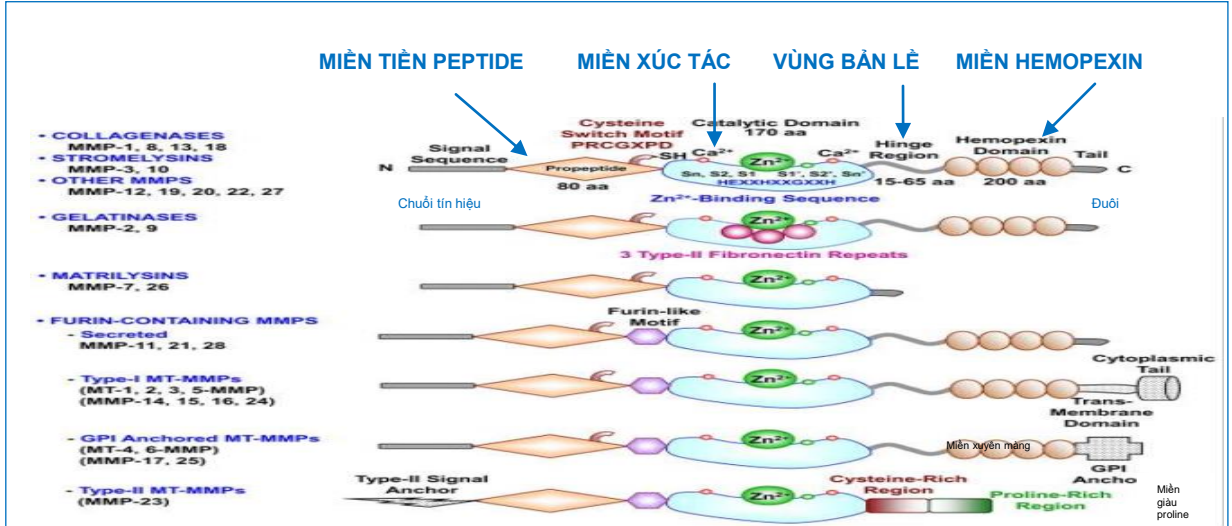
Thông thường mỗi loại gen MMP được kích hoạt do một vài loại tế bào chuyên biệt, ví dụ: proteinase MMP-12 được giải mã từ gen MMP-12 ở 3 loại tế bào đại thực bào, tế bào cơ trơn và nguyên bào sợi; Proteinase MMP- 9 được giải mã ở tế bào nội mô (endothelial cells), và tế bào cơ trơn mạch máu (vascular smooth muscle cell - VSMC) [104].

### **Khái niệm biểu hiện gen (expression gene)**

Biểu hiện gen là quá trình chuyển đổi thông tin di truyền chứa trong gen thành sản phẩm trong tế bào sống, là quá trình tổng hợp ra một phân tử chức năng sinh học hoặc một phân tử RNA hay protein [36].

### 1.8.2 Cấu trúc các Matrix Metalloproteinase (MMP)

Cấu trúc một proteinase MMP điển hình gồm: (1) miền propeptide (miền tiền peptide), (2) miền xúc tác metalloproteinase, (3) vùng liên kết peptide / hinge region (vùng bản lề), và (4) miền hemopexin [104] (Biểu đồ 1.1)

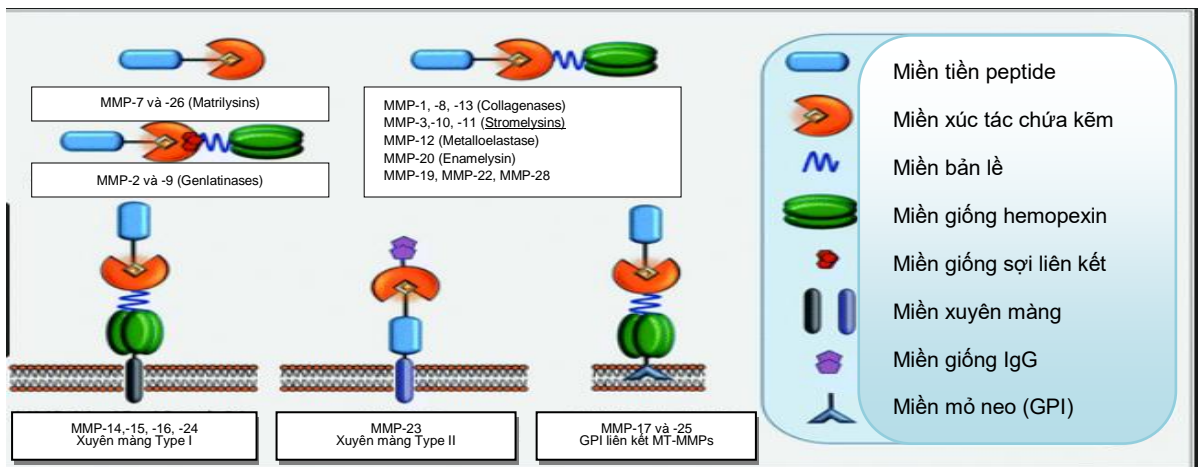


**Biểu đồ 1.1: Cấu trúc một proteinase MMP điển hình**

“Nguồn: Ning Cui và Min Hu, 2017” [104]

### 1.8.3 Phân loại các Matrix Metalloproteinase (MMP) theo chức năng

Các MMP được chia thành các nhóm nhỏ theo chức năng của chúng. Mỗi loại gen MMP sản xuất ra các proteinase khác nhau, ví dụ: gen MMP-12 sản xuất Matrix Metalloproteinase-12, gen MMP- 9 sản xuất gelatinase, các gen MMP-1, MMP-8 và MMP-13 cùng sản xuất collagenase, gen MMP-7, MMP- 26 sản xuất matrylsin...



**Biểu đồ 1.2: Phân loại các MMP theo chức năng**

“Nguồn: Karina Di, 2017” [80]

**1.8.4 Vai trò các MMP và MMP-12 trong quá trình sinh lí và bệnh lí**

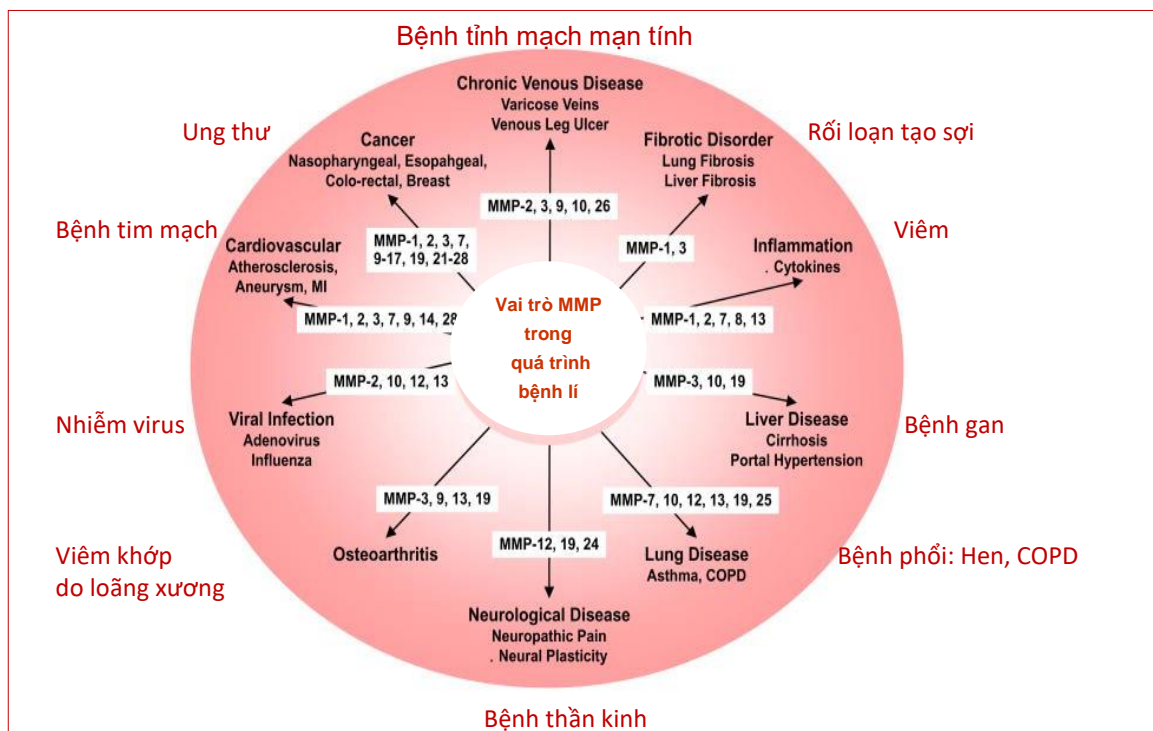
**Trong quá trình sinh lí: Sơ đồ 1.4**



**Sơ đồ 1.4: Vai trò của các MMP trong quá trình sinh lí**

“Nguồn: Ning Cui và Min Hu, 2017” [104]

**Trong quá trình bệnh lí: Sơ đồ 1.5**



**Sơ đồ 1.5: Vai trò MMP trong quá trình bệnh lí và vai trò MMP-12 trong BPTNMT**

“Nguồn: Ning Cui và Min Hu, 2017” [104]



Vai trò của MMP-12 trong quá trình sinh lí bao gồm tăng sinh sinh, di cư và biệt hóa tế bào, tái cấu trúc chất nền ngoại bào, xâm lấn vào các mô để tạo ra mạch máu. Các quá trình sinh lí này diễn ra suốt trong tiến trình phát triển của cơ thể bình thường (Sơ đồ 1.4)

Vai trò của các MMP trong quá trình bệnh lí là do các MMP không được cân bằng hợp lý, chúng có thể góp phần gây ra các bệnh như; hen, BPTNMT, bệnh tim mạch, phình mạch máu, ung thư, tiến triển khối u và xâm lấn mô... (Sơ đồ 1.5)

### 1.8.5 Vai trò MMP-12 trong quá trình sinh lí và bệnh lí

Trong các quá trình sinh lí: gen MMP-12 sản xuất ra proteinase MMP-12 có liên quan đến sự phá vỡ chất nền ngoại bào, có vai trò trong sự phát triển phôi, sinh sản mô và tái tạo mô [148].

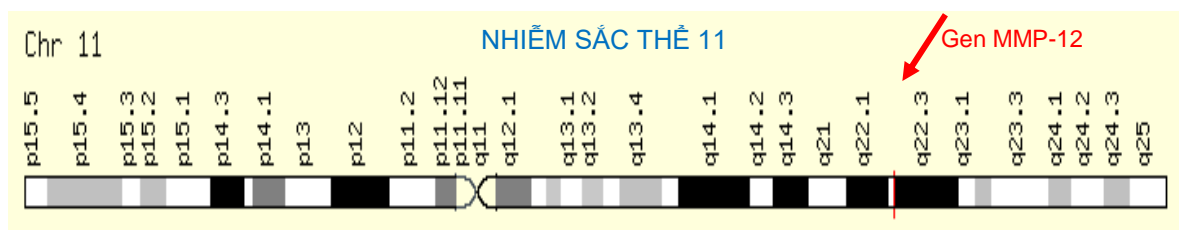
Trong các quá trình bệnh lí: gen MMP-12 sản xuất ra proteinase MMP-12 có liên quan đến sự phá vỡ chất nền ngoại bào [100], có vai trò liên quan đến bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT) và giảm chức năng phổi, gen MMP-12 có thể đóng một vai trò trong viêm khớp và di căn, hình thành phình mạch máu [139], [148], [157].

### 1.8.6 Các proteinase MMP bị ức chế bởi các antiproteinase TIMP (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases)

Trong cơ thể, các MMP (các proteinase) bị ức chế bởi các yếu tố ức chế mô - TIMP (Tissue Inhibitor of Metalloproteinases), các TIMP là các antiproteinase gồm có 4 loại là: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, và TIMP-4 [26], [102], trong cơ thể bình thường có sự cân bằng giữa các MMP với các TIMP.

### 1.8.7 Tổng quan Matrix Metalloproteinase-12 (MMP-12)

Gen MMP-12 là một phần trong cụm gen MMP, gen MMP-12 nằm trong nhiễm sắc thể 11, định vị tại vị trí 11q 22.2, gen MMP-12 sản xuất ra các proteinase MMP-12 (còn gọi là metalloelastase), là men phân giải protein nội sinh [76], [138].



**Biểu đồ 1.3: Vị trí gen MMP-12 trên nhiễm sắc thể.**  
 “Nguồn: Gene MMP12, GeneCards, 2020” [148]



Proteinase MMP-12 được tiết ra từ gen MMP-12 từ 3 loại tế bào: đại thực bào (macrophage), tế bào cơ trơn (smooth muscle cell- SMC) và nguyên bào sợi (fibroblast, nguyên bào sợi định vị trong mô liên kết) [74], [104].

### **1.8.8 Vai trò MMP-12 trong BPTNMT**

MMP là proteinase có vai trò phân hủy protein chất nền ngoại bào, dẫn đến thoái hóa thành phần chất nền (mô liên kết) trong tình trạng sinh lý bình thường và cả trong quá trình bệnh lý [79]. Các MMP phá hủy protein trên thành phế nang dẫn đến BPTNMT [34], [122], [132]. Các MMP kích hoạt tình trạng viêm, tái cấu trúc và giải phóng các yếu tố tăng trưởng sinh sợi, hình thành các loại tổn thương của BPTNMT [34], [90]. Các MMP phối hợp hoạt động với các loại proteinase khác, đồng thời thực hiện một loạt các chức năng tín hiệu tế bào và tương tác với các chemokine gây viêm để tăng hoặc giảm tình trạng viêm. Các tế bào viêm và proteinase đã sản sinh ra elastases phá hủy sợi elastine ở chất nền ở thành phế nang, gây ra khí phế thũng [34]. Sự mất cân bằng proteinase - antiproteinase dẫn đến BPTNMT được khởi đầu do khói thuốc lá gây ra thâm nhiễm tế bào viêm trong đường hô hấp dưới, kể đó các tế bào viêm phóng thích proteinase, và sau cùng là các proteinase phân hủy các chất nền thành phế nang, dẫn đến bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính [70], [72].

MMP-1, MMP-2, MMP-7, MMP-9, MMP-12, các proteinase này có thể làm phân hủy một loạt các thành phần chất nền, bao gồm collagen và elastin... [34], [72]. Vai trò của các MMP, đã được hiểu rõ ràng hơn bởi báo cáo trong nghiên cứu của tác giả Hautamaki (1997) [61] và cộng sự đã chứng minh rằng chuột khi được loại bỏ proteinase MMP-12, chuột này sẽ không phát triển thành BPTNMT khi chuột này bị phơi nhiễm với khói thuốc lá [33], [61]. MMP có thể ngăn ngừa hoặc cải thiện đáng kể bệnh khí phế thũng ở động vật thực nghiệm [61].

### **Các MMP và MMP-12 là chất trung gian gây viêm**

Các MMP thường xuyên phối hợp hoạt động với các proteinase khác, đồng thời thực hiện chức năng tín hiệu trong tế bào và có thể tương tác với các chemokine - gây viêm để kích hoạt hoặc bất hoạt tình trạng viêm [63].

Gia tăng số lượng đại thực bào chứa MMP-12 được tìm thấy trong phổi của người hút thuốc và bệnh nhân BPTNMT. Các đại thực bào thành lập các chất trung

gian gây viêm như TNF- $\alpha$  và dẫn đến BPTNMT do khói thuốc lá [104], [135], [148]. Yếu tố hoại tử khối u là TNF- $\alpha$ , là chất trung gian gây viêm, thường được chuyển đổi từ dạng tiền kết dính với màng, sang dạng hoạt động bởi tác động men chuyển có tên là TNF-a (TACE) [33]. Một vài MMP như: MMP- 1, MMP- 2, MMP- 3, MMP- 7, MMP- 9 và MMP-12 có hoạt động giống men chuyển TNF- a (TACE) [33], [34]. BPTNMT có tăng bạch cầu đa nhân trung tính, đại thực bào, phản ứng viêm cấp tính do sự gia tăng nhiều loại cytokine- gây viêm [104].

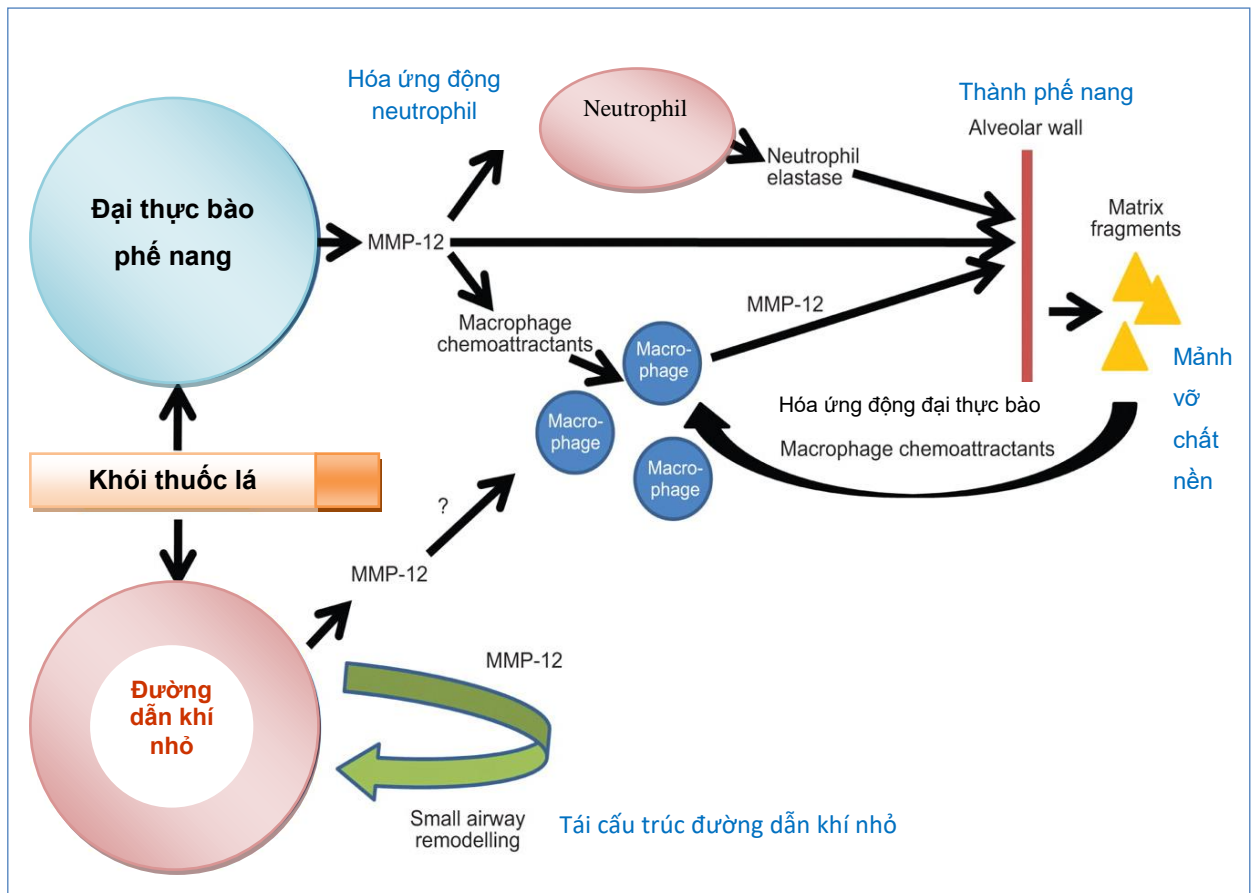
MMP có thể trực tiếp hoặc gián tiếp có vai trò chất tiền viêm, phơi nhiễm với khói thuốc dẫn đến phóng thích chất hóa ứng động PGP (Proline–glycine–proline) từ chất nền ngoại bào, chức năng PGP như là chất hấp dẫn hóa học các bạch cầu trung tính kết dính CXCR2, và PGP được thâm dân, từ đó dẫn đến khí thũng, nguồn gốc PGP là dẫn xuất từ suy thoái collagen [121]. [136]. MMP-12 có thể sản xuất và phóng thích interleukin IL-8 (còn gọi là CXCL8) từ các tế bào biểu mô, thông qua các con đường liên quan đến thụ thể EGFR và kích hoạt kinase điều hòa tín hiệu ngoại bào ERK  $\frac{1}{2}$ . [109]. Khi ức chế hoạt tính xúc tác của MMP-12 với chất ức chế chọn lọc có tên là AS111793, sẽ làm giảm số bạch cầu trung tính khoảng 50%, và đại thực bào khoảng 40% trong dịch rửa phế quản cùng với giảm thụ thể TNF dạng hòa tan, giảm protein gây viêm của đại thực bào, giảm IL-6, KC, CXCL1, CXCL11, TIMP-1 và pro-MMP- 9 [109].

### **1.8.9 Cơ chế sản xuất MMP- 12 và phá vỡ thành phế nang**

Sơ đồ 1.6 cho thấy: đầu tiên, do phổi bị phơi nhiễm khói thuốc lá dai dẳng, khói thuốc lá kích hoạt tế bào cơ trơn mạch máu (vascular smooth muscle) ở đường dẫn khí nhỏ và kích hoạt các đại thực bào (macrophage) ở phế nang sản xuất ra proteinase MMP-12. MMP-12 được sản xuất ra lại là chất hóa ứng động lôi kéo các bạch cầu đa nhân sản sinh ra elastase của bạch cầu đa nhân (neutrophil elastase) tấn công chất nền thành phế nang và tạo ra các mảnh vỡ chất nền. Ở một hướng khác, MMP-12 trực tiếp tấn công chất nền ở thành phế nang và tạo ra các mảnh vỡ chất nền. Các mảnh vỡ lại là chất hóa ứng động thu hút thêm các đại thực bào đến phổi nhiều hơn nữa [34], [65].

Mặc khác, trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT, chất nền của phổi cũng bị tấn công bởi proteinase khác, đó là proteinase MMP-9 (còn gọi là prolyl endopeptidase)

dẫn đến giải phóng ra chất hóa ứng động PGP (prolineglycine- tripeptide proline) gây thu hút bạch cầu trung tính nhiều hơn nữa [34].



**Sơ đồ 1.6: Cơ chế hình thành MMP- 12 và phá vỡ thành phế nang**

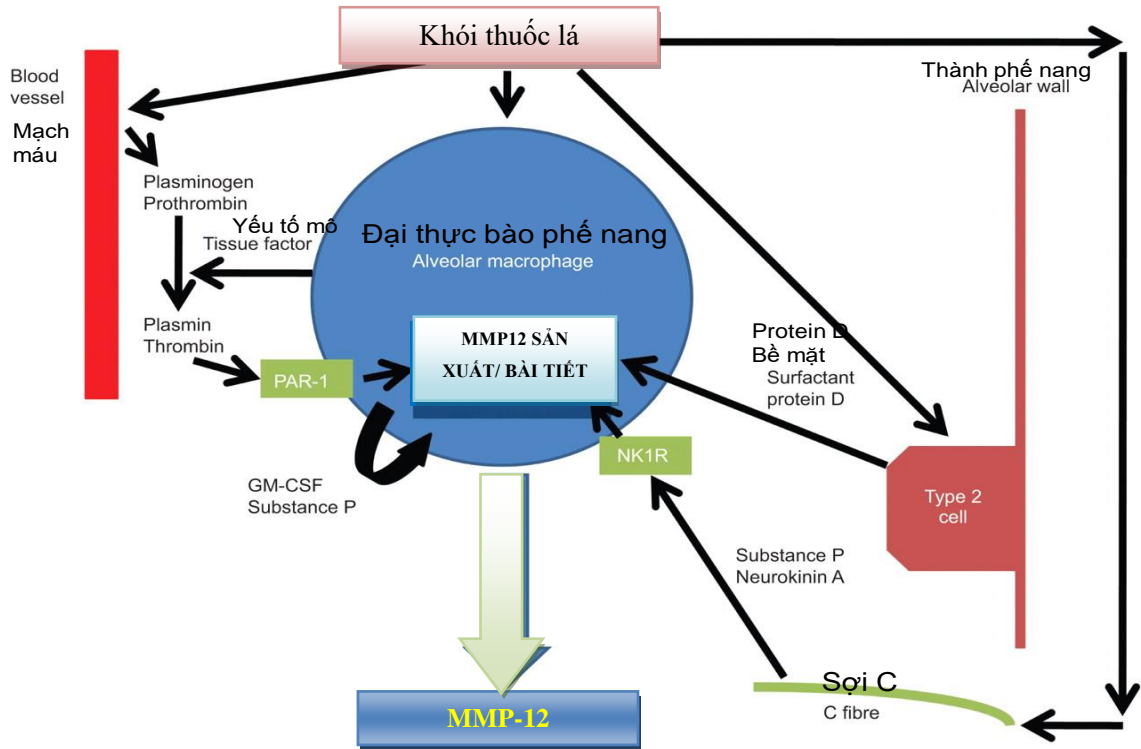
“Nguồn: Churg A, 2012” [34]

### 1.8.10 Những yếu tố thúc đẩy sản xuất Matrix Metalloproteinase - 12 do khói thuốc lá

Phơi nhiễm khói thuốc lá là yếu tố thúc đẩy sản xuất và phóng thích ra proteinase MMP-12 trong BPTNMT.

Sơ đồ 1.7: Khi đường dẫn khí nhỏ bị phơi nhiễm khói thuốc, các mô và mạch máu ở đường dẫn khí nhỏ này sẽ rò rỉ protein từ huyết thanh vào khoang phế nang. Trong số các protein này là plasminogen và prothrombin sẽ được chuyển đổi thành plasmin và thrombin để kích hoạt thụ thể PAR-1 (proteinase activated receptor-1) và dẫn đến sản xuất/ bài tiết ra MMP-12 dưới dạng tiền chất và đồng thời hoạt hóa nó. Ở hướng khác, khói thuốc tác động vào đại thực bào ở phế nang tiết ra yếu tố mô, và yếu tố mô lần lượt kích hoạt plasminogen và prothrombin thành plasmin và

thrombin để kích hoạt PAR-1 và dẫn đến sản xuất / bài tiết ra MMP-12. Plasmin và thrombin là proteinase trong huyết thanh (ngược lại alpha 1-antitrypsin là một chất ức chế proteinase (antiproteinase), có tác động ngăn chặn phóng thích MMP-12.



**Sơ đồ 1.7: Những yếu tố thúc đẩy sản xuất và phóng thích ra proteinase MMP-12 trong BPTNMT**

“Nguồn: Churg A, 2012” [34]

Viết tắt: PAR-1: Proteinase Activated Receptor-1; NK1R: Neurokinin-1 Receptor; GM-CSF: Granulocyte Macrophage Colony-Stimulating Factor.

Ở một hướng khác, khói thuốc kích hoạt sản xuất GM-CSF dẫn đến sản xuất/ bài tiết ra MMP-12 (tác giả Churg A [34] cho biết: khi phổi có kháng thể GM - CSF sẽ ngăn chặn được sự gia tăng MMP-12 và đồng thời giảm bạch cầu trung tính). Ở một hướng khác, các Substance P (SP) là thành viên trong dòng neurokinin A là protein hoạt hóa thần kinh có trong tế bào thần kinh cảm giác, các đại thực bào, các tế bào đuôi gai. Các Substance P kích hoạt thụ thể NK1R dẫn đến sản xuất/ bài tiết ra MMP-12 (tác giả Churg A [34] cho biết: sự thiếu các thụ thể NK1R (tên khác là thụ thể SPR) sẽ giúp cơ thể chống lại bệnh khí phế thũng do khói thuốc lá, là vì sự thiếu các thụ thể NK1R dẫn đến giảm sản xuất MMP-12 ở phổi bị phơi nhiễm khói

thuốc) [25], [40]. Các Substance P có tác động điều hòa MMP-12, do Substance P hoạt hóa NK1R / SPR dẫn đến sản xuất ra MMP-12 trong đại thực bào ở phế nang. [149]. Ở một hướng khác, khi phổi phơi nhiễm khói thuốc lá, các đại thực bào ở phế nang sẽ kích hoạt gia tăng nồng độ surfactant protein-D (SP-D) trong tuần hoàn và gia tăng các neurokinin -1 receptor (NK1R / SPR). Gia tăng nồng độ SP - D dẫn đến sản xuất ra MMP- 12 từ đại thực bào ở phế nang ở bệnh khí phế thũng [34], [120].

## **1.9 Tình hình nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 và biểu hiện các gen MMP ở BPTNMT.**

### **1.9.1 Nghiên cứu trong nước:**

Trong nước chưa thấy nghiên cứu nào về gen MMP-12 trong BPTNMT. Nghiên cứu của tác Lê Thị Huyền Trang, Lê Thị Tuyết Lan, (2012) về “Đột biến gen Matrix Metalloproteinase - 9 (MMP-9) ở bệnh nhân BPTNMT”, cho thấy vai trò của các Matrix Metalloproteinase trong BPTNMT [9].

### **1.9.2 Nghiên cứu nước ngoài:**

Cho đến nay, hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 và nồng độ proteinase MMP-12 ở BPTNMT và ở người hút thuốc lá:

Nghiên cứu của tác giả Molet S và cộng sự (2005) về “sự gia tăng biểu hiện MMP-12 ở phổi bệnh nhân BPTNMT”, tác giả kết luận nồng độ MMP-12 trong đại thực bào tăng cao hơn trong các mẫu dịch rửa phế quản ở BPTNMT so với nhóm chứng và biểu hiện gen MMP-12 tăng cao hơn ở trong các mẫu sinh thiết phế quản ở bệnh nhân BPTNMT so với nhóm chứng [99].

Nghiên cứu của tác giả Woodruff và cộng sự (2005) về “Trạng thái kích hoạt đại thực bào trong phế nang gây ra bởi hút thuốc lá”. Tác giả Woodruff sử dụng microarrays kiểm tra mức độ biểu hiện gen trong các đại thực bào ở phế nang và ở các đại thực bào trong dịch rửa phế quản, nghiên cứu 45 đối tượng gồm: 15 đối tượng hút thuốc lá, 15 không hút thuốc lá, và 15 bị bệnh hen suyễn, tác giả Woodruff cho biết có sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 cao hơn chín lần ở những người hút thuốc lá,  $p = 0,0001$  [143].

Nghiên cứu của Demedts IK và cộng sự (2006) về “Nồng độ MMP-12 tăng trong đàm khạc ra ở bệnh nhân BPTNMT”, các mẫu đàm khạc ra được thu thập từ 28 bệnh nhân BPTNMT ổn định, 14 người khỏe - hút thuốc, 20 người khỏe - không

hút thuốc và 14 người khỏe - ngưng hút thuốc, tác giả Demedts báo cáo: có sự gia tăng mức protein MMP-12 trong đàm của đối tượng BPTNMT so với người khỏe - hút thuốc lá, người khỏe- ngưng hút thuốc và người khỏe - không hút thuốc [39].

Nghiên cứu của Ilumets Helen và cộng sự (2007) [68] về “MMP- 8, MMP- 9, MMP- 12 ở người hút thuốc và bệnh nhân BPTNMT ở giai đoạn 0”, kết quả cho biết: có sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12, MMP-8, MMP-9 và trong đàm ở người bệnh BPTNMT ở giai đoạn 0 và ở người hút thuốc - không có triệu chứng, và nồng độ MMP-12 cũng cao hơn ở người BPTNMT - hút thuốc ở giai đoạn 0 so với người khỏe- không hút thuốc,  $p = 0,04$ .

Nghiên cứu của Babusyte A và cộng sự (2007) về “Các mô hình viêm đường hô hấp và biểu hiện MMP- 12 ở bệnh nhân BPTNMT hút thuốc lá và ngưng hút”. Kết quả cho biết: người bệnh BPTNMT có nồng độ MMP-12 tăng cao hơn so với người khỏe mạnh-hút thuốc và người khỏe mạnh- không hút thuốc [17].

Nghiên cứu của Wallace và cộng sự (2008) về “Biểu hiện MMP trên đại thực bào ở phế nang trong mối liên quan với BPTNMT” tác giả Wallace chứng minh: nồng độ MMP-12 cao hơn trong đại thực bào ở BPTNMT- còn hút thuốc so với người BPTNMT- ngưng hút thuốc [133].

Nghiên cứu của Hunninghake GM và cộng sự (2009) về “Sự liên quan của đa hình nucleotide đơn trong gen MMP-12”, tác giả báo cáo: các biến thể nhỏ rs2276109 (-82ARG) trong chất thúc đẩy (promoter) ở gen MMP-12 có liên quan với làm giảm nguy cơ BPTNMT [64].

Nghiên cứu của Houghton MC và cộng sự (2009) về “Elastase của đại thực bào tiêu diệt vi khuẩn trong các đại thực bào”, tác giả kết luận: vai trò MMP-12 tấn công vào chất nền thành phế nang quan trọng hơn sự tấn công của các proteinase (MMP) khác có nguồn gốc từ bạch cầu trung tính, tác giả cho biết sử dụng yếu tố ức chế MMP - 12 đưa vào cơ thể là cung cấp chất bảo vệ chống lại BPTNMT [63].

Nghiên cứu của Haq I và cộng sự (2010) về “Mối liên quan các đa hình MMP - 12 với BPTNMT - nặng và BPTNMT - rất nặng”, nghiên cứu ở Châu Âu về đa hình nucleotide đơn của các gen MMP - 1, MMP - 9 và MMP - 12, tác giả Haq đã phân loại 26 kiểu đa hình nucleotide đơn trong gen MMP - 1, MMP - 9, MMP -12 trong khoảng 900 bệnh nhân BPTNMT và 900 người khỏe - hút thuốc lá,

tác giả Haq kết luận các haplotype AA của hai đa hình nucleotide đơn của MMP -12 là rs652438 và rs2276109 liên quan với phát triển thành bệnh nặng, ngược lại, các cá thể có những biến thể gen G ở đa hình nucleotide đơn có nguy cơ ít hơn để trở thành bệnh nặng, và các haplotype AA cũng có liên quan làm giảm FEV<sub>1</sub> hơn đáng kể [60].

Nghiên cứu của Van Diemen C và cộng sự (2011) về “sự mất cân bằng giữa MMP / TIMP. Khi nghiên cứu hai đoàn hệ về đa hình nucleotide đơn của gen MMP- 1, MMP- 2, MMP- 9 và MMP- 12, và TIMP- 1, tác giả Van Diemen C báo cáo: chỉ có đa hình nucleotide đơn của gen TIMP- 1 Phe158 Phe có liên quan với giảm FEV<sub>1</sub> [132].

Nghiên cứu của Rekha Chaudhuri và cộng sự (2012) về “Mối liên quan MMP - 12 với mức độ nặng của BPTNMT”, có n = 53 đối tượng gồm 2 nhóm: nhóm BPTNMT- hút thuốc lá và nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc lá, những đối tượng này có mức tắc nghẽn đường dẫn khí nhẹ, trung bình và nặng, và có n = 46 đối tượng gồm: nhóm khỏe mạnh - hút thuốc và nhóm khỏe mạnh - không bao giờ hút. Xét nghiệm nồng độ MMP-12, hoạt tính miễn dịch gen MMP- 12 được định lượng bằng phương pháp ELISA, định lượng biểu hiện gen MMP-12 RNA và cDNA trong PCR được thực hiện bằng bộ kit Qiagen (Germany), tác giả Rekha kết luận: nồng độ MMP-12 và hoạt tính gen MMP-12 ở tế bào đàm bệnh nhân BPTNMT có liên quan trực tiếp với mức độ nặng của BPTNMT [115].

Nghiên cứu của Annelie F. Behndig và cộng sự (2016) về “Chức năng phổi ở bệnh nhân BPTNMT suy giảm liên quan đến MMP-12 và protein surfactant A”, có n = 22 bệnh nhân BPTNMT, gồm có 9 bệnh nhân có chức năng phổi bình thường, và có 13 bệnh nhân có chức năng phổi suy giảm nhanh chóng (tương ứng FEV<sub>1</sub> giảm trung bình hàng năm < 30 ml và > 60 ml), có n = 15 người hút thuốc và có n = 15 người không hút thuốc đều có chức năng phổi bình thường. Tác giả báo cáo: nồng độ MMP-12 trong dịch rửa phế quản ở BPTNMT tăng cao so với những người khỏe mạnh- không hút thuốc (nhóm chứng), p = 0,005. Vì MMP-12 là proteinase phân giải protein dẫn đến sự tái cấu trúc đường dẫn khí trong BPTNMT, do đó sự phá hủy mô phổi có liên quan đến MMP-12, và MMP-12 là một yếu tố quan trọng liên quan đến sự mất chức năng phổi nhanh chóng trong BPTNMT [15].

Nghiên cứu của Taru Aggarwal và cộng sự (2017) về “Các chỉ dấu sinh học của stress oxy hóa và tương tác protein- protein trong BPTNMT”. Mục tiêu nghiên cứu: đo malondialdehyd (MDA), axit uric, axit ascorbic và MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT, có n = 14 đối tượng khỏe mạnh có chức năng phổi bình thường và n = 28 đối tượng BPTNMT gồm GOLD1 và GOLD2. Tác giả cho biết có sự gia tăng về mức độ MMP-12, MDA và axit uric ở bệnh nhân BPTNMT so với nhóm chứng,  $p < 0,001$  [127].

Nghiên cứu của Wendong Hao và cộng sự (2019), tác giả nghiên cứu tìm kiếm nồng độ MMP-12, TIMP- 4 và NE (neutrophile elatase) trong huyết thanh, trong tế bào đơn nhân máu trong máu, và trong hơi thở cô đặc (exhaled breath condensate, EBC) và tìm kiếm vai trò gây viêm của các chất trung gian này trong sinh lý bệnh BPTNMT, so sánh nồng độ của các chất trung gian này ở đợt cấp BPTNMT. Nghiên cứu gồm có n = 35 đối tượng BPTNMT và n = 28 đối tượng nhóm chứng. Nồng độ proteinase MMP-12, TIMP-4 và NE (neutrophile elatase) trong hơi thở cô đặc và huyết thanh được phân tích bằng kỹ thuật ELISA bằng Kit R & D, Wiesbaden-Đức; Mức độ biểu hiện mRNA của gen MMP-12, NE và TIMP-4 trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) được phân tích bằng phản ứng chuỗi polymerase sao chép ngược thời gian thực định lượng (qRT-PCR). Tác giả kết luận mức độ biểu hiện MMP-12, NE và TIMP-4 ở tế bào đơn nhân của máu ngoại biên và huyết thanh đều có gia tăng ở bệnh nhân BPTNMT, lần lượt là  $p = 0,046$ ,  $p = 0,005$  và  $p = 0,027$ ; tỉ số MMP-12 / TIMP4 trong các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (PBMC) khác biệt ở người bệnh BPTNMT so với người khỏe mạnh  $p = 0,0055$ . Mức độ biểu hiện mRNA của gen MMP-12, NE và TIMP-4 gia tăng ở tế bào đơn nhân của máu ngoại biên ở bệnh nhân BPTNMT lần lượt là  $p=0,0067$ ,  $p = 0,0058$  và  $p = 0,0006$ , mức độ biểu hiện MMP-12 mRNA có thể sử dụng để phản ánh mức độ nặng tắc nghẽn của đường dẫn khí. Tuy nhiên, tác giả cho biết các nghiên cứu lớn hơn là cần thiết [137].

Nghiên cứu của Kraen M và cộng sự (2019) về “Matrix Metalloproteinase ở BPTNMT và ở xơ vữa động mạch do ảnh hưởng của khói thuốc lá”, nghiên cứu gồm có n = 417 đối tượng được chia thành 4 nhóm: nhóm I (n =157, không có mảng bám và không có BPTNMT), nhóm II (n =136, có mảng bám nhưng không có



BPTNMT), nhóm III (n = 43, BPTNMT nhưng không có mảng bám) và nhóm IV (n= 81, mảng bám và BPTNMT). Tác giả cho biết MMP-12 huyết thanh tăng nhóm BPTNMT so với nhóm chứng,  $P < 0,0001$ ; ở bệnh nhân BPTNMT có kèm với mảng bám xơ vữa động mạch cảnh có sự gia tăng mức MMP-12 và MMP-1. BPTNMT và mảng bám đồng thời trong động mạch cảnh có liên quan đến mức tăng MMP-1 và MMP-12. Tác giả cho biết: các nghiên cứu tiếp theo là cần thiết, và hai MMP này có thể hữu ích như các dấu ấn sinh học trong lâm sàng [85].

Nghiên cứu của Gilowska và cộng sự (2019), có n=60 BPTNMT, MMP-12 huyết thanh của nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $P < 0,0001$  (6,8 ng/ml so với 3,3 ng/ml,  $F = 7,433$ ,  $p < 0,0001$ ), tác giả nghiên cứu “Vai trò của đa hình gen MMP-12 - 82 A-to-G (rs2276109) trong nghiên cứu sinh lý bệnh miễn dịch ở BPTNMT ở Phần lan ” tác giả phân tích đa hình nucleotide đơn (SNP) - 82 A> G trong vùng kích hoạt của gen MMP-12 (rs2276109) trên 335 bệnh nhân BPTNMT-hút thuốc và 309 người khỏe mạnh, trong đó có 110 người hút thuốc. Ngoài ra, 60 bệnh nhân BPTNMT và 61 nhóm chứng (23 người hút thuốc) đã được kiểm tra nồng độ MMP-12 trong huyết thanh bằng ELISA. Tất cả các đối tượng được phân tích chức năng phổi bằng cách sử dụng phế dung kế (tham số FEV1% và FEV1/FVC), tác giả Gilowska báo cáo: tần số kiểu gen MMP-12 đồng hợp tử -82G và alen -82GG của SNP rs2276109 thấp hơn đáng kể ở bệnh nhân BPTNMT so với nhóm chứng. Mức huyết thanh của MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT cao hơn đáng kể so với nhóm chứng ( $p < 0,0001$ ), Tuy vậy, MMP-12 độc lập với đa hình gen được phân tích. Ngoài ra, tác giả không tìm thấy mối tương quan MMP-12 với FEV1% và FEV1 / FVC. Tác giả kết luận: đối tượng BPTNMT gia tăng biểu hiện MMP-12; MMP-12 ảnh hưởng đến sự phát triển của BPTNMT, phân tử này có thể được cân nhắc trong nghiên cứu tiếp theo như là một chỉ dấu phân tử hữu ích cũng như mục tiêu trong quản lý, điều trị BPTNMT” [51].

### **Tóm lược các nghiên cứu về mức độ biểu hiện MMP-12 ở BPTNMT**

Tóm lược một số nghiên cứu có liên quan về mức độ biểu hiện gen MMP-12 và proteinase MMP-12 ở BPTNMT của các tác giả nước ngoài từ năm 1997 đến năm 2019 được trình bày theo Bảng 1.5 dưới đây:

**Bảng 1.5: Tóm lược một số nghiên cứu về MMP-12 ở BPTNMT**

Năm nghiên cứu	Tên tác giả	Nơi nghiên cứu	Số đối tượng BPTNMT (n)	Tuổi đối tượng BPTNMT	Mức độ biểu hiện MMP-12
1997	Finlay (1997)[46]	Ireland	10	43 - 75	không tăng
2001	Imai K (2001)[69]	Mỹ	23	59± 10,0	không tăng
2005	Molet S (2005)[99]	Mỹ	15	63,7 ± 2,8	tăng
2006	Demedts (2006) [39]	Bỉ	28		tăng
2007	Babusyte(2007) [17]	Lithuania	39	64,2 ± 4.9	tăng
2008	Wallace (2008)[133]	Canada	23		tăng
2010	Lapan G (2010) [86]	Mỹ	38		không tăng
2012	Rekha (2012) [43]	Anh quốc	53	65 (61,2-68,9)	tăng
2016	Annelie (2016) [14]	Thụy điển	22		tăng
2017	Aggarwal (2017) [127]	Ấn độ	28		tăng
2019	Wendong Hao (2019)[137]	Trung Quốc	28	70,9±7,6	tăng
2019	Kraen (2019) [85]	Thụy điển	124	66± 6,2	tăng
2019	Gilowska (2019) [51]	Balan	60	70,4 ± 9,0	tăng

### 1.10 Realtime RT- PCR và phương thức phân tích mức độ biểu hiện gen

#### 1.10.1 Sơ lược các phương pháp xác định mức độ biểu hiện gen MMP-12

Có 3 phương pháp thường được sử dụng để xác định mức độ biểu hiện gen MMP-12 và proteinase MMP-12 là:

(1) Phương pháp đo hoạt tính gen (activity): là kỹ thuật đo mức độ hoạt động gen MMP-12 trên bề mặt tế bào - đại thực bào bằng phương pháp truyền năng lượng cộng hưởng huỳnh quang (fluorescence resonance energy transfer (FRET)).

(2) Phương pháp ELISA - Enzyme-linked Immunosorbent assay (trực tiếp, gián tiếp, sandwich, cạnh tranh, Western blot): là kỹ thuật sinh hóa, phát hiện proteinase MMP-12 dựa trên kết hợp kháng nguyên với kháng thể.

(3) Phương Pháp Realtime RT - PCR: là kỹ thuật sinh học phân tử đo biểu hiện gen MMP-12 từ mẫu mô rất nhỏ, các mRNA ở trong mẫu mô được sao chép

ngược thành các cDNA (complementary DNA) và khuếch đại nhân đôi các phân tử DNA của gen mục tiêu. Phương pháp Realtime RT- PCR có ưu điểm, độ nhạy rất cao, chỉ cần mẫu mô rất nhỏ là thực hiện được. Khác với phương pháp ELISA cần có mẫu mô đủ lượng lớn.

### **1.10.2 Sơ lược Realtime RT- PCR (Realtime Reverse Transcription – PCR)**

Realtime RT-PCR (realtime reverse transcription polymerase chain reaction) là phản ứng chuỗi polymerase (PCR) sao chép ngược thời gian thực, là kỹ thuật được lựa chọn để phân tích biểu hiện mRNA có nguồn gốc từ nhiều nguồn khác nhau. Realtime RT PCR rất nhạy, cho phép định lượng những thay đổi rất nhỏ trong các bản phiên mã (transcripts) trong biểu hiện gen. Realtime RT- PCR dễ thực hiện và cung cấp kết quả định lượng nhanh chóng, chính xác và đáng tin cậy. Phương pháp định lượng được lựa chọn trong Realtime RT - PCR phụ thuộc vào chuỗi gen mục tiêu, lượng mRNA có trong mô, mức độ chính xác cần phải định lượng.

#### **Các phương pháp định lượng mức độ biểu hiện gen và protein**

Có 2 phương pháp định lượng mức độ biểu hiện gen là định lượng tương đối (relative quantification) và định lượng tuyệt đối (absolute quantification) [96].

**Phương pháp định lượng biểu hiện gen tuyệt đối:** được tính bằng kỹ thuật so sánh số chu kỳ ngưỡng (CT) với đường cong chuẩn (standard curve), trên đường cong chuẩn này có biểu thị nồng độ và số lượng bản sao (copies) của DNA.

**Phương pháp định lượng biểu hiện gen tương đối:** không sử dụng đường cong chuẩn, không có nồng độ và số lượng bản sao để so sánh, phương pháp này được tính thông qua xác định trị số chu kỳ ngưỡng (CT) và so sánh trị số chu kỳ ngưỡng giữa các nhóm nghiên cứu theo công thức toán trong PCR. Trong phương pháp định lượng tương đối số chu kỳ ngưỡng (CT) được chuẩn hóa thành số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa ( $\Delta$ CT) giúp cho việc tính toán thật chính xác.

Tóm lược các bước thực hiện định lượng mRNA trong Realtime RT- PCR, được tác giả Martina Reiter (2005) [94] trình bày qua Sơ đồ 1.8 và 1.9 dưới đây:

Phần 1 (Sơ đồ 1.8): Từ mẫu bệnh phẩm (đàm, máu, sinh thiết nhu mô, nuôi cấy tế bào ..) tách chiết được các mRNA, kế tiếp là quá trình sao chép ngược từ các mRNA – được tách chiết này thành các cDNA (complementary DNA) và sự khuếch đại phân tử DNA qua các chu kỳ nhân đôi tạo ra nhiều phân tử DNA mới.

## CÁC BƯỚC THỰC HIỆN ĐỊNH LƯỢNG mRNA SỬ DỤNG REALTIME RT- PCR (Phần 1)

**MẪU MÔ** → **RNA** → **cDNA** → **PCR**

<b>Chuẩn bị Mẫu mô</b>	<b>Tách chiết acid nucleotid</b>	<b>RT= Sao chép ngược</b>	<b>Khuếch đại Real-time RT PCR</b>
<b>Các bước trước khi phân tích</b>			
<u>Phương thức mẫu</u>	<u>Phương thức trích tinh</u>	<u>Hiệu quả RT</u>	<u>Hiệu quả và độ chuyên của Real-time PCR</u>
Sinh thiết	RNA toàn bộ hoặc mRNA cần	Loại men RT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Thiết kế mồi (primer)</li> <li>• Tính chuyên biệt của mồi               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mồi đa chủng</li> </ul> </li> <li>• Sự đầy đủ RNA</li> <li>• cDNA đầu vào</li> <li>• Loại polymerase và sự pha trộn</li> <li>• Tự động và kĩ thuật</li> </ul>
Chất liệu cố định	Pha dịch - dịch	Nhiệt độ khi RT	
Máu tươi	Theo các khối	Mồi Poly-T	
Mẫu mô tồn trữ	Bằng máy (tự động)	Mồi chuyên biệt	
Nitrogen lỏng	Toàn bộ RNA	Sự pha trộn mồi	
RNA	- Sinh học	Bước 1 RT-PCR	
Chiết suất từ dịch đậm đầu tiên	- Hạt nano	Bước 2 RT-PCR	
RNA có sẵn	Lưu trữ RNA -80° C		

### Sơ đồ 1.8: Các bước thực hiện định lượng mRNA sử dụng Realtime RT- PCR

“Nguồn: Martina Reiter, 2005” [94]

## CÁC BƯỚC THỰC HIỆN ĐỊNH LƯỢNG mRNA SỬ DỤNG REALTIME RT- PCR (Phần 2)

**Sản phẩm RT-PCR** → **Phương thức định lượng** → **Thống kê**

<b>Phát hiện và sử dụng phần mềm PCR</b>	<b>Xử lý số liệu CT-chu kì ngưỡng</b>	<b>test</b>
<b>Phương thức phát hiện:</b>	<b>Phương thức định lượng:</b>	<b>Thành công = kết quả có ý nghĩa sinh học</b>
Nhuộm xen kẽ	<b>Định lượng tuyệt đối:</b>	Thống kê sinh học và thông tin sinh học
thế hệ 1, 2,3	- Đường cong chuẩn?	CP so với số lượng phân tử
Sử dụng đầu dò:	- Chuẩn hóa với RG	Bình thường hóa dữ liệu
Taqman, Beacon, Scorpion...	<b>Định lượng tương đối</b>	T - test (?)
Dữ liệu thô và hiệu chỉnh cơ bản	- Mẫu mô, các tế bào, RNA	ANOVA (theo
Điều chỉnh phù hợp với Taqman	- Chuẩn hóa với RG	SAS, SPSS, EXCEL, Sigma Stat
Tối ưu các dẫn suất	- Chuẩn hóa thông qua	Test hoán vị
Phương thức hỗn hợp	chỉ số RG	Test ngẫu nhiên (REST 384)
Phương thức khác:	GeNORM, REST, Bestkeeper	Phân tích hồi quy đa biến
Logitis/sigmoidal/NLR		
Bước 2,3,4 của PCR định lượng	qBASE, qBASE plus	Mô hình đa biến- đa chiều

### Sơ đồ 1.9: Các bước thực hiện định lượng mRNA sử dụng Realtime RT- PCR

“Nguồn: Martina Reiter, 2005” [94]

Phần 2 (Sơ đồ 1.9): Các sản phẩm được tạo ra trong phản ứng RT - PCR đó là các chuỗi DNA gắn với phân tử phát màu huỳnh quang, lúc đầu số chuỗi DNA còn ít, vì vậy tín hiệu màu còn yếu, máy bắt màu huỳnh quang không bắt được tín hiệu màu, sau nhiều lần nhân đôi, số chuỗi DNA nhiều đủ để phát màu và máy luân nhiệt bắt màu huỳnh quang bắt được tín hiệu màu. Trong quá trình ghi nhận cường độ màu phát ra từ các chuỗi DNA, phần mềm của máy sẽ ghi ra thành các chu kỳ ngưỡng của gen, và sau đó là tiến trình xử lý số liệu chu kỳ ngưỡng theo phương pháp định lượng tương đối hoặc tuyệt đối.

Trong việc định lượng, Realtime RT- PCR cần phải đo nồng độ mRNA của gen MMP-12 mục tiêu và đồng thời, cần đo nồng độ mRNA của một gen chứng nội (internal control gene). Có rất nhiều loại gen chứng nội có thể được sử dụng trong Realtime RT- PCR để nghiên cứu biểu hiện gen như:  $\beta$ -actin, GAPDH,  $\beta_2$ -microglobulin, và rRNA..., trong đó gen chứng nội  $\beta$ -actin thường được sử dụng. Thống kê phân tích, đánh giá mức độ biểu hiện gen theo phương pháp định lượng tương đối thông qua sự thay đổi mức độ biểu hiện mRNA (tăng/giảm số lượng bản sao mRNA của gen mục tiêu của mẫu nghiên cứu so sánh với gen mục tiêu của mẫu chứng). Trong nghiên cứu này của chúng tôi, gen mục tiêu là gen MMP-12. Gen chứng nội được sử dụng trong phương pháp định lượng tương đối là các loại gen giữ nhà (house keeping genes), các gen này biểu hiện ổn định ở hầu hết các tế bào ở các giai đoạn phát triển và không bị ảnh hưởng bởi việc xử lý thí nghiệm, mục đích sử dụng gen chứng nội nhằm chuẩn hóa biểu hiện gen, loại trừ những thay đổi do sự khác nhau về lượng mRNA đưa vào hoặc do hiệu quả phiên mã ngược trong nghiên cứu. Trong nghiên cứu của chúng tôi xác định mức độ biểu hiện gen MMP-12 dựa trên phương thức định lượng gen tương đối.

### **1.10.3 Chu kỳ ngưỡng (Cycle threshold - CT) và mối liên quan chu kỳ ngưỡng với mức độ biểu hiện gen**

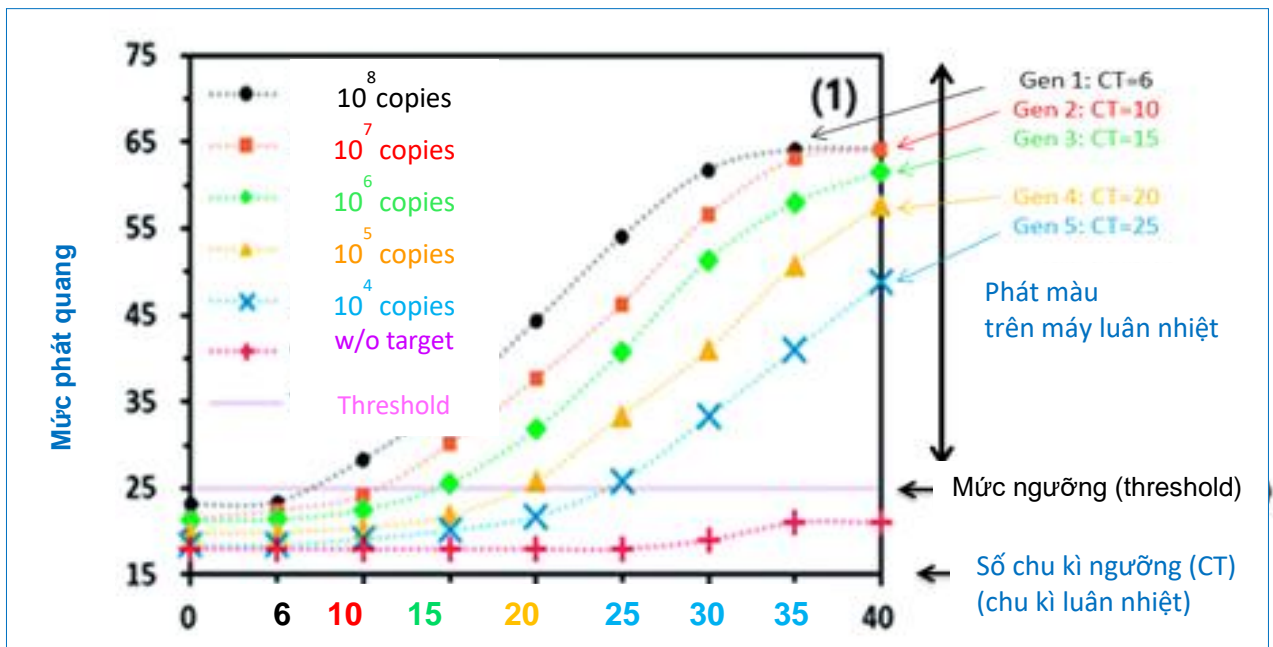
Chu kỳ ngưỡng của gen trong phản ứng Realtime RT- PCR là lúc máy bắt được tín hiệu màu huỳnh quang do phân tử DNA có gắn huỳnh quang phát ra.

Trong phản ứng Realtime RT PCR, mức độ biểu hiện gen mục tiêu được phát hiện bằng máy (máy luân nhiệt) bắt tín hiệu màu được phát ra từ các phân tử DNA trong phản ứng, mức độ biểu hiện gen được tính gián tiếp thông qua số chu kỳ

ngưỡng (CT) hoặc chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa ( $\Delta$ CT), số chu kỳ ngưỡng càng thấp thì mức độ biểu hiện gen mục tiêu càng cao và ngược lại [11], [89], [96], [112], [118].

Sơ đồ 1.10 dưới đây cho thấy số chu kỳ ngưỡng (CT) của gen là được tính từ điểm giao nhau giữa đường biểu diễn của gen đó với mức ngưỡng (threshold), Sơ đồ 1.10 cho thấy số chu kỳ ngưỡng gen 1 (đường biểu diễn màu đen) có số chu kỳ ngưỡng là 6 (CT = 6), gen 2 (màu đỏ) có CT = 10, gen 3 (màu xanh lá) có CT = 15, gen 4 (màu vàng) có CT = 20, gen 5 (màu xanh biển) có CT = 25.

Số chu kỳ ngưỡng (CT) phản ánh mức độ biểu hiện gen. Sơ đồ 1.10 cho thấy có tất cả 6 gen trong sơ đồ này, gen 1 (đường biểu diễn màu đen) có số chu kỳ ngưỡng (CT) là 6 tương ứng với số phân tử DNA là  $10^8$  (cao nhất), gen 2 (màu đỏ) có số chu kỳ ngưỡng (CT) là 10 tương ứng với số phân tử DNA là  $10^7$ , gen 3 (màu xanh lá) có số chu kỳ ngưỡng (CT) là 15 tương ứng với số phân tử DNA là  $10^6$ , gen 4 (màu vàng) có số chu kỳ ngưỡng (CT) là 20 tương ứng với số phân tử DNA là  $10^5$ , gen 5 (màu xanh biển) có số chu kỳ ngưỡng (CT) là 25 tương ứng với số phân tử DNA là  $10^4$  (thấp nhất), gen 6 (màu hồng, nằm dưới mức ngưỡng) là gen lạ lẫn vào bệnh phẩm, không thuộc về mục tiêu nghiên cứu [67]. Như vậy, số chu kỳ ngưỡng (CT) càng thấp thì biểu hiện DNA (gen) càng cao và ngược lại.



**Sơ đồ 1.10: Mối liên quan số chu kỳ ngưỡng (CT) với mức độ biểu hiện gen trong Realtime RT-PCR.**

"Nguồn: HyoYong Kim, 2018" [67]

### 1.10.4 Mức độ biểu hiện gen và tỉ lệ biểu hiện gen

#### 1.10.4.1 Khái niệm về tỉ lệ biểu hiện gen

Trong phản ứng Realtime RT - PCR, do tất cả mẫu đảm đều được chuẩn hóa, và có một nồng độ RNA bằng nhau khi đưa vào sao chép ngược thành các DNA. Vì vậy, tỉ lệ biểu hiện gen là tỉ lệ về số lượng gen (số lượng bản sao DNA) ở 2 nhóm mẫu nghiên cứu, hay số lần gấp hơn (fold) về gen của 2 nhóm mẫu nghiên cứu [89], [98], [118].

Trong nghiên cứu này, tỉ lệ biểu hiện gen MMP-12 giữa nhóm BN BPTNMT so với nhóm chứng là: tỉ số về số lượng gen MMP-12 có trong đảm ở nhóm bệnh nhân BPTNMT so với số lượng gen MMP-12 có trong đảm ở nhóm chứng.

#### 1.10.4.2 Công thức tính mức độ biểu hiện gen và tỉ lệ biểu hiện gen

Mức độ biểu hiện và tỉ lệ biểu hiện gen mục tiêu (target gene) trong phản ứng Realtime RT -PCR khi có sử dụng gen chứng nội (internal control gene) (để chuẩn hóa phản ứng), được ứng dụng công thức toán học của tác giả Schmittgen và Livaka (2001) [89], [98], [118].

**Mức độ biểu hiện gen được phản ánh theo số chu kỳ ngưỡng (CT) và công thức =  $2^{-\Delta CT}$**

Trong đó:

CT : chu kỳ ngưỡng (Cycle Threshold: CT, Ct)

$\Delta CT = Ct$  của gen mục tiêu –  $Ct$  của gen chứng nội

**Tỉ lệ biểu hiện gen được tính theo công thức =  $2^{-\Delta\Delta CT}$**

$$2^{-\Delta\Delta CT} = \frac{2^{-\Delta CT_{\text{mục tiêu}}}}{2^{-\Delta CT_{\text{mẫu chứng}}}}$$

$$\Delta\Delta CT = (Ct_{\text{mục tiêu}} - Ct_{\text{chứng nội}})_{\text{mục tiêu}} - (Ct_{\text{mẫu chứng}} - Ct_{\text{chứng nội}})_{\text{mẫu chứng}}$$

Trong nghiên cứu này được thiết kế theo phương pháp định lượng gen MMP-12 tương đối và sử dụng gen  $\beta$ -actin làm gen chứng nội (để chuẩn hóa phản ứng). Do đó, công thức tính mức độ biểu hiện gen MMP-12 như sau:

$\Delta CT = Ct$  của gen MMP12 –  $Ct$  của gen  $\beta$ -actin

$\Delta\Delta CT = (Ct_{\text{MMP12}} - Ct_{\beta\text{-actin}})_{\text{mục tiêu}} - (Ct_{\text{MMP12}} - Ct_{\beta\text{-actin}})_{\text{mẫu chứng}}$

$$2^{-\Delta\Delta CT} = 2^{-(Ct_{\text{MMP12}} - Ct_{\beta\text{-actin}})_{\text{mục tiêu}} - (Ct_{\text{MMP12}} - Ct_{\beta\text{-actin}})_{\text{mẫu chứng}}}$$

## CHƯƠNG II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1 Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang (cross-sectional study)

### 2.2 Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu là những bệnh nhân được khám và điều trị ngoại trú về bệnh hô hấp tại Bệnh viện Nguyễn Trãi và Bệnh viện Đại Học Y Dược TPHCM.

Các đối tượng trong nghiên cứu đều được tuyển chọn từ phòng khám hô hấp và từ phòng đo phế dung kí của Bệnh viện Nguyễn Trãi và Bệnh viện Đại Học Y Dược, các đối tượng này đến khám bệnh hô hấp và được các bác sĩ của Phòng Khám Hô Hấp cho chỉ định đo phế dung kí. Họ là những bệnh nhân BPTNMT ngoại trú đến tái khám theo định kì mỗi tháng và những người khám sức khỏe tổng quát để tầm soát bệnh BPTNMT.

Đối tượng nghiên cứu gồm có nhóm đối tượng mắc bệnh BPTNMT và nhóm không bệnh BPTNMT. Từ đó, được chia ra thành 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc lá, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá, (3) nhóm khỏe - hút thuốc lá, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc lá.

Nhóm BPTNMT - hút thuốc và nhóm BPTNMT - không hút thuốc là những đối tượng bị bệnh BPTNMT đến tái khám định kì tại khoa hô hấp, bệnh nhân được đo phế dung kí định kì để kiểm tra chức năng phổi.

Nhóm khỏe - hút thuốc là những đối tượng đến kiểm tra sức khỏe - hô hấp, họ có thể có nặng ngực, ho khan, khó thở nhẹ, mau mệt khi gắng sức...; họ được bác sĩ tại phòng khám cho chỉ định đo phế dung kí (những đối tượng này đôi khi có bệnh kèm theo là cao huyết áp và bệnh tim thiếu máu).

Nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng), hầu hết, là những người lớn tuổi, không hút thuốc lá, họ là những đối tượng đến kiểm tra sức khỏe tổng quát tại BV ĐHYD và BV Nguyễn Trãi, họ được bác sĩ phòng khám chỉ định tầm soát bệnh hô hấp, đo phế dung kí (những đối tượng này đôi khi có bệnh kèm theo là cao huyết áp và bệnh tim thiếu máu).

### 2.3 Thời gian và địa điểm nghiên cứu

#### 2.3.1 Thời gian nghiên cứu

Thời gian nghiên cứu từ tháng 6 - 2016 đến tháng 12 - 2018



### 2.3.2 Địa điểm nghiên cứu

Tại phòng khám hô hấp và phòng đo phế dung kí của Bệnh viện Nguyễn Trãi và Bệnh viện Đại Học Y Dược TPHCM, các đối tượng nghiên cứu được khai thác thông tin, đo phế dung kí, lấy đàm kích thích (khạc ra) và mẫu đàm được xét nghiệm tại Trung Tâm Y Sinh Học Phân Tử Đại Học Y Dược.

### 2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu

Nghiên cứu này được thiết kế với mục tiêu là so sánh giá trị trung bình của các biến số, cỡ mẫu nghiên cứu được ứng dụng từ công thức: [3]

Công thức ước tính cỡ mẫu nghiên cứu [3]

$$n = \frac{(Z_{1-\beta} + Z_{1-\alpha/2})^2 (\delta_1^2 + \delta_2^2)}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

Chọn khoảng tin cậy 95% ( $\alpha = 0,05$ ), power ( $1 - \beta$ ) = 80% (0,8)

Kết quả nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 của tác giả Peng Qu [107], cho thấy số chu kì ngưỡng  $\Delta$ CT (đã chuẩn hóa) ở 2 nhóm: nhóm BPTNMT và nhóm chứng lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,30 \pm 2,68$  và  $8,46 \pm 1,66$ .

Căn cứ vào thiết kế nghiên cứu và kết quả nghiên cứu trên, ước tính cỡ mẫu tối thiểu cho mỗi nhóm (theo độ lệch chuẩn của mỗi nhóm):

$$n = \frac{(7,85) (2,68^2 + 1,66^2)}{(7,30 - 8,46)^2} = 57,97$$

Như vậy, cỡ mẫu tối thiểu là 58 đối tượng cho mỗi nhóm nghiên cứu\*.

## 2.5 Xác định các biến số độc lập và phụ thuộc

### 2.5.1 Xác định đối tượng nghiên cứu.

Căn cứ theo tiêu chuẩn chẩn đoán BPTNMT của tổ chức GOLD 2020: Tiêu chuẩn chọn đối tượng mắc bệnh BPTNMT gồm 3 yếu tố: (1) có kết quả phế dung kí FEV1/ FVC < 0,7 sau sử dụng thuốc giãn phế quản salbutamol dạng hít 200mcg x 2 nhát xịt; (2) có triệu chứng lâm sàng (ho khó thở, khạc đàm); (3) có yếu tố nguy cơ (thuốc lá, khói bụi, khí độc hại..).

Căn cứ vào tiền sử bệnh nhân có hút thuốc lá và không hút thuốc, từ đó, chọn ra 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc lá, (2) BPTNMT- không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc và (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Tại Việt Nam, chúng tôi chưa thấy y văn nào định nghĩa về hút thuốc lá,

Chúng tôi chỉ tìm thấy các tiêu chuẩn phân loại bệnh nhân hút thuốc lá và không hút thuốc được dựa theo y văn Trung Tâm Phòng Ngừa và Kiểm Soát Bệnh Tật CDC của Mỹ (CDC - Center for Disease Control and Prevention) [29], và Bộ Y Tế New Zealand [97] như sau:

- Đối tượng - không hút thuốc (never smoker): khi hoàn toàn không hút thuốc hoặc là có hút < 100 điếu thuốc lá trong cuộc đời, hiện tại không hút thuốc lá [29], [97].
- Đối tượng - hút thuốc (smoker): khi hút thuốc > 100 điếu thuốc lá trong cuộc đời, thời gian hút thuốc lá trên 28 ngày [29], [97].
- Đối tượng - ngưng hút thuốc (ex-smoker): là đối tượng hút thuốc lá và ngưng hút thuốc ít nhất  $\geq 28$  ngày [97].

Trong các nghiên cứu về BPTNMT liên quan hút thuốc lá, các tác giả nước ngoài thu thập các dữ liệu, số liệu thuốc lá dựa vào bảng tự khai tiền sử hút thuốc lá của bệnh nhân [92], các tác giả nghiên cứu chọn mẫu đối tượng - có hút thuốc lá được căn cứ trên tiền sử hút thuốc lá nhiều năm, cụ thể là số gói - năm (pack - years) trung bình và thông thường các nghiên cứu có số liệu không đồng nhất với nhau, ví dụ: (1) nghiên cứu của Demedts IK (2006) [39] cho thấy số gói - năm (pack-years) của nhóm BPTNMT- hút thuốc là 42,0 (từ 26 đến 55 gói - năm) và nhóm khỏe - hút thuốc là 35,0 (từ 16 đến 43 gói - năm), (2) nghiên cứu của Ilumets Helen (2007) cho thấy số gói - năm ở nhóm BPTNMT - hút thuốc là 37 gói - năm và nhóm khỏe - hút thuốc là 24 gói - năm, (3) nghiên cứu của Babusyte A (2007) [17] cho thấy số gói - năm ở nhóm BPTNMT - hút thuốc là  $33,4 \pm 5,7$  và nhóm khỏe - hút thuốc là  $28,8 \pm 12,1$ , và tác giả Babusyte A [17] chọn tiêu chuẩn về hút thuốc lá là các đối tượng có ít nhất là 20 gói - năm; (4) nghiên cứu của Rekha Chaudhuri (2012) [115] cho thấy số gói - năm ở nhóm BPTNMT - hút thuốc là 43,0 (từ 39,8 đến 50,5 gói - năm) và nhóm khỏe - hút thuốc là 31,0 (từ 24,5 đến 38,0 gói - năm); Nghiên cứu của chúng tôi có số gói - năm (pack-years) ở nhóm BPTNMT - hút thuốc là  $50,6 \pm 16,7$  gói - năm và nhóm khỏe - hút thuốc là  $46,57 \pm 19,62$  là tương tự với các nghiên cứu nước ngoài.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các nhóm đối tượng - hút thuốc đã hút thuốc với số gói trung bình là 1,26 gói / ngày (từ 0,5 đến 2 gói / ngày) và số năm

trung bình hút thuốc là 42,5 (từ 35 đến 66 năm). Kết quả chúng tôi ghi nhận được là tất cả đối tượng - hút thuốc lá trong nghiên cứu này (gồm nhóm BPTNMT - hút thuốc (n= 112) và nhóm khỏe - hút thuốc (n = 115)) đều có thói quen hút thuốc ít nhất là 0,5 gói / ngày, thời gian hút thuốc ít nhất là 35 năm. Như vậy, tất các đối tượng hút thuốc lá trong nghiên cứu này đều đủ tiêu chuẩn là người hút thuốc lá theo y văn [29], [97].

Căn cứ vào các dữ liệu về định nghĩa hút thuốc lá của CDC Mỹ và Bộ Y Tế Newzealand [29], [97], và căn cứ vào các nghiên cứu nước ngoài về tình trạng hút thuốc lá theo số gói - năm (pack - years), và thói quen hút thuốc của các đối tượng trong nghiên cứu; Nghiên cứu này chọn ra đối tượng - hút thuốc lá là các đối tượng hút thuốc ít nhất là 0,5 gói / ngày, và thời gian hút ít nhất là 35 năm. Các mẫu đối tượng hút thuốc lá không đủ chuẩn trên đều được loại bỏ.

### **2.5.2 Tiêu chuẩn đối tượng mắc bệnh BPTNMT**

Các đối tượng được chẩn đoán mắc bệnh BPTNMT dựa theo tiêu chuẩn của GOLD 2020 là có đầy đủ các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng gồm có:

- Triệu chứng khó thở, ho mạn tính, có đàm
- Có một hoặc nhiều yếu tố nguy cơ: hút thuốc lá, phơi nhiễm nghề nghiệp, ô nhiễm trong, ngoài nhà
- $FEV_1/FVC < 0,7$  sau thuốc giãn phế quản (test phục hồi phế quản bằng thuốc salbutamol dạng xịt định liều 200mcg x 2 nhát xịt (ventoline inhaler))

### **2.5.3 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT- hút thuốc**

Các đối tượng có đầy đủ các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của BPTNMT theo tiêu chuẩn chẩn đoán BPTNMT của GOLD 2020 gồm có:

- Triệu chứng khó thở, ho mạn tính, có đàm
- Có yếu tố nguy cơ: hút thuốc lá [29], [97].
- $FEV_1/FVC < 0,7$  sau thuốc giãn phế quản (test phục hồi phế quản bằng thuốc salbutamol dạng xịt định liều 200mcg x 2 nhát xịt (ventoline inhaler)).

### **2.5.4 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT - không hút thuốc**

Các đối tượng có đầy đủ các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của BPTNMT theo tiêu chuẩn chẩn đoán BPTNMT của GOLD 2020 gồm có:

- Triệu chứng khó thở, ho mạn tính, có đàm,

- Có yếu tố nguy cơ: phơi nhiễm nghề nghiệp, ô nhiễm trong, ngoài nhà
- FEV1/FVC < 0,7 sau thuốc giãn phế quản (test phục hồi phế quản bằng thuốc salbutamol dạng xịt định liều 200mcg x 2 nhát xịt (ventoline inhaler).
- Không hút thuốc lá [29], [97].

#### **2.5.5 Tiêu chuẩn đối tượng khỏe mạnh - không hút thuốc (nhóm chứng)**

Các đối tượng khỏe - không hút thuốc lá (nhóm chứng) được chọn từ những người đến kiểm tra sức khỏe tổng quát và sau khi họ có kết quả phế dung kí là bình thường, nhóm chứng gồm có:

- FEV1/FVC  $\geq$  0,7 sau thuốc giãn phế quản (test phục hồi phế quản bằng thuốc salbutamol dạng xịt định liều 200mcg x 2 nhát xịt (ventoline inhaler)
- Không hút thuốc lá [29], [97]

#### **2.5.6 Tiêu chuẩn đối tượng khỏe mạnh - hút thuốc lá**

Các đối tượng không mắc bệnh BPTNMT, nhưng họ hút thuốc lá (họ là những người đến kiểm tra sức khỏe tổng quát).

- FEV1/FVC  $\geq$  0,7 sau thuốc giãn phế quản (test phục hồi phế quản bằng thuốc salbutamol dạng xịt định liều 200mcg x 2 nhát xịt (ventoline inhaler)
- Hút thuốc lá [29], [97].

#### **2.5.7 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT- ngưng hút thuốc lá**

Các đối tượng có đầy đủ các triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng của BPTNMT theo tiêu chuẩn chẩn đoán BPTNMT của GOLD 2020 gồm có:

- Triệu chứng khó thở, ho mạn tính, có đờm
- Có yếu tố nguy cơ: hút thuốc lá
- FEV1/FVC < 0,7 sau thuốc giãn phế quản (test phục hồi phế quản bằng thuốc salbutamol dạng xịt định liều 200mcg x 2 nhát xịt (ventoline inhaler).
- Ngưng hút thuốc > 1 năm (12 tháng, tính từ lúc ngưng hút thuốc đến lúc lấy đàm nghiên cứu)

Trong nghiên cứu này, đối tượng - ngưng hút thuốc được chọn là đối tượng đã ngưng hút 1 năm, lý do là, các tác giả nước ngoài thường chọn thời gian ngưng hút 1 đến 2 năm, ví dụ: Nghiên cứu của tác giả Anna Maria (2016) [12] chọn đối tượng ngưng hút thuốc lá (ex-smoker) là  $\geq$  1 năm, Nghiên cứu của tác giả Babusyst (2007)

[17] chọn đối tượng ngưng hút thuốc lá (ex-smoker) là  $\geq 2$  năm. Nghiên cứu này không chọn thời gian ngưng hút thuốc  $\geq 28$  ngày, lí do là, 28 ngày là mốc thời gian dễ làm bệnh nhân nhớ nhầm; Thêm vào đó, khói thuốc lá là tác nhân kích hoạt đợt cấp, tăng biểu hiện gen MMP-12, tế bào viêm, chất trung gian gây viêm... và thời gian quá trình viêm ở phổi thường không thể xác định, và có thể kéo dài vài tháng.

#### **2.5.8 Tiêu chuẩn đối tượng có đợt cấp nặng phải nhập viện** (trong năm vừa qua)

Các đối tượng phải nhập viện trong năm vừa qua do đợt cấp BPTNMT nặng (đối tượng này có tiền sử phải nhập viện 12 tháng trước, tính từ thời điểm lấy mẫu đàm nghiên cứu), gồm có:

- Có đợt cấp nặng: gia tăng ho, khó thở, khạc đàm, khò khè, nặng ngực.
- Phải nhập viện (một đợt nhập viện phải nằm viện ít nhất  $\geq 7$  ngày ( 1 tuần))

#### **2.5.9 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT- có nhiều đợt cấp** (trong năm vừa qua)

- Các đối tượng có  $\geq 2$  đợt cấp trong năm vừa qua.
- Một đợt cấp được xác định khi có gia tăng ho, khó thở, khạc đàm, khò khè, nặng ngực ít nhất 3 ngày và uống thuốc toa bác sĩ có sử dụng kháng viêm và kháng sinh.

#### **2.5.10 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT - có ít đợt cấp** (trong năm vừa qua)

- Có 0 - 1 đợt cấp trong năm vừa qua.
- Một đợt cấp được xác định khi có gia tăng ho, khó thở, khạc đàm, khò khè, nặng ngực ít nhất 3 ngày và uống thuốc toa bác sĩ có sử dụng kháng viêm và kháng sinh.

#### **2.5.11 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT - có ít triệu chứng:**

Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT có ít triệu chứng khi có số điểm từ thang điểm mMRC  $< 2$  và/ hoặc điểm CAT  $< 10$

#### **2.5.12 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT - có nhiều triệu chứng:**

Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT có nhiều triệu chứng khi có số điểm từ thang điểm mMRC  $\geq 2$  và/ hoặc điểm CAT  $\geq 10$ .

#### **2.5.13 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT - có nguy cơ thấp:**

Tiêu chuẩn BPTNMT có nguy cơ thấp được phân loại theo GOLD 2020:

Khi có 0 - 1 đợt cấp trong vòng 12 tháng vừa qua, đối tượng có đợt cấp nhưng không phải nhập viện.

#### **2.5.14 Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT - có nguy cơ cao:**

Tiêu chuẩn BPTNMT có nguy cơ cao được phân loại theo GOLD 2020:

Khi đối tượng có  $\geq 2$  đợt cấp trong vòng 12 tháng vừa qua, hoặc  $\geq 1$  đợt cấp nhưng phải nhập viện

#### **2.5.15 Tiêu chuẩn đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (FEF<sub>25-75%</sub> < 0,6) (còn gọi là tắc nghẽn nhỏ sớm)**

Tiêu chuẩn đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ là đối tượng có FEF<sub>25-75%</sub> < 0,6 (Forced Expiratory Flow at 25 - 75%) các đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ được chọn ra từ nhóm khỏe (nhóm khỏe - hút thuốc lá và không hút thuốc)

#### **2.5.16 Tiêu chuẩn đối tượng – không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (FEF<sub>25-75%</sub> $\geq$ 0,6) (còn gọi là không tắc nghẽn nhỏ sớm)**

Tiêu chuẩn đối tượng - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ là đối tượng có FEF<sub>25-75%</sub>  $\geq$  0,6, các đối tượng - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ được chọn ra từ nhóm khỏe (nhóm khỏe - hút thuốc lá và không hút thuốc).

#### **2.5.17 Tiêu chuẩn chọn vào**

Gồm 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc lá, (2) BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc và (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng). Được chuẩn đoán BPTNMT theo tiêu chuẩn GOLD 2020. Nhóm khỏe là nhóm không BPTNMT. Đối tượng hút thuốc lá và không hút thuốc được dựa theo y văn Trung Tâm Phòng Ngừa và Kiểm Soát Bệnh Tật CDC của Mỹ [29]

#### **2.5.18 Tiêu chuẩn loại trừ**

- Bệnh nhân có bệnh phổi khác như: hen, lao phổi, giãn phế quản
- Bệnh nhân đã phẫu thuật cắt phổi, bệnh ung thư phổi, ung thư khác.
- Có đợt cấp trong vòng 2 tháng trước đó (do đợt cấp làm thay đổi tỉ lệ và thành phần tế bào trong đàm) [115].
- Đối tượng không khạc đàm được, hoặc không đủ đàm.

#### **2.5.19 Xác định các biến số độc lập và biến số phụ thuộc**

Các biến số độc lập và biến số phụ thuộc, cách tính các biến số, được trình bày trong Bảng 2.1

**Bảng 2.1: Tên biến số và cách tính các biến số trong nghiên cứu**

<b>TÊN BIẾN SỐ</b>	<b>CÁCH TÍNH BIẾN SỐ</b>
Tuổi	Số tuổi = năm thực hiện nghiên cứu – năm sinh đối tượng
Nhóm tuổi	Các đối tượng được chia làm 3 nhóm tuổi <60 tuổi, 60 - 69 tuổi, $\geq 70$ tuổi
Giới tính	Nam, Nữ
Đối tượng không hút thuốc lá	Đối tượng hoàn toàn không hút thuốc hoặc là đối tượng hút < 100 điếu trong đời, tính tại thời điểm phỏng vấn [29],[97].
Đối tượng hút thuốc lá	Đối tượng hút thuốc $\geq 10$ điếu mỗi ngày ( $\geq 0,5$ gói/ ngày) và thời gian hút thuốc ít nhất là $\geq 35$ năm. .
Số gói thuốc - năm (pack-years)	Số gói hút mỗi ngày X số năm đối tượng đã hút
Số năm bệnh nhân đã hút thuốc	Tính từ năm đối tượng bắt đầu hút thuốc đến thời điểm phỏng vấn (hoặc năm ngưng hút)
Nhóm BPTNMT	Đối tượng có đủ tiêu chuẩn BPTNMT theo GOLD 2020: có (1) FEV1/FVC < 0,7 sau sử dụng thuốc giãn phế quản, (2) có triệu chứng lâm sàng và (3) có yếu tố nguy cơ.
Nhóm BPTNM - không hút thuốc	Đối tượng có đủ tiêu chuẩn BPTNMT theo GOLD 2020: có FEV1/FVC < 0,7 sau thuốc giãn phế quản, có triệu chứng lâm sàng và không hút thuốc [29], [79].
Nhóm BPTNMT - hút thuốc	Đối tượng có đủ tiêu chuẩn BPTNMT theo GOLD 2020: có FEV1/ FVC < 0,7 sau thuốc giãn phế quản, có triệu chứng lâm sàng và hút thuốc $\geq 10$ điếu mỗi ngày ( $\geq 0,5$ gói/ ngày) và thời gian hút thuốc ít nhất là $\geq 35$ năm.
Nhóm BPTNMT - ngưng hút thuốc	Đối tượng có đủ tiêu chuẩn BPTNMT theo GOLD 2020: có FEV1/FVC < 0,7 sau thuốc giãn phế quản, có triệu chứng lâm sàng và ngưng hút thuốc > 1 năm (12 tháng, tính từ lúc ngưng hút đến lúc lấy đàm nghiên cứu )
Nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng )	Đối tượng có FEV1/ FVC $\geq 0,7$ sau thuốc giãn phế quản, không hút thuốc lá [29], [79]
Nhóm khỏe - hút thuốc	Đối tượng có FEV1/FVC $\geq 0,7$ sau thuốc giãn phế quản, và

	hút thuốc $\geq 10$ điếu mỗi ngày ( $\geq 0,5$ gói/ ngày) và thời gian hút thuốc ít nhất là $\geq 35$ năm.
Nhóm giai đoạn tắc nghẽn: GOLD I, GOLD II GOLD III, GOLD IV	Giai đoạn I: nhẹ, $FEV1 \geq 80\%$ dự đoán Giai đoạn II: vừa, $50\% \leq FEV1 < 80\%$ dự đoán Giai đoạn III: nặng, $30\% \leq FEV1 < 50\%$ dự đoán Giai đoạn IV: rất nặng, $FEV1 < 30\%$ dự đoán
Nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ	Các đối tượng trong nhóm khỏe - hút thuốc, nhưng họ có $FEF_{25-75\%}$ - dự đoán $< 60\%$ (căn cứ theo phế dung kí)
Đối tượng BPTNMT - có nhiều đợt cấp	Đối tượng có từ $\geq 2$ đợt cấp trở lên (trong năm vừa qua)
Đối tượng BPTNMT - có ít triệu chứng	Đối tượng có số điểm từ thang điểm mMRC $< 2$ và/ hoặc điểm CAT $< 10$ .
Đối tượng BPTNMT - có nhiều triệu chứng	Đối tượng có số điểm từ thang điểm mMRC $\geq 2$ và/ hoặc điểm CAT $\geq 10$ .
Đối tượng BPTNMT - có nguy cơ thấp	Khi có 0 - 1 đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, đợt cấp không nhập viện. (tiêu chuẩn BPTNMT- nguy cơ thấp theo phân loại GOLD 2020)
Đối tượng BPTNMT - có nguy cơ cao	Khi có $\geq 2$ đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, hoặc 1 đợt cấp phải nhập viện (tiêu chuẩn BPTNMT- nguy cơ cao theo phân loại GOLD 2020)
Đối tượng có đợt cấp nặng phải nhập viện (trong năm vừa qua)	Đối tượng có đợt cấp nặng phải nhập viện trong vòng 12 tháng trước (năm vừa qua), một đợt cấp nằm viện ít nhất $\geq 7$ ngày (1 tuần)
Số chu kì ngưỡng - CT của gen MMP-12	Kết quả số chu kì ngưỡng gen MMP-12 trong mẫu đàm được ghi nhận từ máy Realtime RT-PCR.
Số chu kì ngưỡng - CT của gen $\beta$ -Actin	Kết quả chu kì ngưỡng gen $\beta$ -Actin trong mẫu đàm được ghi nhận từ máy Realtime RT- PCR
Các thông số hô hấp: $FEV1(L)$ , $FEV1/FVC$ , $FEV1\%$ , $FEF_{25-75\%}$ dự đoán	Kết quả các giá trị thông số hô hấp được ghi nhận từ máy đo phế dung kí.



## **2.6. Phương pháp và công cụ đo lường, thu thập số liệu**

### **2.6.1 Phương pháp nghiên cứu**

Có nhiều loại bệnh phẩm có thể được sử dụng trong nghiên cứu biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT, ví dụ: đàm kích thích, dịch rửa phế quản, huyết thanh, nhu mô phổi, nuôi cấy tế bào của nhu mô phổi...

Có 3 phương pháp thường được sử dụng để đo biểu hiện gen MMP-12 và proteinase MMP-12 ở BPTNMT. Mỗi phương pháp đều có những ưu điểm và khuyết điểm: (1) phương pháp đo hoạt tính gen MMP-12 (là kỹ thuật đo mức độ hoạt động gen MMP-12 trên bề mặt tế bào đại thực bào, kỹ thuật này chưa thấy thực hiện ở Việt Nam), (2) phương pháp ELISA để định lượng proteinase MMP-12 (là kỹ thuật sinh hóa - miễn dịch, kết hợp kháng nguyên - kháng thể, kỹ thuật này không đắt tiền, nhưng có thể sai sót nếu có kháng nguyên lạ trong mẫu thử), (3) phương pháp Realtime RT- PCR (kỹ thuật sinh học phân tử, sao chép RNA, nhân đôi DNA, khuếch đại các phân tử, do đó chỉ cần mẫu mô nhỏ, kỹ thuật này chính xác cao, nhưng đắt tiền).

Trong nghiên cứu này về biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm, mẫu mô đàm được chọn, lý do là, việc lấy mẫu đàm kích thích là kỹ thuật không xâm lấn, và chọn phương pháp Realtime RT - PCR; lý do là, kỹ thuật sinh học phân tử có độ nhạy và đặc hiệu rất cao, phản ứng này cần mẫu mô rất nhỏ (do gen được sao chép ngược từ RNA trong đàm, khuếch đại, nhân đôi DNA) và do kỹ thuật sinh học phân tử Realtime RT - PCR thực hiện tại phòng Y Sinh Học Phân Tử ĐHYD.

### **2.6.2 Công cụ đo lường trong nghiên cứu**

Các công cụ đo lường chính trong nghiên cứu:

- Máy đo phế dung kí (KoKo Nspire Health USA), máy phun khí dung siêu âm (Polygreen Kn-9210 Germany, 2-5  $\mu$ m), các thiết bị này được trang bị sẵn tại Phòng Khám Hô Hấp Bệnh viện Nguyễn Trãi và BV ĐHYD TPHCM.
- Máy luân nhiệt trong Realtime RT- PCR, máy ly tâm tốc độ cao, máy ủ đồng, kính hiển vi nhận diện tế bào trong đàm (đại thực bào, đa nhân trung tính...), máy lọc đàm, các tủ, các thiết bị này được trang bị sẵn tại Phòng Y Sinh Học Phân Tử ĐHYD TPHCM
- Bộ Kit thử đàm để tìm biểu hiện gen MMP-12 được sử dụng là bộ Kit

PrimeScript™ 1st strand cDNA (Takara, Nhật Bản).

### **2.6.3 Thu thập số liệu**

Thu thập số liệu, dữ liệu được thực hiện vào buổi sáng tại Phòng Khám Thăm Dò Chức Năng Hô Hấp và Phòng Đo Phế Dung Kí của Bệnh Viện Nguyễn Trãi và Bệnh viện Đại Học Y Dược.

Các đối tượng ký giấy đồng ý tham gia nghiên cứu được khai thác thông tin nhân trắc học, triệu chứng bệnh, tiền sử bệnh, tình trạng hút thuốc lá, số năm hút thuốc lá, số đợt cấp trong năm vừa qua, tình trạng đợt cấp BPTNMT nặng phải nhập viện, số đợt nhập viện trong năm vừa qua, mức độ khó thở theo bảng câu hỏi mMRC, Test đánh giá tình trạng bệnh BPTNMT ảnh hưởng đến sinh hoạt đời sống của bệnh nhân theo số điểm trong bảng câu hỏi CAT.

Thu thập số liệu mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong mẫu đàm được thực hiện trên phản ứng Realtime RT - PCR, được thực hiện tại Phòng Y Sinh Học Phân Tử của ĐHYD TP HCM vào mỗi ngày.

## **2. 7. Quy trình nghiên cứu**

### **2.7.1 Khai thác thông tin bệnh nhân**

Nhóm nghiên cứu khai thác thông tin của bệnh nhân tại Phòng chờ đo phế dung kí; tại phòng này bệnh nhân đã có sẵn giấy chỉ định đo phế dung kí từ các bác sĩ của nhiều phòng khám khác đưa đến (nhóm nghiên cứu không tham gia vào chỉ định đo phế dung kí).

Trước tiên, nhóm nghiên cứu xin đề nghị các đối tượng đồng thuận tham gia nghiên cứu và sau đó lấy thông tin nhân trắc học, tiền sử bệnh, đợt cấp và các biểu hiện lâm sàng (giai đoạn này có nhiều trường hợp từ chối tham gia nghiên cứu).

### **2.7.2 Đo phế dung kí**

Tất cả đối tượng trong nghiên cứu đều được đo phế dung kí (và được bác sĩ đọc kết quả phế dung kí ngay) tại phòng đo chức năng hô hấp, máy đo KoKo Nspire Health USA (BV Nguyễn Trãi và BV ĐHYD đều sử dụng loại máy KoKo), in ra 2 bản ghi kết quả phế dung ký (đối tượng giữ 1 bản và nhóm nghiên cứu giữ 1 bản).

### **2.7.3 Thu thập mẫu đàm được khạc ra**

Các đối tượng tham gia nghiên cứu được phun khí dung với 5ml dung dịch muối đẳng trương NaCl 9<sup>0</sup>/<sub>00</sub> khoảng thời gian 5-7 phút với máy phun khí dung

siêu âm (Polygreen Kn-9210 Germany, 2-5  $\mu\text{m}$ ), tiếp theo đó, các đối tượng khạc đàm ra  $\geq 5\text{ml}$  vào lọ vô trùng.

Mẫu đàm được các đối tượng khạc ra vào buổi sáng, sau khi đo phế dung kí và phun mù với nước muối sinh lí, đàm được chứa trong lọ sạch, đậy nắp kín và giữ ở nhiệt độ phòng khoảng 25-27°C. Trước khi khạc đàm vào lọ các đối tượng được yêu cầu xì mũi và súc miệng nhẹ bằng nước thường (theo quy trình nghiên cứu, lấy đàm kích thích của các giả nước ngoài) [23], [106].

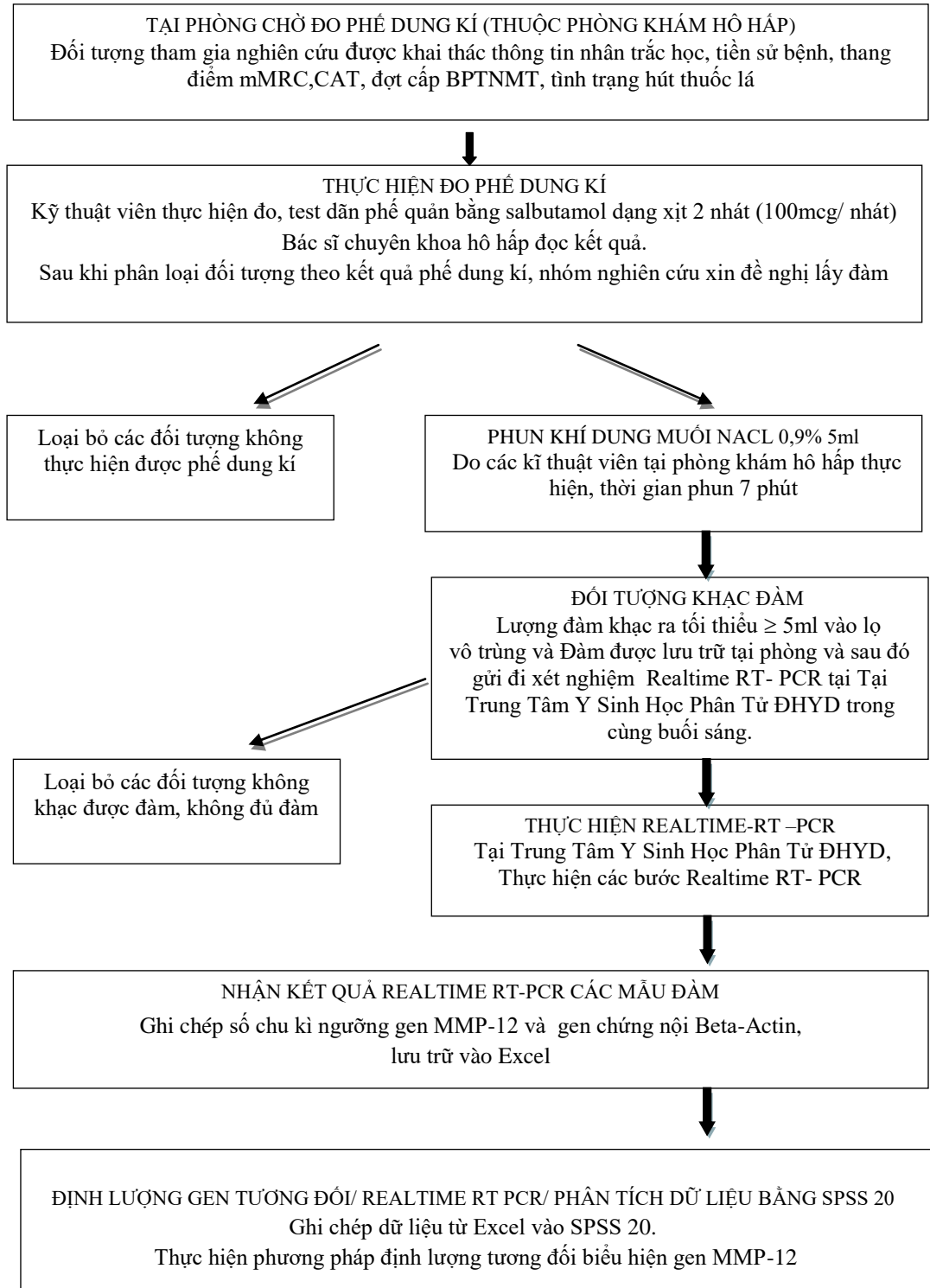
#### **2.7.4 Xét nghiệm mẫu đàm bằng phản ứng Realtime RT- PCR**

Đàm bệnh nhân khạc ra được giữ ở nhiệt độ phòng khoảng 25-27° C, sau đó được nhóm nghiên cứu đem đến Trung Tâm Y Sinh Học Phân Tử của ĐHYD TP HCM thực hiện phản ứng Realtime RT - PCR ở buổi sáng cùng ngày.

Mẫu bệnh phẩm đàm được lấy đủ  $\geq 5\text{ml}$  đàm kích thích. (phản ứng Realtime RT- PCR là khuếch đại gen DNA từ mRNA; Vì vậy, lượng đàm cần có thể ít hơn 5ml). Kết quả phản ứng Realtime RT- PCR về mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm được thu thập vào EXCEL.

### 2.7.5 Sơ lược quy trình nghiên cứu biểu hiện gen MMP-12

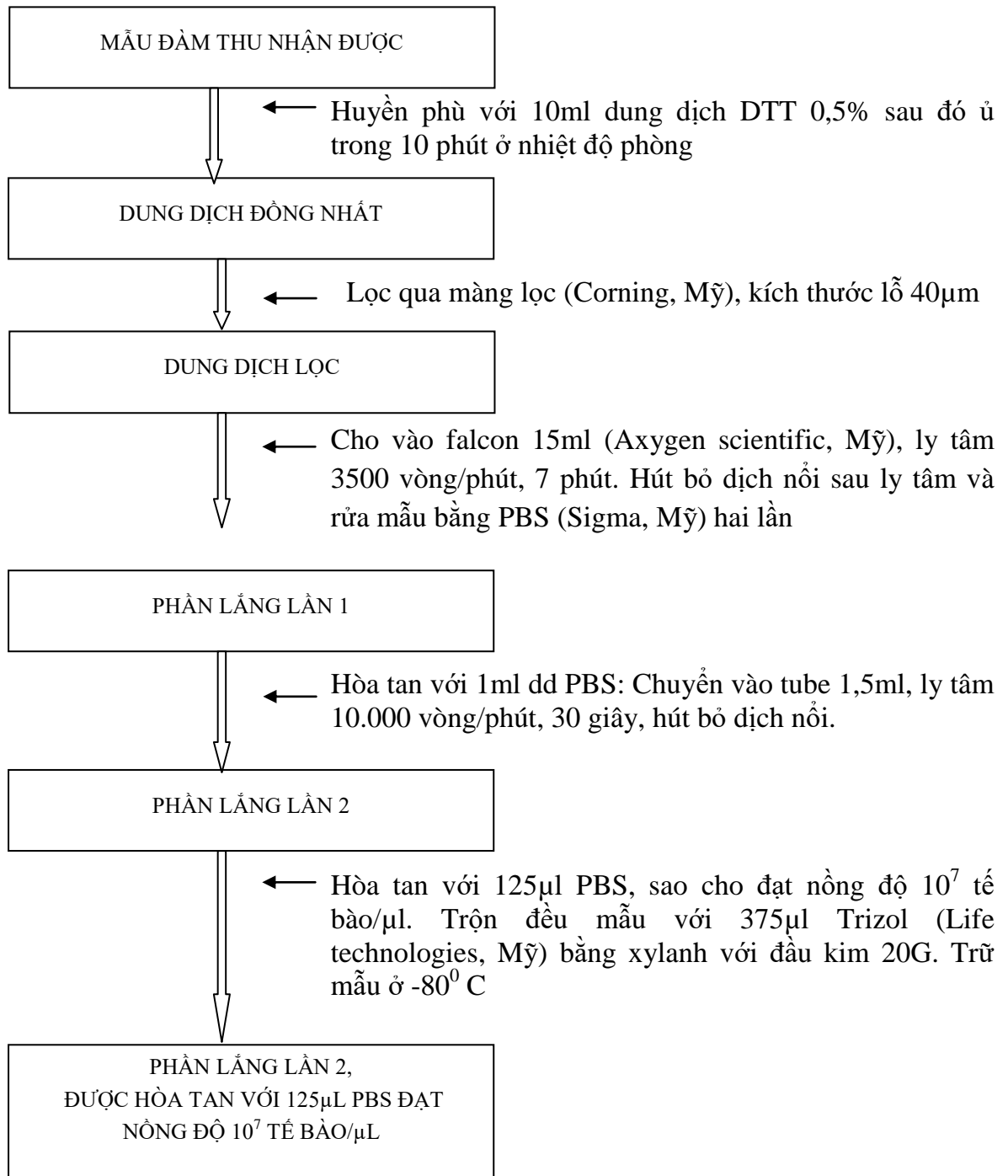
Tất cả các đối tượng tham gia nghiên cứu và các mẫu đàm khạc ra được thực hiện các bước thứ tự theo các sơ đồ dưới đây:



**Sơ đồ 2.1: Sơ đồ quy trình nghiên cứu mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong BPTNMT**

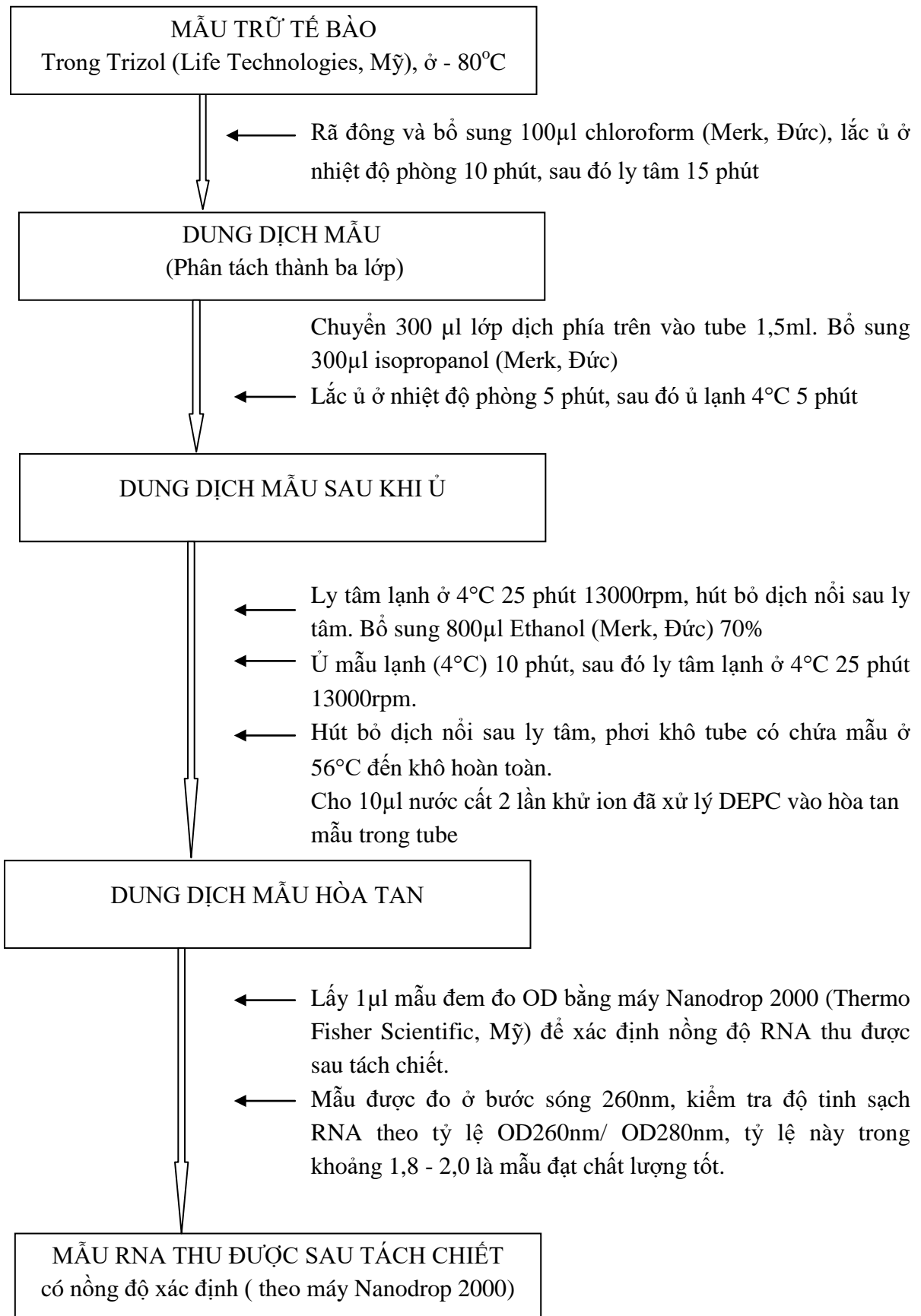
### 2.7.6 Thực hiện phản ứng Realtime RT- PCR .

Thực hiện gồm 4 bước: (1) tách chiết tế bào từ mẫu đàm, (2) tách chiết mRNA từ các tế bào, (3) tổng hợp cDNA từ mRNA mẫu, (4) thực hiện phản ứng Realtime RT- PCR và ghi nhận số chu kì ngưỡng bằng máy luân nhiệt - bắt màu huỳnh quang [11]

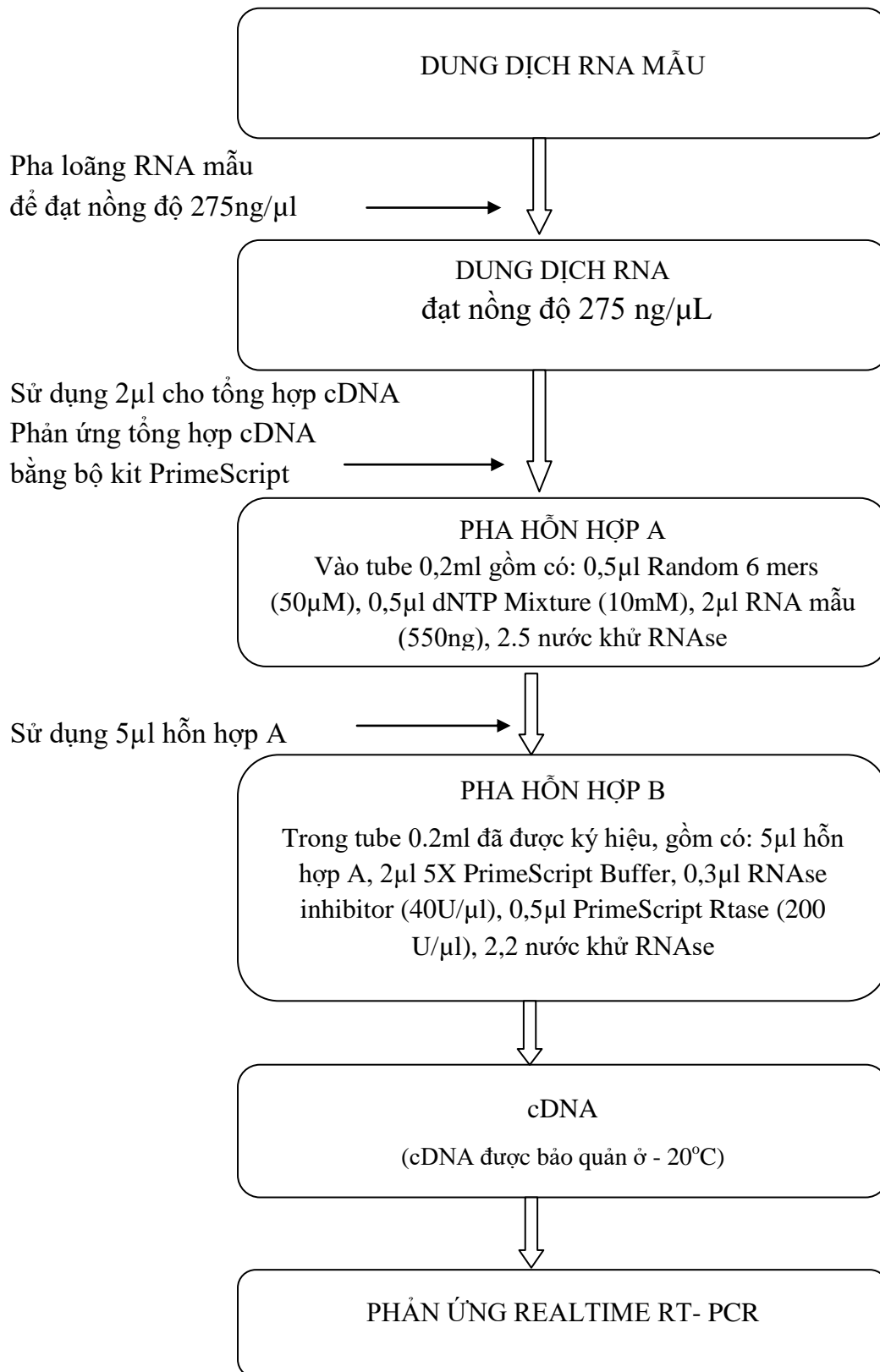


#### Sơ đồ 2.2: Tách chiết tế bào từ mẫu đàm (bước 1).

(Sau bước 1, ở mỗi mẫu thử nồng độ tế bào như nhau 10<sup>7</sup> tế bào/µL)

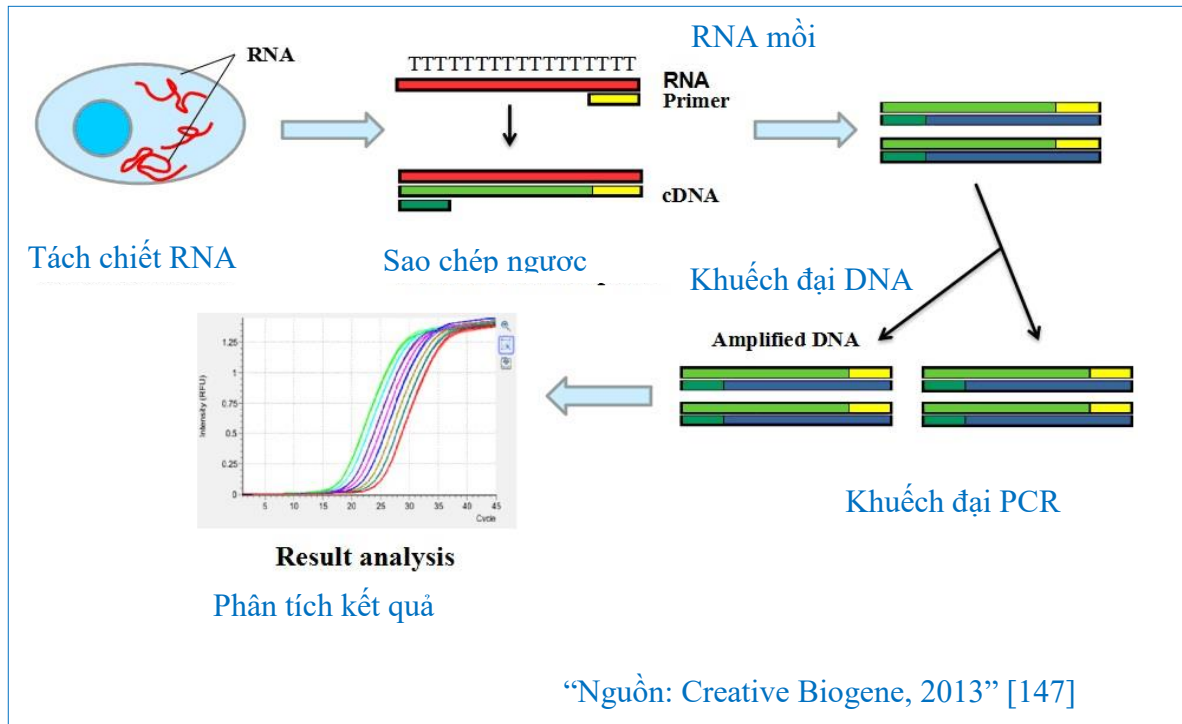


**Sơ đồ 2.3: Tách chiết RNA từ tế bào (bước 2).**



**Sơ đồ 2.4: Tổng hợp cDNA từ RNA mẫu (bước 3).**

Sau bước 3, tất cả mẫu thử đều có cùng một thể tích 2 μl và nồng độ RNA như nhau là 275ng/μl



**Sơ đồ 2.5: Phản ứng Realtime RT- PCR (bước 4)**

Sơ đồ 2.5: tóm tắt phản ứng Realtime RT- PCR cho thấy theo thứ tự là: tách chiết RNA từ mẫu mô nghiên cứu, sử dụng primer RNA (còn gọi là mẫu RNA có trong bộ Kit) để sao chép ngược từ các RNA thành các cDNA, tiếp theo các cDNA được sao chép nhân đôi, khuếch đại tạo ra nhiều phân tử DNA (mỗi phân tử DNA đều được gắn tín hiệu phát màu), sau khi các phân tử DNA được khuếch đại, nhân đôi tạo đủ lượng và tín hiệu phát màu đủ mạnh sẽ ra phát màu huỳnh quang và được ghi nhận tín hiệu bắt màu trên máy Realtime RT PCR, lúc đó máy cho biết gen đang nghiên cứu có hiện diện trên mẫu thử và số chu kì ngưỡng được ghi nhận trên máy, sau hết là phân tích kết quả chu kì ngưỡng các gen và thống kê [11].

Tiến hành khảo sát mức độ biểu hiện của gen MMP-12 bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR, cặp mẫu (primer RNA) để khuếch đại gen MMP-12 là MMP-12-F (5'- AGGAATCGGGCCTAAAATTG-3') và MMP12-R (5'-TGCTTTTCAGTGTTTTGGTGA-3'). Gen chứng nội là đoạn gen  $\beta$ -Actin được khuếch đại bằng mẫu  $\beta$ -actin-F (5'-CAGAGCCTCGCCTTTGCCG-3') và  $\beta$ -Actin-R (5'-TTGCACATGCCGGAGCCGTT-3'). Sau khi mRNA được tách chiết từ tế bào của mẫu đàm, tổng hợp cDNA được tiến hành bằng bộ kit PrimeScript<sup>TM</sup> 1st strand cDNA (Takara, Nhật Bản). [11]

Mỗi một mẫu đàm được thực hiện trên phản ứng Realtime RT- PCR cần phải



lập lại ba lần với gen MMP-12 và 3 lần trên gen chứng nội  $\beta$ -Actin trên một mẫu cDNA với bộ Kit SYBR Premix Taq II (Takara, Nhật Bản) theo hướng dẫn của nhà sản xuất, sử dụng hệ thống máy Master Cycler RealPlex (Eppendorf, Đức) [11]. Phương pháp định lượng tương đối biểu hiện gen của tác giả Schmittgen và Livak [89], [118].

## 2.8 Phương pháp phân tích dữ liệu

- ✓ Thu thập dữ liệu bằng phần mềm Excel. Xử lý dữ liệu bằng phần mềm thống kê SPSS 20.
- ✓ Các số liệu được trình bày bằng trị số trung bình, độ lệch chuẩn, các giá trị trung bình được, so sánh 2 nhóm bằng phép kiểm T- Test, so sánh > 2 nhóm bằng phép kiểm oneway ANOVA và Test hậu kiểm Posthoc, Test tương quan Pearson, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi  $p < 0,05$ .
- ✓ Phân tích mức độ biểu hiện gen trên phản ứng Realtime RT- PCR bằng phương thức định lượng tương đối của tác giả Thomas D Schmittgen và Kenneth Livaka [89], [118].
- ✓ Trong phản ứng Realtime RT- PCR định lượng tương đối, mức độ biểu hiện gen MMP-12 được phản ánh thông qua số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa ( $\Delta$ CT) [89], [118].

## 2.9 Đạo đức trong nghiên cứu

Đề cương nghiên cứu đã được Hội Đồng Đạo Đức trong Nghiên Cứu Y Sinh Học của Đại Học Y Dược TPHCM chấp thuận, cho phép nghiên cứu, đảm bảo tính khoa học và tính khả thi của đề tài nghiên cứu.

Tất cả đối tượng tham gia nghiên cứu đều tự nguyện đồng ý, tất cả đối tượng tham gia không phải trả tiền cho việc lấy mẫu đàm, không phải trả tiền cho xét nghiệm Realtime RT- PCR, cũng như không phải trả bất kì khoản tiền nào liên quan trong công việc nghiên cứu.

Tiến trình nghiên cứu không ảnh hưởng đến kết quả điều trị cho bệnh nhân, tất cả thông tin của bệnh nhân được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho nghiên cứu, kết quả nghiên cứu không sử dụng mục đích khác.

### CHƯƠNG III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Nghiên cứu tìm kiếm mối liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 dẫn đến BPTNMT, và khảo sát mối liên quan biểu hiện gen MMP-12 với biểu hiện lâm sàng BPTNMT được thực hiện trên 4 nhóm nghiên cứu: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc.

Nghiên cứu được thực hiện trên 351 đối tượng, gồm có: (1) nhóm BPTNMT-hút thuốc lá có n = 112 đối tượng, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá có n = 61 đối tượng; (3) nhóm khỏe - hút thuốc lá có n = 115 đối tượng, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc lá (nhóm chứng) có n = 63 đối tượng, được thực hiện bằng phản ứng Realtime RT - PCR và thiết kế theo phương pháp định lượng tương đối, sử dụng gen chứng nội là  $\beta$  - actin với kỹ thuật SYBR green để xác định mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm kích thích, có kết quả nghiên cứu như sau:

#### 3.1 ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, LÂM SÀNG VÀ ĐẶC ĐIỂM BIỂU HIỆN GEN MMP-12 Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU

##### 3.1.1 Tuổi:

Đối tượng có tuổi thấp nhất là 55 tuổi, cao nhất là 93 tuổi.

Tuổi trung bình nhóm BPTNMT- chung là  $65,1 \pm 8,6$ .

Tuổi trung bình của tất cả các nhóm đối tượng là  $65,2 \pm 8,5$ .

**Bảng 3.1: Tuổi trung bình các nhóm đối tượng**

CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU	TUỔI TRUNG BÌNH	P
<b>Nhóm BPTNMT- chung</b> (n=173) (nhóm BPTNMT- hút thuốc và BPTNMT- không hút)	<b>65,1±8,6</b>	0,117
<b>Nhóm khỏe - chung</b> (n=178) (nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc)	66,5±8,1	
<b>TỔNG CÁC NHÓM</b> (n=351)	65,2±8,8	
<b>Nhóm BPTNMT- hút thuốc</b> (n=112)	64,2±8,4	0,061
<b>Nhóm BPTNMT- không hút thuốc</b> (n=61)	66,8±8,8	
<b>Nhóm khỏe - hút thuốc</b> (n=115)	65,7±8,6	0,526
<b>Nhóm khỏe - không hút thuốc</b> (n=63) (nhóm chứng)	64,9±7,7	

Bảng 3.1 cho thấy tuổi trung bình nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe

chung lần lượt là  $65,1 \pm 8,6$  và  $66,5 \pm 8,1$ , không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,117$ . Nhóm BPTNM - hút thuốc so với nhóm BPTNMT - không hút thuốc lần lượt là  $64,2 \pm 8,4$  và  $66,8 \pm 8,8$ ; không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,061$ . Nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,526$

### 3.1.2 Giới tính

Tổng số đối tượng tham gia nghiên cứu là 351 đối tượng, trong đó: nam giới có 312 đối tượng (chiếm tỉ lệ 88,9%), nữ giới có 39 đối tượng (chiếm tỉ lệ 11,1%).

**Bảng 3.2: Phân bố giới tính trong nhóm BPTNMT và nhóm khỏe**

CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU	GIỚI TÍNH		
	Nam n(%)	Nữ n(%)	Tổng số n(%)
<b>Nhóm BPTNMT - chung</b> (nhóm BPTNMT- hút thuốc và BPTNMT- không hút thuốc) (n=173)	153 (88,4%)	20 (11,6%)	173 100%
<b>Nhóm BPTNMT - hút thuốc</b> (n=112)	106	6	112
<b>Nhóm BPTNMT- không hút thuốc</b> (n=61)	47	14	61
<b>Nhóm khỏe - chung</b> (nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc) (n=178)	159 (89,3%)	19 (10,7%)	178 (100%)
<b>Nhóm khỏe - hút thuốc</b> (n=115)	102	13	115
<b>Nhóm khỏe - không hút thuốc</b> (n=63)	57	6	63

Bảng 3.2 cho thấy nhóm BPTNMT - chung có 173 đối tượng, trong đó: nam giới có 153 đối tượng, chiếm tỉ lệ 88,4%; nữ giới chỉ có 20 đối tượng, chiếm tỉ lệ 11,6%. Tỉ lệ đối tượng mắc bệnh BPTNMT ở nam nhiều hơn nữ 7,6 lần (153/20).

### 3.1.3 Số đối tượng ở các giai đoạn tắc nghẽn GOLD

**Bảng 3.3: Số đối tượng ở các giai đoạn tắc nghẽn GOLD**

GIAI ĐOẠN TẮC NGHẼN	NHÓM BPTNMT (n=173)		Tổng cộng (%)
	BPTNMT- hút thuốc (n=112)	BPTNMT- không hút thuốc (n=61)	
<b>Nhóm GOLD I</b>	28 (25%)	14 (22,9%)	42 (24,3%)
<b>Nhóm GOLD II</b>	30 (26,8%)	17 (27,9%)	47 (27,2%)
<b>Nhóm GOLD III</b>	32 (28,6%)	16 (26,2%)	48 (27,7%)
<b>Nhóm GOLD IV</b>	22 (19,6%)	14 (22,9%)	36 (20,8%)
<b>TỔNG CỘNG</b>	112 (100%)	61 (100%)	173 (100%)

Bảng 3.3: cho thấy tổng số đối tượng ở 4 nhóm: GOLD I, GOLD II, GOLD

III và GOLD IV lần lượt là 42 (24,3%), 47 (27,2%), 48 (27,7%), và 36 (20,8%).

### 3.1.4 Số gói thuốc - năm (pack - years) ở các nhóm nghiên cứu

**Bảng 3.4: Số gói thuốc - năm (pack - years) ở các nhóm nghiên cứu**

NHÓM NGHIÊN CỨU		Số gói thuốc - năm (pack - years)	p
Nhóm BPTNMT - hút thuốc (n=112)		50,65 ±16,75	p = 0,093
Nhóm khỏe - hút thuốc (n=115)		46,57 ±19,62	
Nhóm GIAI ĐOẠN TẮC NGHẼN	Nhóm GOLD I (n=42)	28,62 ±15,08	p* = 0,032. r = 0,231 và p** = 0,006
	Nhóm GOLD II (n=47)	45,11 ±22,15	
	Nhóm GOLD III (n=48)	48,30 ±18,10	
	Nhóm GOLD IV (n=36)	56,13 ±15,33	
Nhóm TUỔI TÁC	Nhóm < 60 tuổi (n=56)	42,55 ±16,80	p*** = 0,773
	Nhóm 60-69 tuổi (n=66)	46,38 ±20,90	
	Nhóm ≥ 70 tuổi (n=51)	49,98 ±15,99	

p = so sánh nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc, phép kiểm T- Test.

p\* = so sánh GOLD I, II, III, IV phép kiểm ANOVA; tương quan Pearson r = 0,231 và p\*\* = 0,006.

p\*\*\* = so sánh các nhóm tuổi, phép kiểm ANOVA

Bảng 3.4 cho thấy số gói thuốc - năm (pack - years) ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc lần lượt là 50,65 ± 16,75 và 46,57 ±19,62, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, p = 0,093.

Số gói thuốc - năm (pack - years) ở 4 giai đoạn GOLD I, II, III, IV lần lượt là 28,62 ± 15,08; 45,11 ± 22,15; 48,30 ± 18,10; 56,13 ± 15,33, có ý nghĩa thống kê, p = 0,032. Phép kiểm tương quan Pearson ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV với số gói thuốc - năm có tương quan thuận mức độ nhẹ, r = 0,231, p\*\* = 0,006.

Số gói thuốc - năm (pack - years) ở 3 nhóm tuổi lần lượt là 42,55 ± 16,80, 46,38 ± 20,90 và 49,98 ± 15,99, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, p = 0,773.

### 3.1.5 Giá trị trung bình các thông số hô hấp ở các nhóm nghiên cứu

Kết quả trên phế dung kí được ghi nhận gồm có các thông số hô hấp: SCV, FVC, FEV1(L), FEV1/FVC, FEV1% dự đoán, FEV6, FEF<sub>25-75%</sub> và PEF (L/S) (trong nghiên cứu này, không đo DLCO, do Phòng Thăm Dò Chức Năng Hô Hấp

không có máy đo này). Trong đó, các giá trị của 4 thông số FEV<sub>1</sub>(L), FEV<sub>1</sub>/FVC, FEV<sub>1</sub>% - dự đoán và FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán là quan trọng nhất ở nghiên cứu này.

**Bảng 3.5: Giá trị trung bình các thông số hô hấp ở các nhóm đối tượng**

CÁC THÔNG SỐ HÔ HẤP	CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU (n=351)								p*	p
	Nhóm BPTNMT- hút thuốc (n=112)		Nhóm BPTNMT- không hút thuốc (n=61)		Nhóm khỏe- hút thuốc (n=115)		Nhóm khỏe - không hút thuốc (n=63)			
	Trước	Sau	Trước	Sau	Trước	Sau	Trước	Sau		
	Test giãn phế quản salbutamol 400mcg									
FEV <sub>1</sub> /FVC	0,45 ±0,07	<b>0,49</b> <b>±0,08</b>	0,51 ±0,07	<b>0,54</b> <b>±0,07</b>	0,71 ±0,12	<b>0,72</b> <b>±0,10</b>	0,87 ±0,10	<b>0,92</b> <b>±0,12</b>	0,0001	0,001
FEV <sub>1</sub> (L)	0,98 ±0,29	<b>1,02</b> <b>±0,27</b>	1,21 ±0,36	<b>1,20</b> <b>±0,34</b>	1,81 ±0,68	<b>1,88</b> <b>±0,65</b>	2,20 ±0,61	<b>2,32</b> <b>±0,69</b>	0,0002	0,001
FEV <sub>1</sub> % dự đoán	0,44 ±0,19	<b>0,45</b> <b>±0,17</b>	0,57 ±0,21	<b>0,62</b> <b>±0,20</b>	0,83 ±0,22	<b>0,88</b> <b>±0,23</b>	0,96 ±0,22	<b>0,99</b> <b>±0,19</b>	0,0001	0,001
FEF <sub>25-75%</sub> dự đoán	0,20 ±0,12	<b>0,22</b> <b>±0,09</b>	0,30 ±0,08	<b>0,32</b> <b>±0,09</b>	0,46 ±0,10	<b>0,49</b> <b>±0,12</b>	0,85 ±0,31	<b>0,94</b> <b>±0,35</b>	0,0001	0,001

p = so sánh 4 nhóm: nhóm BPTNMT - hút thuốc, nhóm BPTNMT- không hút thuốc, nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe- không hút thuốc, sau test giãn phế quản, phép kiểm ANOVA

p\* = so sánh 2 nhóm: nhóm BPTNMT - hút thuốc, nhóm BPTNMT- không hút thuốc, sau test giãn phế quản, phép kiểm T-Test

Bảng 3.5 cho thấy giá trị trung bình các thông số hô hấp của 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có sự khác biệt, có ý nghĩa thống kê, p = 0,001.

Điều đáng chú ý, ở nhóm khỏe - hút thuốc lá có FEV<sub>1</sub>/FVC = 0,72 ± 0,10; giá trị này rất gần trị số ngưỡng của người mắc bệnh BPTNMT (FEV<sub>1</sub>/FVC < 0,7).

Tương tự, ở nhóm khỏe - hút thuốc có FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán = 0,49 ± 0,12 (đối tượng được định nghĩa có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ khi có FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán < 0,6). Giá trị này cho thấy những đối tượng nhóm khỏe - hút thuốc (dai dẳng) đã có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở phổi.

### 3.1.6 Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc

Đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ trong phổi là những người không mắc bệnh BPTNMT, nhưng trong kết quả đo phế dung kí, họ có FEF 25-75% - dự đoán < 0,6 (còn gọi là đối tượng có tắc nghẽn nhỏ sớm)

Khảo sát tìm kiếm các đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ từ 2 nhóm: (1) nhóm khỏe - hút thuốc (n = 115) và (2) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) (n = 63)

**Bảng 3.6: Tỷ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)**

<b>NHÓM KHỎE - CHUNG</b> (n=178)	<b>Có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn, n (%)</b>	<b>Không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn, n (%)</b>	<b>TỔNG CỘNG n (%)</b>
<b>Nhóm khỏe - hút thuốc</b> (n=115)	75 (65,2%)	40 (34,8%)	115 (100%)
<b>Nhóm khỏe - không hút thuốc</b> (nhóm chứng) (n=63)	6 (9,5%)	57 (90,5%)	63 (100%)
<b>Tổng cộng (n)</b>	81	97	178

Bảng 3.6 cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có 75 đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 65,2 % (75 / 115).

Nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có 6 đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 9,5% (6 / 63).

### 3.1.7 Tỷ lệ đối tượng theo phân nhóm A, B, C, D ở nhóm BPTNMT- chung

Trong nghiên cứu này, bệnh nhân BPTNMT- chung (n=173) được chia thành 4 nhóm A, B, C, D (phân chia theo tổ chức GOLD) dựa vào: mức độ triệu chứng, thang điểm mMRC và / hoặc CAT số đợt cấp, số lần nhập viện trong năm vừa qua.

GOLD 2020 phân loại bệnh nhân BPTNMT - có nhiều triệu chứng căn cứ theo thang điểm CAT và / hoặc mMRC, khi có số điểm mMRC  $\geq 2$  và / hoặc điểm CAT  $\geq 10$ . Ngược lại, là bệnh nhân BPTNMT - có ít triệu chứng

GOLD 2020 phân loại bệnh nhân BPTNMT - có nguy cơ cao khi có  $\geq 2$  đợt cấp trong vòng 12 tháng vừa qua hoặc 1 đợt cấp nặng phải nhập viện. Ngược lại, là bệnh nhân BPTNMT - nguy cơ thấp.

**Bảng 3.7: Tỷ lệ đối tượng theo phân nhóm A, B, C, D ở nhóm BPTNMT- chung và tỷ lệ đối tượng BPTNMT- nhiều triệu chứng, BPTNMT - nguy cơ cao**

<b>NHÓM BPTNMT (n=173)</b>	<b>Số đối tượng (n)</b>	<b>Tỷ lệ %</b>
<b>Nhóm A</b>	27	15,6%
<b>Nhóm B</b>	29	16,8%
<b>Nhóm C</b>	51	29,5%
<b>Nhóm D</b>	66	38,1%
<b>Tổng cộng</b>	173	100%
<b>Đối tượng BPTNMT- nhiều triệu chứng</b>	95	54,9%
<b>Đối tượng BPTNMT- ít triệu chứng</b>	78	45,1%
<b>Tổng cộng</b>	173	100%
<b>Đối tượng BPTNMT- nguy cơ cao</b>	117	67,6%
<b>Đối tượng BPTNMT- nguy cơ thấp</b>	56	32,4%
<b>Tổng cộng</b>	173	100%

Bảng 3.7 cho thấy nhóm A, nhóm B, nhóm B, nhóm D có số đối tượng và tỷ lệ lần lượt là 27 (15,6%), 29 (16,8%), 51 (29,5%), 66 (38,1%). Đa số là nhóm C, D.

Nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng có 95 đối tượng, chiếm tỷ lệ 54,9 %. Nhóm BPTNMT - nguy cơ cao có 117 đối tượng, chiếm tỷ lệ 67,6 %.

Như vậy, đa số bệnh nhân BPTNMT đến khám bệnh tại Phòng Khám Hồ hấp là có nguy cơ cao, nhiều triệu chứng.

### **3.1.8 Mức độ biểu hiện gen MMP-12 và gen $\beta$ -Actin chung trong kết quả thực hiện phản ứng Realtime RT- PCR**

Nghiên cứu này nhằm khảo sát mức độ biểu hiện gen MMP-12 bằng phản ứng Realtime RT - PCR theo phương pháp định lượng tương đối, và sử dụng gen chứng nội  $\beta$ -Actin, công dụng của gen chứng nội  $\beta$ -Actin giúp chuẩn hóa số chu kỳ ngưỡng (CT, Ct), giúp kết quả chính xác. Khi được chuẩn hóa, số chu kỳ ngưỡng (CT, Ct) của gen MMP-12 biến đổi thành số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa ( $\Delta$ CT).

Trong phản ứng Realtime RT- PCR theo phương pháp định lượng tương đối, mỗi một mẫu đàm khạc ra ở một bệnh nhân đều được thử 6 lần gồm có: 3 lần trên gen MMP-12 và 3 lần trên gen  $\beta$ -Actin (gen chứng nội, có ở trong đàm kích thích). Từ đó, tính ra số chu kỳ ngưỡng trung bình và số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa  $\Delta$ CT.

Kết quả số chu kỳ ngưỡng, số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa của gen MMP-12 và

gen chứng nội  $\beta$ -Actin được trình bày trong Bảng 3.8 dưới đây.

**Bảng 3.8: Mức độ biểu hiện chung ở gen MMP-12 và gen  $\beta$ -Actin (gen chứng nội) trong phản ứng Realtime RT - PCR**

		<b>TỔNG CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU (n=351)</b>					
<b>SỐ CHU KÌ NGUỒNG</b>		<b>NHÓM BPTNMT CHUNG (n=173)</b>	<b>Nhóm BPTNM-hút thuốc (n=112)</b>	<b>Nhóm BPTNM-không hút thuốc (n=61)</b>	<b>NHÓM KHỎE CHUNG (n=178)</b>	<b>Nhóm khỏe-hút thuốc (n=115)</b>	<b>Nhóm khỏe-không hút thuốc (n=63)</b>
<b>SỐ CHU KÌ NGUỒNG (CT) CỦA GEN MMP-12</b>	Số Ct gen MMP-12 lần 1	30,18 $\pm 1,43$	29,86 $\pm 1,37$	30,82 $\pm 1,35$	30,56 $\pm 1,52$	30,36 $\pm 1,17$	31,52 $\pm 0,94$
	Số Ct gen MMP-12 lần 2	30,15 $\pm 1,44$	29,91 $\pm 1,28$	30,62 $\pm 1,64$	31,27 $\pm 1,35$	30,25 $\pm 1,19$	31,43 $\pm 0,87$
	Số Ct gen MMP12 lần 3	29,97 $\pm 1,48$	30,22 $\pm 1,53$	29,95 $\pm 1,30$	30,63 $\pm 1,71$	30,25 $\pm 1,41$	31,59 $\pm 1,20$
	<b>Số CT trung bình của gen MMP-12</b>	<b>30,10 <math>\pm 1,18</math></b>	<b>29,99 <math>\pm 1,16</math></b>	<b>30,31 <math>\pm 1,12</math></b>	<b>30,83 <math>\pm 1,07</math></b>	<b>30,28 <math>\pm 0,96</math></b>	<b>31,51 <math>\pm 0,62</math></b>
<b>SỐ CHU KÌ NGUỒNG (CT) CỦA GEN <math>\beta</math>-ACTIN</b>	Số Ct gen $\beta$ - Actin lần 1	22,38 $\pm 0,96$	22,34 $\pm 0,99$	22,46 $\pm 0,90$	22,41 $\pm 1,06$	22,76 $\pm 1,21$	22,10 $\pm 1,17$
	Số Ct gen $\beta$ -Actin lần 2	22,48 $\pm 1,02$	22,43 $\pm 1,05$	22,56 $\pm 0,96$	22,25 $\pm 1,14$	22,66 $\pm 1,29$	22,02 $\pm 1,28$
	Số Ct gen $\beta$ -Actin lần 3	22,39 $\pm 1,21$	22,44 $\pm 1,05$	22,30 $\pm 1,47$	22,12 $\pm 1,14$	22,15 $\pm 1,05$	21,99 $\pm 1,20$
	<b>Số CT trung bình của gen <math>\beta</math>-Actin</b>	<b>22,41 <math>\pm 0,86</math></b>	<b>22,38 <math>\pm 0,91</math></b>	<b>22,49 <math>\pm 0,77</math></b>	<b>22,18 <math>\pm 0,96</math></b>	<b>22,47 <math>\pm 1,14</math></b>	<b>22,04 <math>\pm 1,03</math></b>
<b>SỐ CHU KÌ NGUỒNG CHUẨN HÓA (<math>\Delta</math>CT) CỦA GEN MMP-12</b>		<b>7,68 <math>\pm 1,10</math></b>	<b>7,61 <math>\pm 1,10</math></b>	<b>7,81 <math>\pm 1,11</math></b>	<b>8,65 <math>\pm 1,22</math></b>	<b>7,86 <math>\pm 1,02</math></b>	<b>9,47 <math>\pm 1,08</math></b>

Bảng 3.8 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các nhóm nghiên cứu



được phản ánh qua số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa (viết tắt là  $\Delta CT$ ).

Ở nhóm BPTNMT - hút thuốc có số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa nhỏ nhất với  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$ . Tức là, tương ứng với mức biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm này là lớn nhất. Ngược lại, nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa cao nhất, với  $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$ . Tức là, tương ứng với mức biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm này (nhóm khỏe – không hút thuốc) thấp nhất.

### 3.1.9 Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu

Kết quả nghiên cứu so sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu, bằng phản ứng Realtime RT - PCR theo phương pháp định lượng tương đối, với sử dụng gen chứng nội  $\beta$ -Actin được trình bày trong Bảng 3.9

**Bảng 3.9: Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu**

CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kỳ ngưỡng (CT) gen MMP12	Số chu kỳ ngưỡng (CT) gen $\beta$ -Actin	Số chu kỳ ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta CT$ )	$2^{-\Delta CT}$	$p^{\text{đ}}$	<b>p</b>
<b>Nhóm BPTNMT - hút thuốc</b> (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 1,10$	$2^{-7,61}$	p*= 0,371	0,001
<b>Nhóm BPTNMT- không hút thuốc</b> (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$		
<b>Nhóm khỏe-hút thuốc</b> (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,47 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$	p**= 0,001	
<b>Nhóm khỏe- không hút thuốc</b> (nhóm chứng) (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

p = so sánh 4 nhóm nghiên cứu, phép kiểm ANOVA.

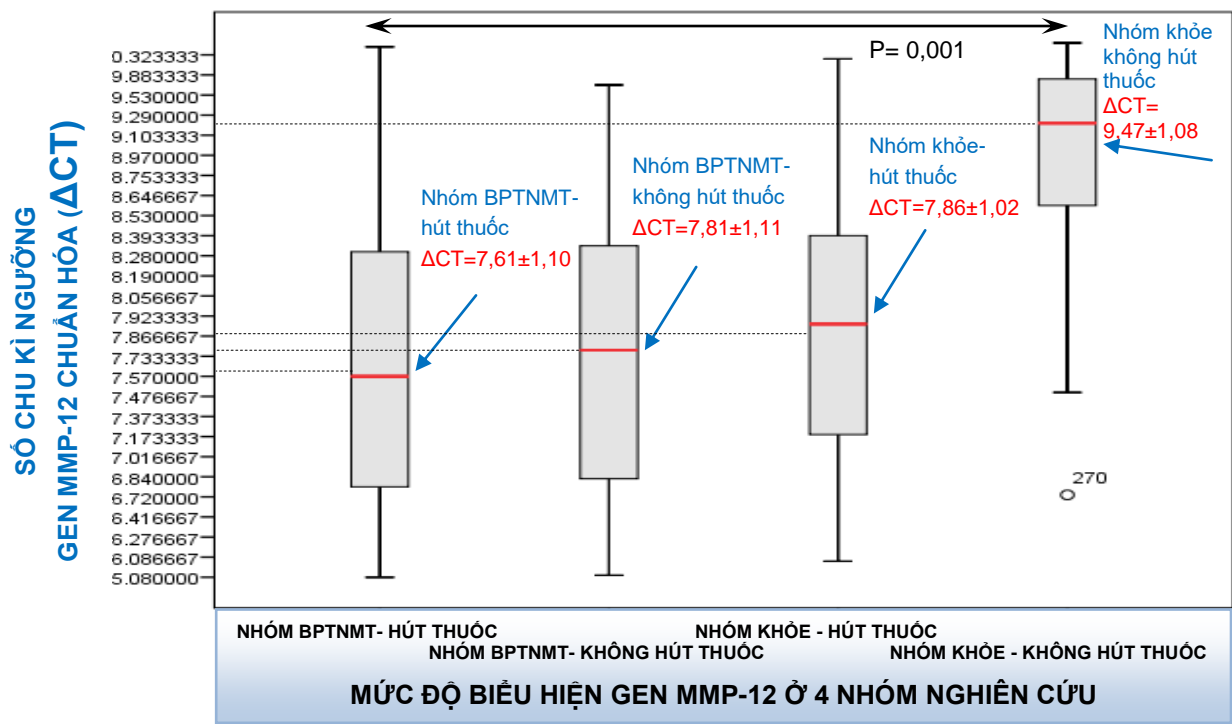
p\* = so sánh nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc, phép kiểm T-test.

p\*\* = so sánh nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc, phép kiểm T-test.

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 được phản ánh qua thông số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa ( $\Delta CT$ ), thông số  $\Delta CT$  càng thấp thì biểu hiện gen càng cao và ngược lại.

Bảng 3.9 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm BPTNMT - hút thuốc > nhóm BPTNMT - không hút thuốc > nhóm khỏe - hút thuốc > nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng); Tương ứng với số chu kì ngưỡng lần lượt là:  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$ ;  $7,81 \pm 1,11$ ;  $7,86 \pm 1,02$ ;  $9,47 \pm 1,08$ , có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .

Kết quả mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các nhóm nghiên cứu trên được trình bày ở Biểu đồ 3.1



**Biểu đồ 3.1: Đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu**

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu được phản ánh thông qua số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta CT$ ). Biểu đồ boxplot 3.1 cho thấy:

1. Nhóm BPTNMT- hút thuốc có  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$
2. Nhóm BPTNMT- không hút thuốc có  $\Delta CT = 7,81 \pm 1,11$
3. Nhóm khỏe - hút thuốc có  $\Delta CT = 7,86 \pm 1,02$
4. Nhóm khỏe - không hút thuốc có  $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$

Biểu đồ boxplot 3.1 cho thấy số chu kì ngưỡng ( $\Delta CT$ ) của gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu khác biệt nhau, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ . Như vậy, đặc điểm biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu là biểu hiện không đồng nhất.

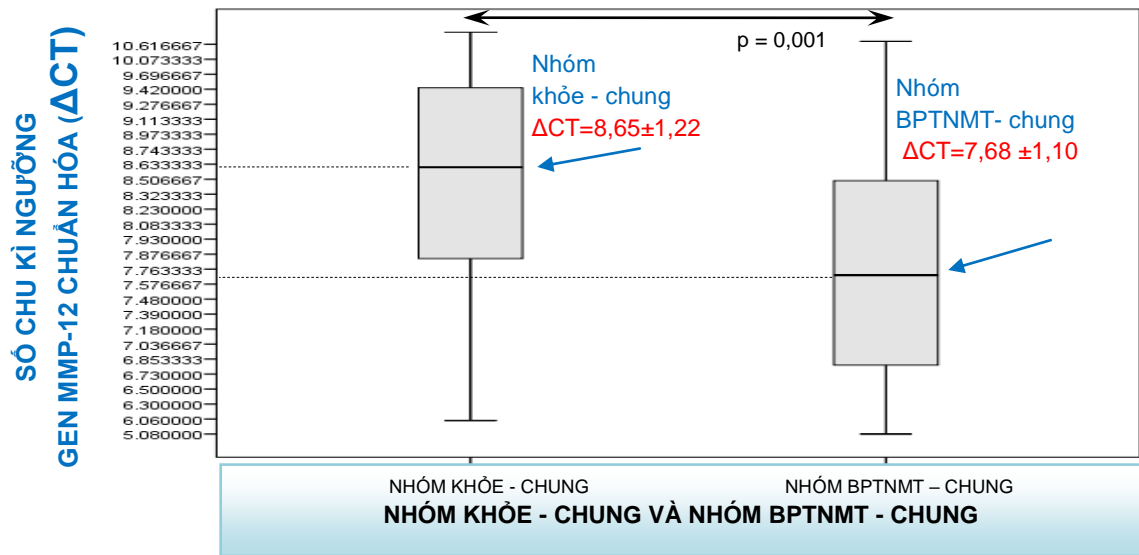
### 3.2 KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHỐI THUỐC LÁ VỚI BIỂU HIỆN GEN MMP-12 DẪN ĐẾN BPTNMT

#### 3.2.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- chung so với nhóm khỏe - chung

**Bảng 3.10: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung**

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm BPTNMT- chung (n=173)	30,10 $\pm 1,18$	22,41 $\pm 0,86$	7,68 $\pm 1,10$	$2^{-7,68}$	1,95 1	0,001
Nhóm khỏe- chung (n=178)	30,83 $\pm 1,07$	22,18 $\pm 0,96$	8,65 $\pm 1,22$	$2^{-8,65}$		

Bảng 3.10 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- chung cao hơn nhóm khỏe - chung có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ ; tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,68 \pm 1,10$  và  $8,65 \pm 1,22$ .



**Biểu đồ 3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung**

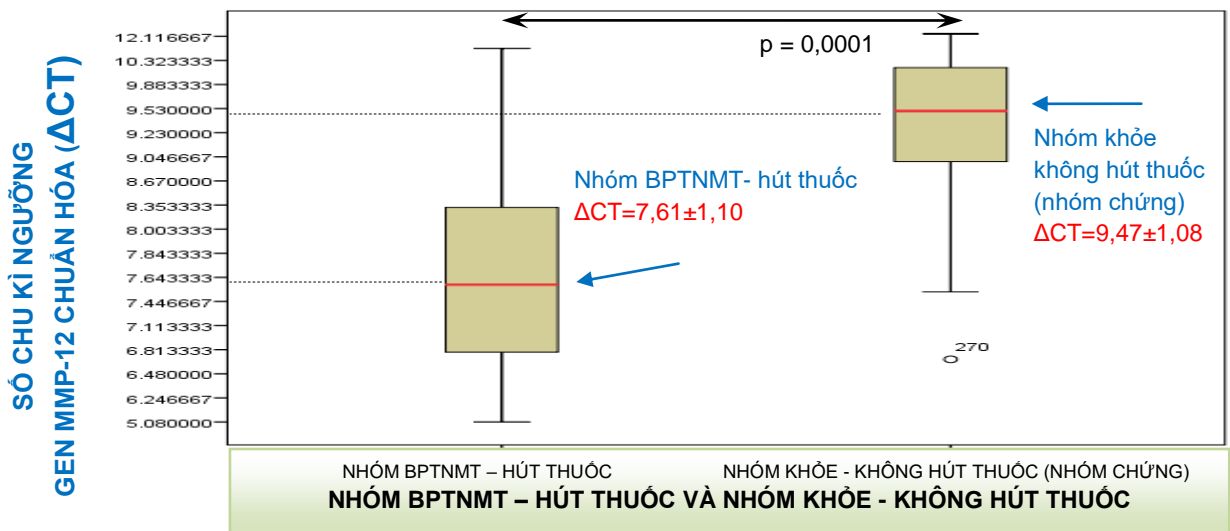
Biểu đồ 3.2 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung cao hơn so với nhóm khỏe - chung 1,95 lần ( $2^{-7,68}$  so với  $2^{-8,65}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p=0,001$  (Trên biểu đồ: khối boxplot càng thấp tương ứng biểu hiện gen càng cao).

### 3.2.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

**Bảng 3.11: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)**

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm BPTNMT- hút thuốc (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 0,10$	$2^{-7,61}$	$\frac{3,63}{1}$	0,0001
Nhóm khỏe - không hút thuốc (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

Bảng 3.11 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- hút thuốc cao hơn nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,61 \pm 1,10$  và  $9,47 \pm 1,08$ .



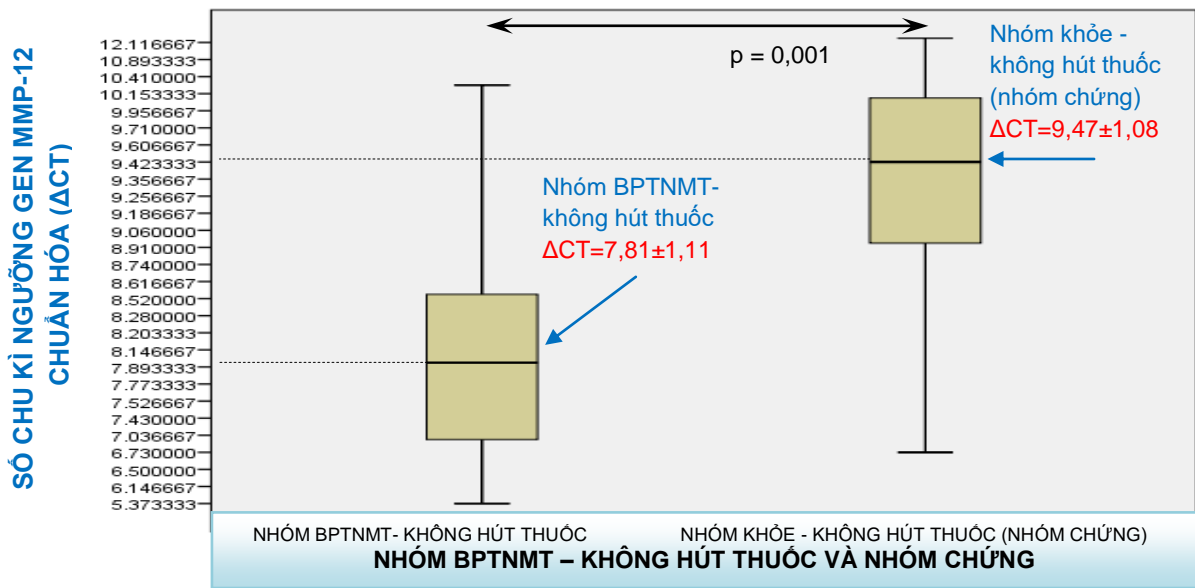
Biểu đồ 3.3 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,63 lần ( $2^{-7,61}$  so với  $2^{-9,47}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$ .

### 3.2.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

**Bảng 3.12:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm BPTNMT- không hút thuốc (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$	$\frac{3,16}{1}$	0,001
Nhóm khỏe – không hút thuốc (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

Bảng 3.12 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- không hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ . Tương ứng số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,81 \pm 1,11$  và  $9,47 \pm 1,08$ .



**Biểu đồ 3.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)**

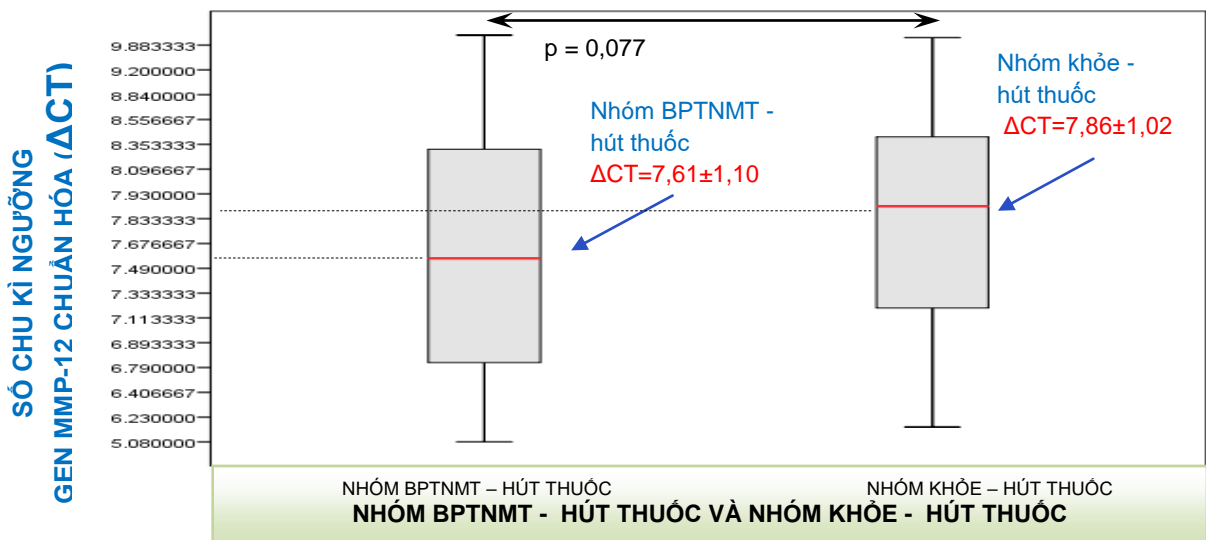
Biểu đồ 3.4 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,16 lần ( $2^{-7,81}$  so với  $2^{-9,47}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .

### 3.2.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

**Bảng 3.13:** So sánh mức độ biểu gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm BPTNMT- hút thuốc (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 1,10$	$2^{-7,61}$	$\frac{1,18}{1}$	0,077
Nhóm khỏe - hút thuốc (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,27 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$		

Kết quả bảng 3.13 cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,077$ ; Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,61 \pm 1,10$  và  $7,86 \pm 1,02$ .



**Biểu đồ 3.5** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc.

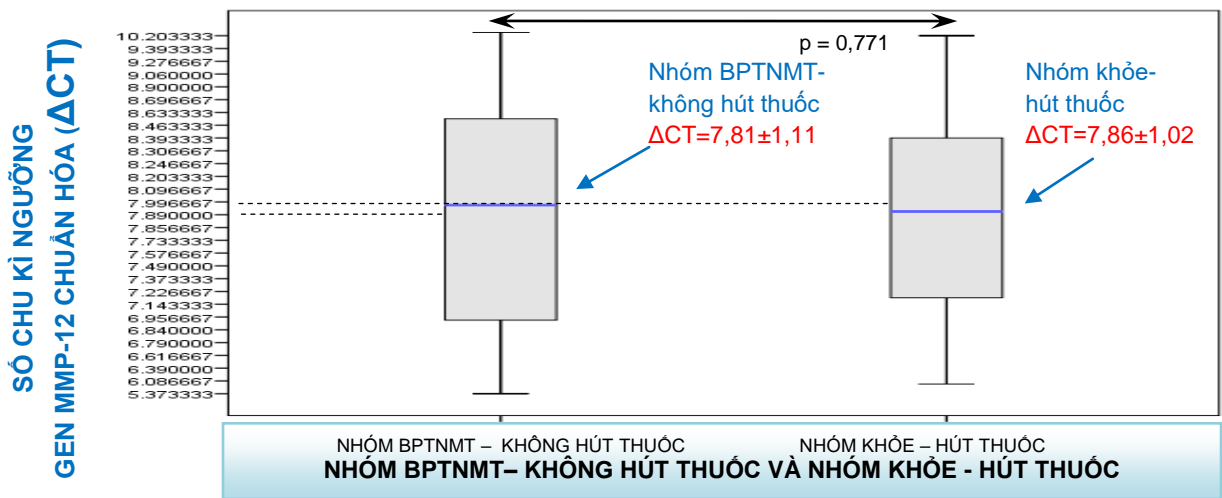
Biểu đồ 3.5 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc là 1,18 lần ( $2^{-7,61}$  so với  $2^{-7,86}$ ), sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,077$ . Như vậy, 2 nhóm có hút thuốc trên, có biểu hiện gen MMP-12 như nhau (không khác biệt).

### 3.2.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

**Bảng 3.14:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen $\beta$ -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta$ CT	p
Nhóm BPTNMT- không hút thuốc (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$	1,04 1	0,771
Nhóm khỏe- hút thuốc (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,27 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$		

Bảng 3.14 cho thấy cho thấy biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,771$ . Tương ứng số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,81 \pm 1,11$  và  $7,86 \pm 01,02$ .



**Biểu đồ 3.6 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc**

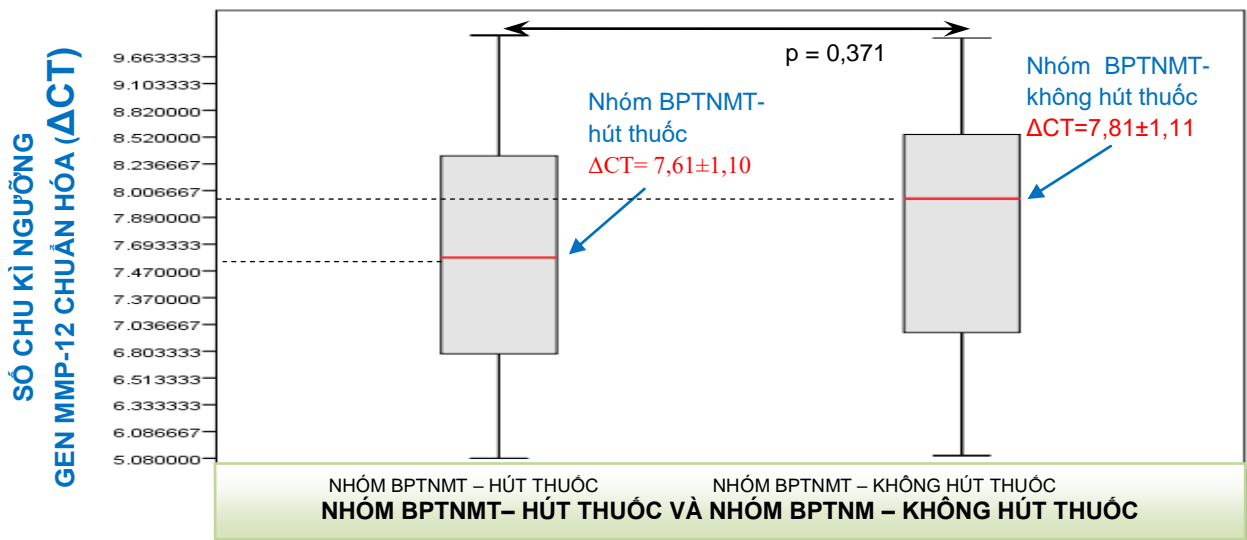
Biểu đồ 3.6 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT– không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc là 1,04 lần ( $2^{-7,81}$  so với  $2^{-7,86}$ ), không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,771$ . Như vậy, biểu hiện gen MMP-12 tăng cao khi đối tượng hút thuốc lá và / hoặc có bệnh BPTNMT.

### 3.2.6 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc

**Bảng 3.15:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc

CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen $\beta$ -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm BPTNMT- hút thuốc (n=112)	29,99 $\pm 1,16$	22,38 $\pm 0,91$	7,61 $\pm 1,10$	$2^{-7,61}$	1,15 1	0,371
Nhóm BPTNMT- không hút (n=61)	30,31 $\pm 1,12$	22,49 $\pm 0,77$	7,81 $\pm 1,11$	$2^{-7,81}$		

Bảng 3.15 cho thấy biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,371$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,61 \pm 1,10$  và  $7,81 \pm 1,11$ .



**Biểu đồ 3.7:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm BPTNMT - không hút thuốc.

Biểu đồ 3.7 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với BPTNMT - không hút thuốc là 1,15 lần ( $2^{-7,61}$  so với  $2^{-7,81}$ ), không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,371$ . Như vậy, biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở đối tượng mắc bệnh BPTNMT; cho dù, bệnh nhân này có hút thuốc lá hay không hút thuốc lá.

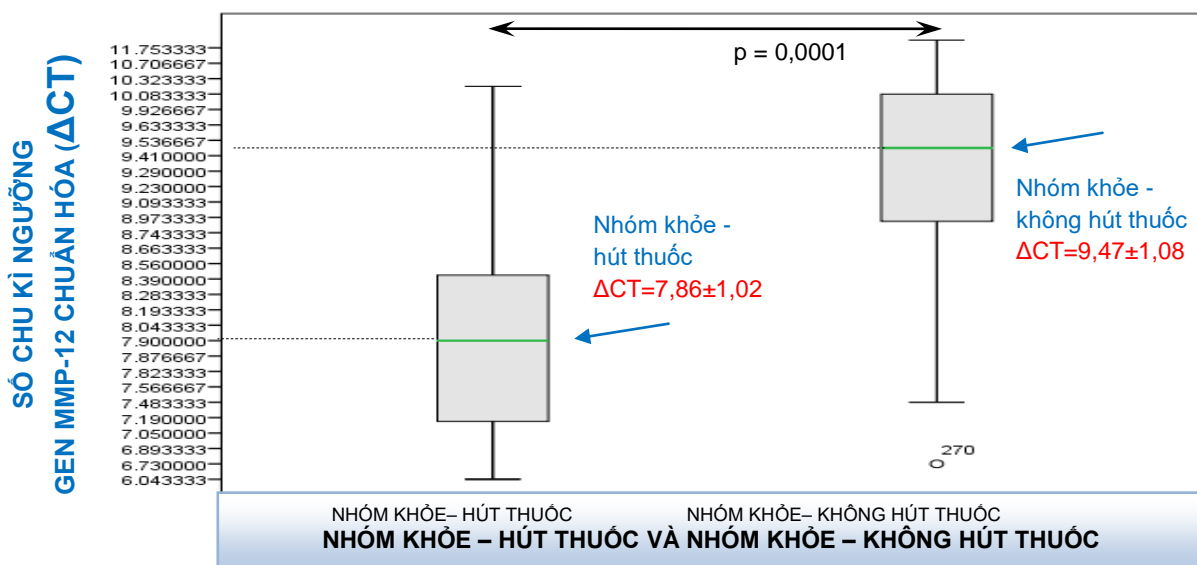


### 3.2.7 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

**Bảng 3.16:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

NHÓM NGHIÊN CỨU	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen $\beta$ -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta\Delta$ CT	p
Nhóm khỏe - hút thuốc (n=115)	30,28 $\pm 0,96$	22,27 $\pm 1,14$	7,86 $\pm 1,02$	$2^{-7,86}$	3,05 1	0,0001
Nhóm khỏe - không hút thuốc (n=63)	31,51 $\pm 0,62$	22,04 $\pm 1,03$	9,47 $\pm 1,08$	$2^{-9,47}$		

Bảng 3.16 cho thấy biểu hiện gen ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,86 \pm 1,02$  và  $9,47 \pm 1,08$ .



**Biểu đồ 3.8:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)

Biểu đồ 3.8 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,05 lần ( $2^{-7,86}$  so với  $2^{-9,47}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$ . Như vậy, khói thuốc lá dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong phổi.

### 3.2.8 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm (pack – years)

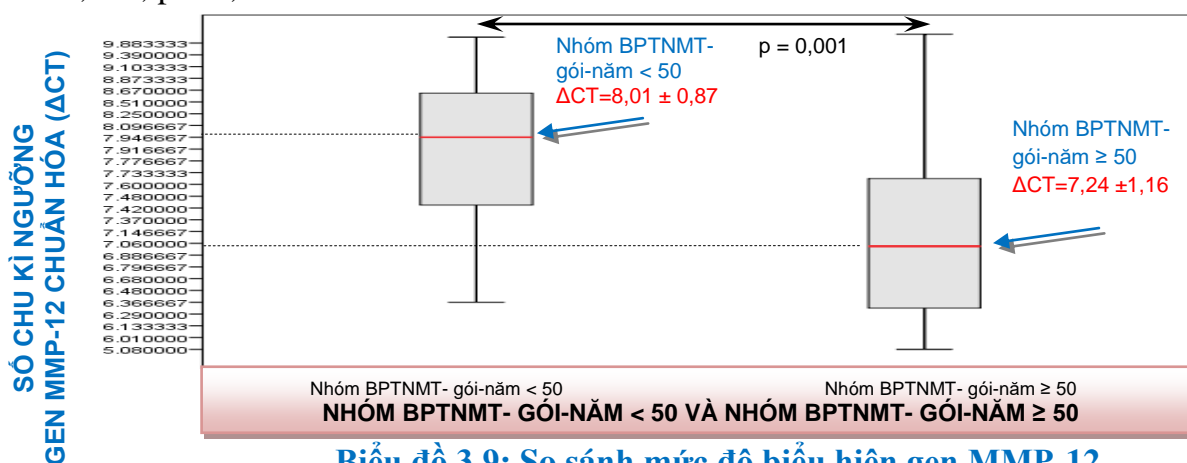
Nhóm BPTNMT - hút thuốc (n=112) có số trung bình gói - năm là  $50,65 \pm 16,75$  (Bảng 3.4); Nhóm này được chia thành 2 nhóm nhỏ hơn dựa theo số gói - năm là 50 (dựa theo số trung bình gói - năm là  $50,65 \pm 16,75$  và lấy tròn số là 50). Kết quả có 2 nhóm nhỏ: (1) nhóm BPTNMT- gói-năm  $\geq 50$  có n = 58 đối tượng và (2) nhóm BPTNMT- gói-năm  $< 50$  có n = 54 đối tượng.

**Bảng 3.17: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm (pack – years)**

NHÓM BPTNMT - HÚT THUỐC (n=112)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT	p
Nhóm BPTNMT- gói-năm $\geq 50$ (n = 58)	29,53 $\pm 0,12$	22,29 $\pm 0,97$	7,24 $\pm 1,16$	$2^{-7,24}$	$\frac{1,705}{1}$	p= 0,001 r =0, 278 p*=0,003
Nhóm BPTNMT- gói-năm $< 50$ (n = 54)	30,49 $\pm 0,90$	22,48 $\pm 0,84$	8,01 $\pm 0,87$	$2^{-8,01}$		

p = 0,001, so sánh nhóm BPTNMT- gói-năm  $\geq 50$  so với nhóm BPTNMT- gói-năm  $< 50$ . Phép kiểm T-test. Tương quan Pearson r = 0,278, p\* = 0,003.

Bảng 3.17 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - gói-năm  $\geq 50$  cao hơn so với nhóm BPTNMT- gói-năm  $< 50$ , có ý nghĩa thống kê, p=0,001. r=0,278; p\*=0,003



**Biểu đồ 3.9: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm**

Biểu đồ 3.9 cho thấy biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT- gói-năm  $\geq 50$  cao hơn so với nhóm BPTNMT- gói-năm  $< 50$  là 1,7 lần, có ý nghĩa thống kê, p = 0,001. Tương ứng số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,24 \pm 1,16$  và  $8,01 \pm 0,87$ . Như vậy, đối tượng hút thuốc lá nhiều hơn (số gói - năm nhiều hơn), dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi nhiều hơn.

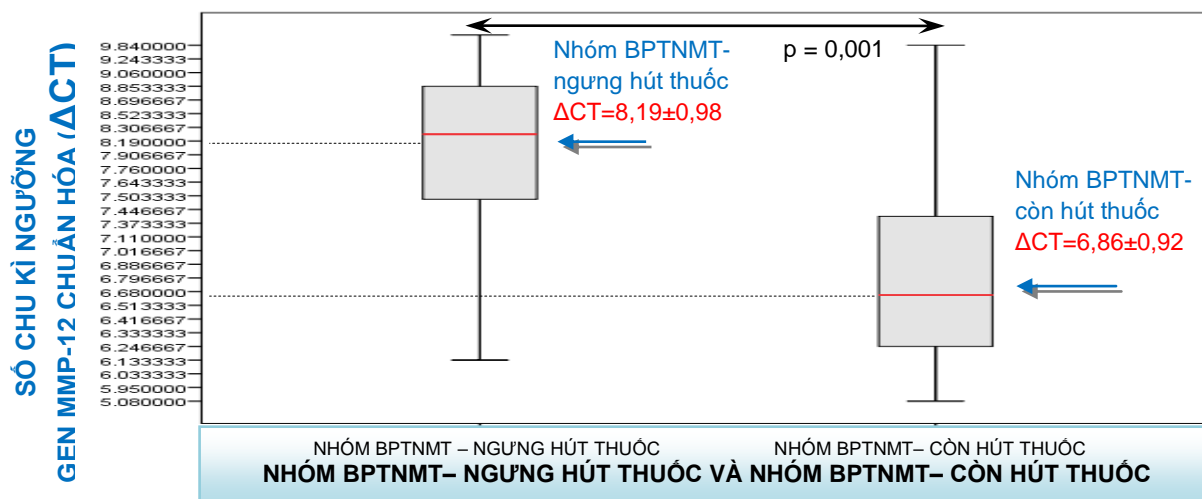
### 3.3. ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI BIỂU HIỆN LÂM SÀNG, VÀ VỚI ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH Ở NHÓM BỆNH NHÂN BPTNMT.

#### 3.3.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc

**Bảng 3.18: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc**

NHÓM BPTNMT- HÚT THUỐC (n=112)	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen $\beta$ -actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	Tỉ lệ biểu hiện gen $2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm BPTNMT- còn hút thuốc (n=61)	29,05 $\pm 0,88$	22,19 $\pm 0,79$	6,86 $\pm 0,92$	$2^{-6,86}$	2,51 1	0,001
Nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc (n=51)	30,69 $\pm 1,02$	22,50 $\pm 0,86$	8,19 $\pm 0,98$	$2^{-8,19}$		

Bảng 3.18: cho thấy mức độ biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc cao hơn so với BPTNMT - ngưng hút thuốc, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ ; tương ứng số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $6,86 \pm 0,92$  và  $8,19 \pm 0,98$ .



**Biểu đồ 3.10: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc**

Biểu đồ 3.10 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc cao hơn so với nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc 2,51 lần ( $2^{-6,86}$  so với  $2^{-8,19}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .

### 3.3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, GOLD II, GOLD III, GOLD IV

**Bảng 3.19: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, GOLD II, GOLD III, GOLD IV**

NHÓM BPTNMT (n=173)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ - Actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	p
<b>Nhóm GOLD I</b> (n=42)	31,11 $\pm 0,78$	22,60 $\pm 0,92$	8,51 $\pm 0,93$	$2^{-8,51}$	p = 0,005  r = 0,631, p* = 0,001
<b>Nhóm GOLD II</b> (n=47)	30,76 $\pm 0,78$	22,59 $\pm 0,91$	8,17 $\pm 0,86$	$2^{-8,17}$	
<b>Nhóm GOLD III</b> (n=48)	29,92 $\pm 0,81$	22,39 $\pm 0,94$	7,53 $\pm 0,89$	$2^{-7,53}$	
<b>Nhóm GOLD IV</b> (n=36)	28,57 $\pm 0,28$	22,07 $\pm 0,55$	6,50 $\pm 0,50$	$2^{-6,50}$	

p = so sánh biểu hiện gen ở 4 giai đoạn GOLD I, II, III, IV, phép kiểm ANOVA.

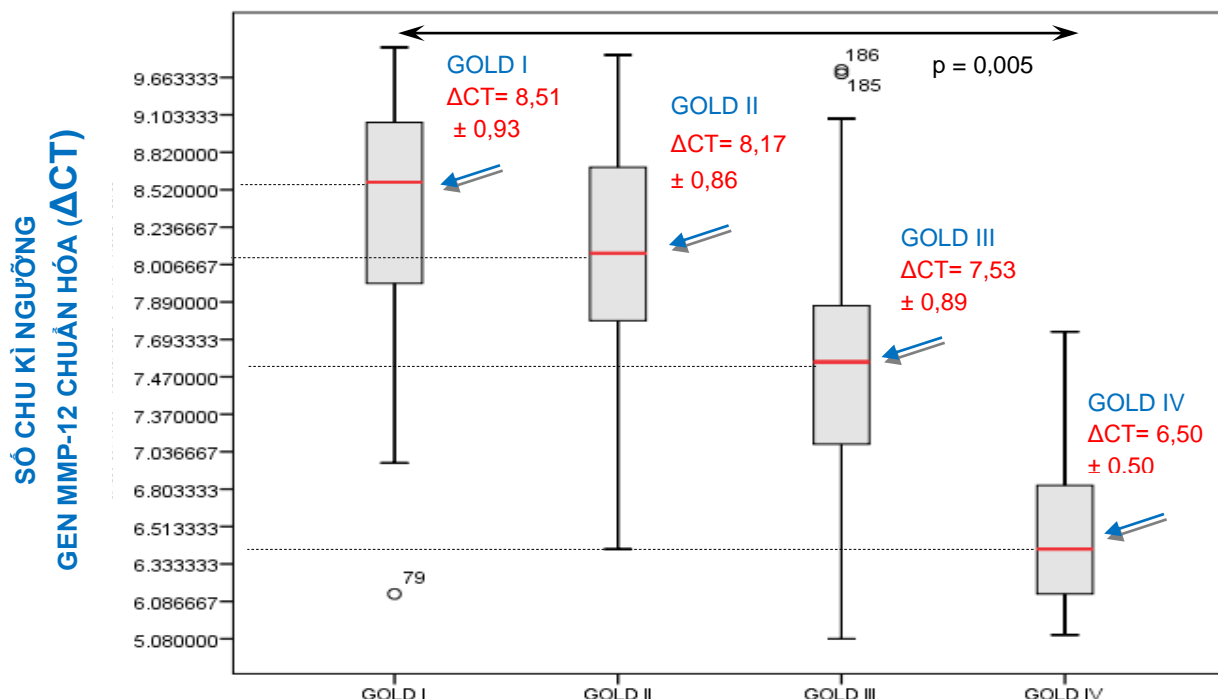
Phép kiểm tương quan Pearson r = 0,631, p\* = 0,001.

Bảng 3.19 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm GOLD IV > GOLD III > GOLD II > GOLD I, có ý nghĩa thống kê, p = 0,005. Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $8,51 \pm 0,93$ ;  $8,17 \pm 0,86$ ;  $7,53 \pm 0,98$ ;  $6,50 \pm 0,50$ .

Bảng 3.19 cho thấy giai đoạn tắc nghẽn càng nặng (giai đoạn GOLD càng nặng) mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm càng cao.

Phép kiểm tương quan Pearson có r = 0,631, có ý nghĩa thống kê, p = 0,001. Như vậy, có tương quan thuận giữa mức độ biểu hiện gen MMP-12 với độ nặng tắc nghẽn (giai đoạn GOLD), ở mức độ vừa.

Kết quả so sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV trình bày biểu đồ 3.11 dưới đây:



**Biểu đồ 3.11: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn GOLD**

Biểu đồ 3.11 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 càng cao dẫn đến giai đoạn tắc nghẽn GOLD càng nặng. Tương ứng số chu kì ngưỡng gen MMP12 ở nhóm GOLD I, II, III, IV lần lượt là:  $\Delta CT = 8,51 \pm 0,93$ ;  $8,17 \pm 0,86$ ;  $7,53 \pm 0,98$ ;  $6,50 \pm 0,50$ .

#### Kết quả phép kiểm hậu kiểm - Posthoc ở 4 nhóm GOLD I, II, III, IV

**Bảng 3.20: Kết quả phép kiểm Posthoc so sánh biểu hiện gen ở 4 giai đoạn GOLD**

NHÓM GOLD I,II,III,IV	NHÓM GOLD I,II,III,IV	p
Nhóm GOLD I	Nhóm GOLD II	<b>0,320</b>
	Nhóm GOLD III	0,000
	Nhóm GOLD IV	0,000
Nhóm GOLD II	Nhóm GOLD I	<b>0,320</b>
	Nhóm GOLD III	0,002
	Nhóm GOLD IV	0,000
Nhóm GOLD III	Nhóm GOLD I	0,000
	Nhóm GOLD II	0,002
	Nhóm GOLD IV	0,000
Nhóm GOLD IV	Nhóm GOLD I	0,000
	Nhóm GOLD II	0,000
	Nhóm GOLD III	0,000

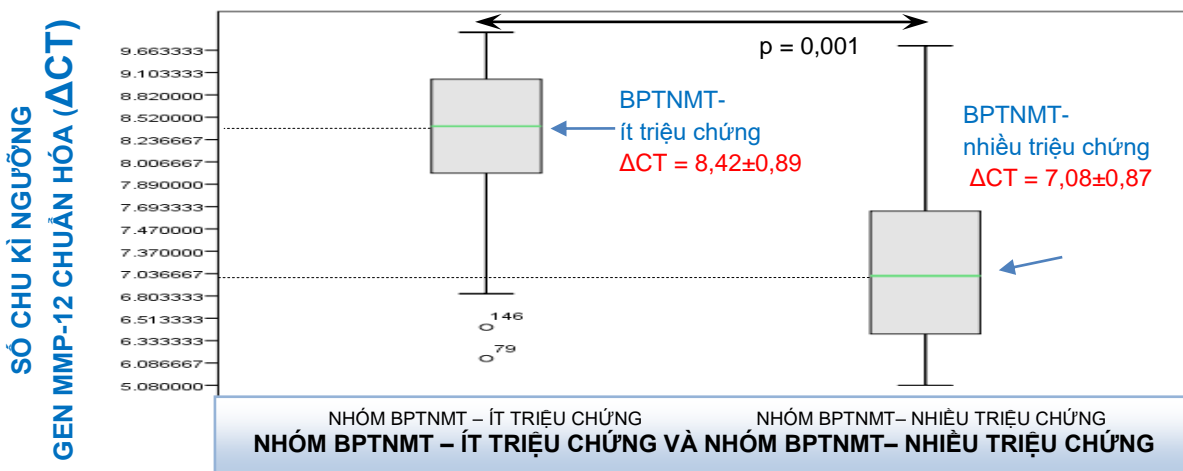
Bảng 3.20 cho thấy biểu hiện gen ở cặp giai đoạn nhẹ GOLD I so với GOLD II, không ý nghĩa thống kê  $p=0,320$ . Ngược lại, ở các cặp giai đoạn nặng GOLD III so với GOLD IV và các nhóm khác, có sự khác biệt rõ ràng, có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,05$ .

### 3.3.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng

**Bảng 3.21:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng

NHÓM BPTNMT (n=173)	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -Actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ Ct}	Tỉ lệ biểu hiện gen ( $2^{-\Delta\Delta$ Ct)	p
Nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng (n=95)	29,37 $\pm 0,93$	22,29 $\pm 0,80$	7,08 $\pm 0,87$	$2^{-7,08}$	2,53 1	0,001
Nhóm BPTNMT - ít triệu chứng (n=78)	30,99 $\pm 0,75$	22,57 $\pm 0,92$	8,42 $\pm 0,98$	$2^{-8,42}$		

Bảng 3.21 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở đối tượng nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng cao hơn so với nhóm BPTNMT- ít triệu chứng, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,08 \pm 0,87$  và  $\Delta$ CT =  $8,42 \pm 0,98$



**Biểu đồ 3.12:** So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT- ít triệu chứng

Biểu đồ 3.12 cho thấy cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- nhiều triệu cao hơn so với nhóm BPTNMT- ít triệu chứng 2,53 lần ( $2^{-7,08}$  so với  $2^{-8,42}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .



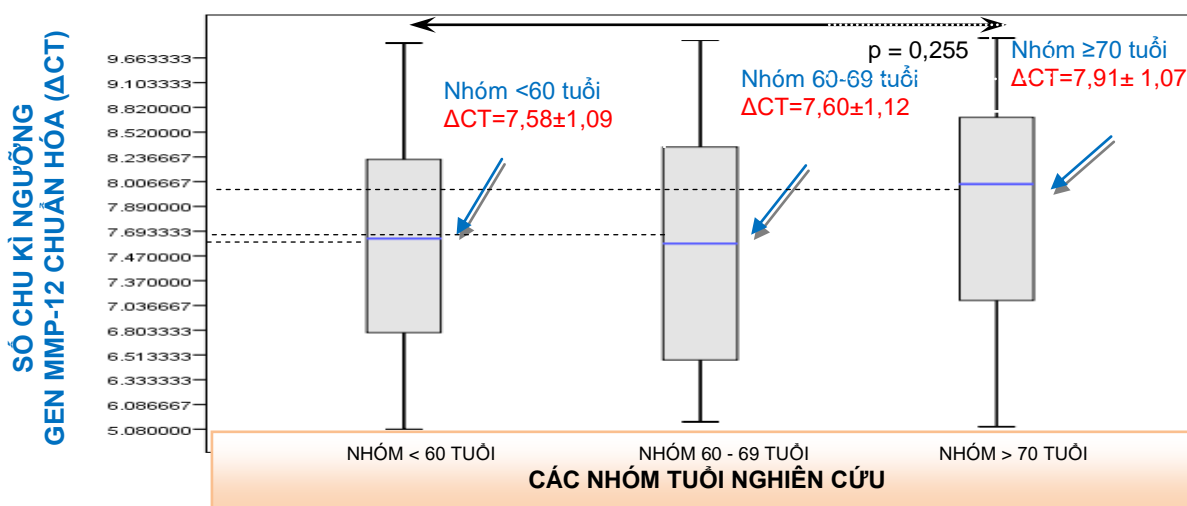
### 3.3.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 theo các nhóm tuổi

Tình trạng lão hóa là một trong những yếu tố nguy cơ của BPTNMT. Thông thường, người lớn tuổi hơn có thời gian tiếp xúc với nhiều yếu tố nguy cơ hơn, và hút thuốc nhiều năm hơn dẫn đến gia tăng mức độ biểu hiện gen MMP-12 đường dẫn khí nhỏ. Vì vậy chúng tôi tìm khảo sát mức độ biểu hiện gen theo nhóm tuổi.

**Bảng 3.23 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 theo các nhóm tuổi**

NHÓM BPTNMT CHUNG (n=173)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 (CT)	Số chu kì ngưỡng gen $\beta$ -Actin (CT)	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ CT}	p
Nhóm tuổi <60 (n=56)	29,89 $\pm 1,10$	22,30 $\pm 0,96$	7,58 $\pm 1,09$	$2^{-7,68}$	0,255
Nhóm tuổi 60-69 (n=66)	30,07 $\pm 1,22$	22,47 $\pm 0,71$	7,60 $\pm 1,12$	$2^{-7,60}$	
Nhóm tuổi $\geq 70$ (n=51)	30,39 $\pm 1,16$	22,48 $\pm 0,94$	7,91 $\pm 1,07$	$2^{-7,91}$	

Bảng 3.23 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các nhóm tuổi không khác biệt, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,255$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta$ CT =  $7,58 \pm 1,09$ ;  $7,60 \pm 1,12$ ;  $7,91 \pm 1,07$ .



**Biểu đồ 3.14: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các nhóm tuổi**

Biểu đồ 3.14 cho thấy số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ở các nhóm tuổi không khác biệt, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,255$ .



### 3.4 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI DẤU HIỆU SỚM CỦA TẮC NGHẼN ĐƯỜNG DẪN KHÍ NHỎ (CÒN GỌI LÀ TẮC NGHẼN NHỎ SỚM)

**3.4.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (FEF<sub>25-75%</sub>-dự đoán <60%) so với nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (đường kính < 2mm).**

Khảo sát tìm kiếm các đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ từ 2 nhóm: (1) nhóm khỏe - hút thuốc (n = 115) và (2) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) (n = 63)

Kết quả nghiên cứu cho thấy không phải tất cả những người hút thuốc lá đều có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (dấu hiệu tắc nghẽn nhỏ sớm). Nhóm khỏe - hút thuốc có 115 đối tượng, trong đó có n = 75 đối tượng bị tắc nghẽn nhỏ sớm, chiếm tỉ lệ 65, 2 % (75 / 115) (Bảng 3.6).

Nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có 63 đối tượng, trong đó có n = 6 đối tượng bị tắc nghẽn nhỏ sớm trong đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 9,5% (6 / 63) (Bảng 3.6).

**Bảng 3.24: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.**

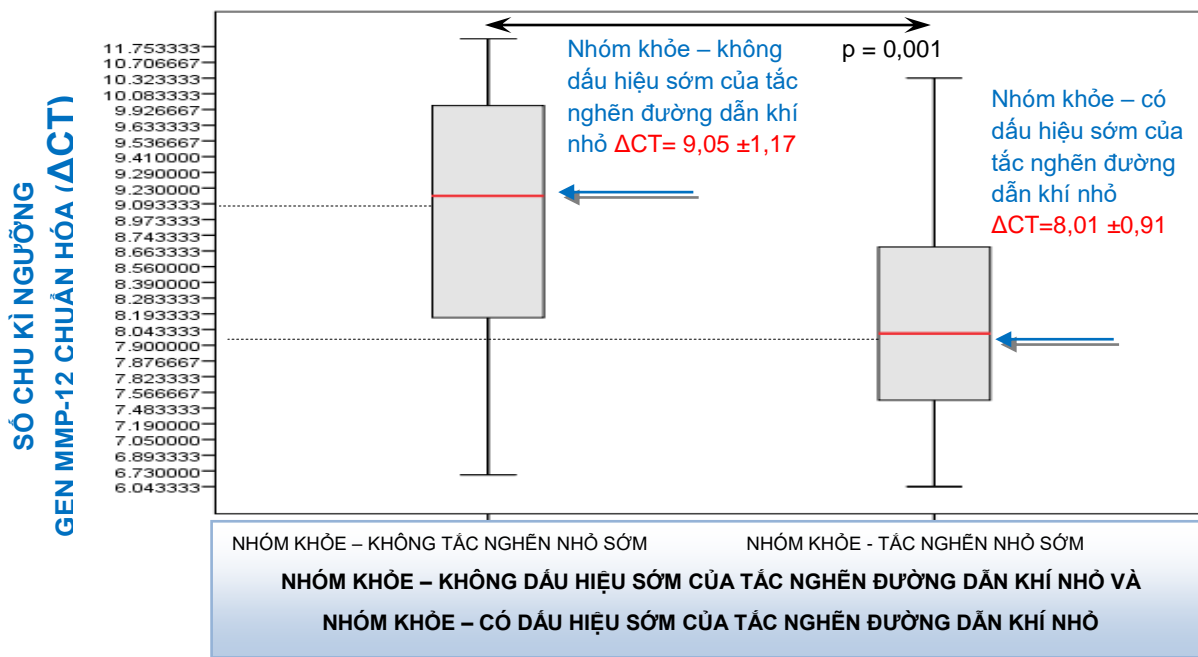
NHÓM KHỎE – CHUNG (n=178) (Nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc) (n=115 và n=63)	Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP-12	Số chu kì ngưỡng (CT) gen $\beta$ -Actin	Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa ( $\Delta$ CT)	$2^{-\Delta$ Ct	Tỉ lệ biểu hiện gen ( $2^{-\Delta\Delta$ Ct)	p
<b>Nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn</b> (n=81)	30,51 ± 0,96	22,45 ± 0,83	8,01 ± 0,91	$2^{-8,01}$	2,05 1	0,001 r=0,524 p*=0,001
<b>Nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn</b> (n=97)	31,12 ± 1,26	22,11 ± 0,95	9,05 ± 1,17	$2^{-9,05}$		

p = so sánh 2 nhóm theo phép kiểm T-test. Tương quan Pearson r = 0,524, p\* = 0,001

Bảng 3.24 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm

của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 8,01 \pm 0,91$  và  $9,05 \pm 1,17$ .

Kết quả so sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe-có tắc nghẽn nhỏ sớm so với nhóm khỏe - không tắc nghẽn nhỏ sớm được trình bày ở Biểu đồ 3.15 dưới đây:



**Biểu đồ 3.15: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ**

Biểu đồ 3.15 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ tăng cao hơn so với nhóm khỏe - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 2,05 lần ( $2^{-8,01}$  so với  $2^{-9,05}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .

Kết quả trên cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm tăng cao phản ánh dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (có tắc nghẽn nhỏ sớm) trong phổi ở những đối tượng khỏe mạnh (chưa bị bệnh BPTNMT), và cho thấy dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ thường gặp nhất là ở nhóm khỏe mạnh - hút thuốc lá dai dẳng.

### 3.4.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe -- hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ

Nhóm hút thuốc lá dai dẳng là nhóm có nguy cơ cao mắc bệnh BPTNMT, thường có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Do đó, trong phần dưới đây (Bảng 3.25) khảo sát tìm kiếm biểu hiện gen MMP-12 ở các đối tượng - hút thuốc lá - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

Nhóm khỏe - hút thuốc có tổng cộng là 115 đối tượng, trong đó có n = 75 đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 65,2 % và 40 đối tượng - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 34,8% (Bảng 3.6)

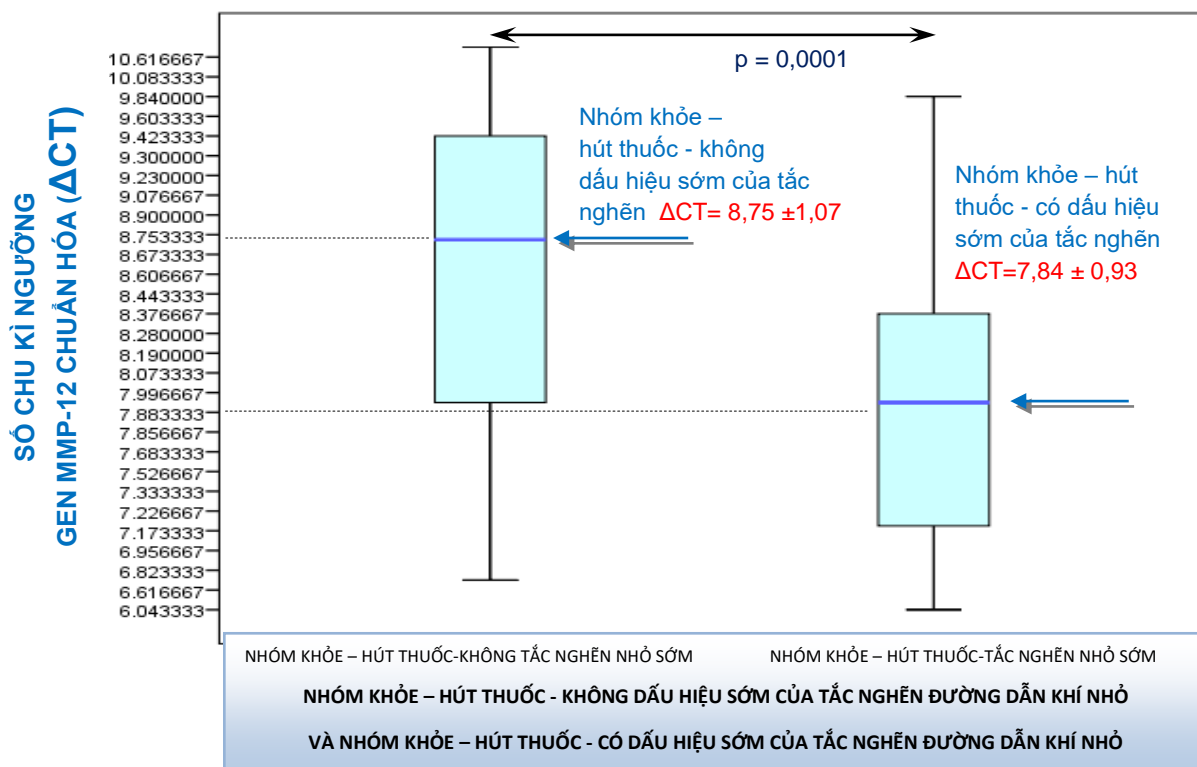
**Bảng 3.25 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ**

<b>NHÓM KHỎE - HÚT THUỐC (n=115)</b>	<b>Số chu kì ngưỡng (CT) gen MMP-12</b>	<b>Số chu kì ngưỡng (CT) gen β-Actin</b>	<b>Số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa (ΔCT)</b>	<b><math>2^{-\Delta Ct}</math></b>	<b>Tỉ lệ biểu hiện gen (<math>2^{-\Delta\Delta Ct}</math>)</b>	<b>p</b>
<b>Nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn (n=75)</b>	30,16 ± 0,95	22,12 ± 0,87	7,84 ± 0,93	$2^{-7,84}$	$\frac{1,87}{1}$	0,0001
<b>Nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn (n=40)</b>	30,22 ± 1,17	21,45 ± 0,75	8,75 ± 1,07	$2^{-8,75}$		

Bảng 3.25 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, có ý nghĩa thống kê, p = 0,0001. Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,84 \pm 0,93$  và  $8,75 \pm 1,07$ .

Kết quả biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm

của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ được trình bày ở Biểu đồ 3.16



**Biểu đồ 3.16: Biểu hiện gen MMP-12**

**Nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ và nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ**

Biểu đồ 3.16 cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 1,87 lần ( $2^{-7,84}$  so với  $2^{-8,75}$ ), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$

Như vậy, biểu hiện gen MMP-12 trong đàm tăng cao ở người hút thuốc lá, và tăng cao rõ ràng hơn ở người hút thuốc lá - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Như vậy, mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ( $\Delta CT = 7,84 \pm 0,93$ ) > nhóm khỏe - hút thuốc- không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ( $\Delta CT = 8,75 \pm 1,07$ ) > nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) ( $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$ ) (Bảng 3.25 và Bảng 3.16).

## CHƯƠNG IV. BÀN LUẬN

### 4.1 ĐẶC ĐIỂM DỊCH TỄ, LÂM SÀNG VÀ BIỂU HIỆN GEN MMP-12 TRONG TẾ BÀO ĐÀM Ở CÁC NHÓM NGHIÊN CỨU

#### 4.1.1 Tuổi tác

Tuổi trung bình chung của các đối tượng ( $n = 351$ ) trong nghiên cứu là  $65,2 \pm 8,5$ , đối tượng có tuổi thấp nhất là 55 tuổi và đối tượng có tuổi cao nhất là 93 tuổi.

Tuổi trung bình của nhóm đối tượng BPTNMT ( $n = 173$ ) là  $65,1 \pm 8,6$  (Bảng 3.1), kết quả này tương tự với các nghiên cứu trong nước và ngoài nước: nghiên cứu của tác giả Thái Thị Thùy Linh (2012) [6] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là 68,9; Lê Thị Huyền Trang (2012) [9] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là 67,2; nghiên cứu của tác giả Trần Thiện Luân (2008) [7] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là  $66,9 \pm 10,0$ ; nghiên cứu của tác giả Phạm Hoàng Khánh (2012) [5] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là  $66,4 \pm 11,6$ ; nghiên cứu của Babusyte (2007) [17] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là  $64,2 \pm 4,9$ ; nghiên cứu của tác giả Gilowska (2019) [51] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là  $70,4 \pm 9,0$ ; nghiên cứu của tác giả Wengdong Hao (2019) [137] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là  $70,9 \pm 7,6$ ; nghiên cứu của tác giả Kraen M (2019) [85] cho thấy nhóm BPTNMT có tuổi trung bình là  $66,0 \pm 6,2$ .

#### 4.1.2 Giới tính

Nhóm đối tượng bệnh BPTNMT trong nghiên cứu được chọn ngẫu nhiên, Tuy nhiên, có rất ít đối tượng nữ giới mắc bệnh BPTNMT đến khám hô hấp tại Bệnh viện Nguyễn Trãi và Bệnh viện Đại Học Y Dược TPHCM.

Nhóm BPTNMT- chung có 173 đối tượng tham gia nghiên cứu, trong đó nam giới là  $n = 153$  đối tượng, chiếm tỉ lệ là 88,4 % ( $153/ 173$ ) và nữ giới là  $n = 20$  đối tượng, chiếm tỉ lệ là 11,6% ( $20/ 173$ ), tỉ lệ nam cao hơn nữ 7,6 lần (Bảng 3.2), kết quả trên cho thấy đối tượng mắc bệnh BPTNMT hầu hết là nam giới.

Tỉ lệ nam / nữ mắc bệnh BPTNMT trong nghiên cứu của chúng tôi là tương tự một số nghiên cứu ở trong nước: (1) nghiên cứu của tác giả Phạm Hoàng Khánh (2012) [5] trên 562 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy có số bệnh nhân nam là  $n = 512$  đối tượng, chiếm tỉ lệ 91,1% và số bệnh nhân nữ là  $n = 50$  đối tượng, chiếm tỉ lệ

8,9%, tỉ lệ nam / nữ là 10/ 1; (2) nghiên cứu của tác giả Lê Khắc Bảo (2012) [1] trên 153 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy có số bệnh nhân nam là  $n = 142$  đối tượng, chiếm tỉ lệ 92,8% và bệnh nhân nữ là  $n = 11$  đối tượng, chiếm tỉ lệ 7,2%, tỉ lệ nam / nữ là 13/1; (3) nghiên cứu của tác giả Lê Thùy Linh (2012) [6] trên 100 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy có số bệnh nhân nam là  $n = 100$  đối tượng, chiếm tỉ lệ 100% và không có đối tượng bệnh nhân nữ.

Tỉ lệ nam / nữ mắc bệnh BPTNMT trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như các nghiên cứu ở trong nước. Tuy nhiên, có sự khác biệt so với các nghiên cứu ở nước ngoài: (1) nghiên cứu PLATINO của tác giả Ana Maria (2005) [13] trên 759 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy có số bệnh nhân nữ là  $n = 362$  đối tượng, chiếm tỉ lệ 47,7% và số bệnh nhân nam là  $n = 397$  đối tượng, chiếm tỉ lệ 52,3%, tỉ lệ nam / nữ ngang bằng nhau là 1 / 1; (2) nghiên cứu của Schirnhofner (2007) [117] trên 1.256 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy bệnh nhân nam chiếm tỉ lệ là 54,5% và bệnh nhân nữ chiếm tỉ lệ là 45,5%, tỉ lệ nam/nữ là 1,2 / 1; (3) nghiên cứu của Barbara (2013) [18] trên 702 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy bệnh nhân nam là  $n = 356$  đối tượng và bệnh nhân nữ là  $n = 346$  đối tượng, tỉ lệ bệnh nhân nam/nữ là 1 / 1; (4) nghiên cứu của Frederik (2015) [48], trên 95 bệnh nhân BPTNMT, cho thấy nam chiếm tỉ lệ 70,5% và nữ chiếm tỉ lệ 29,5%, tỉ lệ bệnh nhân nam / nữ là 2,4 / 1.

Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi và các nghiên cứu ở trong nước tương tự như nhau, số đối tượng mắc bệnh BPTNMT hầu hết là nam giới và rất ít đối tượng là nữ giới. Tuy nhiên, khác với các nghiên cứu ở nước ngoài, các nghiên cứu ở nước ngoài có số đối tượng mắc bệnh BPTNMT ở nam giới ngang bằng với nữ giới.

Tình trạng nam giới mắc bệnh BPTNMT chiếm đa số trong các nghiên cứu ở trong nước, có thể là do hầu hết đối tượng nghiện thuốc lá là nam giới, ngược lại phụ nữ rất ít khi hút thuốc lá; theo nghiên cứu của Bộ Y Tế Việt Nam trong điều tra GATS 2015 cho biết tỉ lệ nam giới hút thuốc là 45,3% và nữ giới hút thuốc là 1,1% trong dân số, tỉ lệ hút thuốc lá nam / nữ là 45 / 1.

#### **4.1.3 Số đối tượng ở các giai đoạn GOLD**

Bảng 3.3 cho thấy số đối tượng ở 4 nhóm: GOLD I, GOLD II, GOLD III và GOLD IV lần lượt là 42 (24,3%), 47 (27,2%), 48 (27,7%), và 36 (20,8%). Như vậy, tại Phòng khám hô hấp, nhóm GOLD IV có tỉ lệ thấp hơn các nhóm khác.

#### 4.1.4 Số gói - năm (pack - years) ở các nhóm

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 2 nhóm đối tượng hút thuốc lá là: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc và (2) nhóm khỏe - hút thuốc, các đối tượng này đã hút thuốc với khối lượng rất lớn, trong thời gian dài, mỗi ngày họ hút ít nhất là 0,5 gói thuốc lá (từ 0,5 đến 2 gói, một gói có 20 điếu) và thời gian hút của họ ít nhất là 35 năm (từ 35 đến 66 năm). Như vậy, số gói thuốc - năm (pack - years) của họ rất cao; ở nhóm khỏe - hút thuốc có số gói - năm trung bình là  $46,57 \pm 19,62$  và ở nhóm BPTNMT - hút thuốc có số gói - năm trung bình là  $50,65 \pm 16,75$  (Bảng 3.4).

Nhóm BPTNMT- hút thuốc trong nghiên cứu của chúng tôi đã hút thuốc với số gói - năm (pack - years) rất cao. Tương tự các nghiên cứu ở nước ngoài: (1) nghiên cứu của Demedts (2006) [39] ở nhóm BPTNMT có số gói - năm là 42,0 (từ 26 đến 55 gói - năm); (2) nghiên cứu của Natalie Terzikhan (2016) [103] ở nhóm BPTNMT có số gói - năm là  $34,6 \pm 19,8$ ; (3) nghiên cứu của tác giả Redka (2012) [115] ở nhóm BPTNMT có số gói - năm là 50 (từ 38 đến 72 gói- năm); (4) nghiên cứu của Kraen (2019) [85] ở nhóm BPTNMT có số gói - năm  $35 \pm 23$ .

Đáng chú ý, trong nghiên cứu của chúng tôi, ở nhóm khỏe - hút thuốc có số gói - năm (pack- years) là  $46,57 \pm 19,62$  cao hơn so với nhóm tương tự ở các nghiên cứu ở nước ngoài: (1) nghiên cứu của Demedts (2006) [39] cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc có số gói - năm là 35 (từ 16 đến 43 gói năm); (2) nghiên cứu Babusyst (2007) [17] cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc có số gói - năm là  $28,8 \pm 12,1$ ; (3) nghiên cứu của Redkha (2012) [43] cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc có số gói - năm là 31,0 ( từ 24,5 đến 38,0 gói - năm).

Như vậy, số gói - năm trung bình ở nhóm người Việt khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu này cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc ở nước ngoài 1,5 lần (46 so với 31 gói - năm); Điều này có thể là nguyên nhân dẫn đến tần suất mắc bệnh BPTNMT ở nước ta khá cao chiếm 6,7% trong dân số (người lớn), cao hơn nhiều nước trong khu vực Châu Á Thái Bình Dương [134], [153]. Tần suất BPTNMT ở phía bắc Việt Nam là 7,1% dân số người lớn [62]. Thêm vào đó, bên cạnh tình trạng nam giới có thói quen hút thuốc lá rất nhiều; ở nước ta, do tình trạng kinh tế xã hội còn kém, môi trường không khí bên ngoài bị ô nhiễm nhiều bụi mịn, khói bụi và khí độc hại, môi trường không khí trong nhà không thông thoáng, không gian chật hẹp,

thói quen nấu nướng trong nhà; những điều này, đã góp phần thúc đẩy dẫn đến gia tăng tần suất mắc bệnh BPTNMT.

Ở nhóm khỏe - hút thuốc lá trong nghiên cứu có thông số  $FEV_1 / FVC = 0,72 \pm 0,10$  (Bảng 3.5) là điều đáng chú ý, vì giá trị này rất gần với giá trị ngưỡng mắc bệnh BPTNMT ( $FEV_1 / FVC < 0,70$ ). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi về thông số  $FEV_1 / FVC$  ở nhóm khỏe - hút thuốc xấu hơn, nặng nề so với nhóm tương tự ở các nghiên cứu nước ngoài; Nghiên cứu của tác giả Redka (2012) [115] cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có thông số  $FEV_1 / FVC = 0,78$ ; nghiên cứu của tác giả Demedts (2006) [39] cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc cũng có  $FEV_1 / FVC = 0,78$ .

Ở nhóm khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu, có  $FEV_1 / FVC = 0,72 \pm 0,10$  cho thấy họ có nguy cơ cao mắc bệnh BPTNMT, nguyên nhân dẫn đến nguy cơ cao ở nhóm khỏe - hút thuốc có thể là do họ đã hút thuốc lá với số gói - năm quá lớn ( $46,57 \pm 19,62$  gói - năm, Bảng 3.4).

Kết quả số gói thuốc - năm (pack - years) ở các đối tượng ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, GOLD II, GOLD III và GOLD IV lần lượt là  $28,62 \pm 15,08$ ;  $45,11 \pm 22,15$ ;  $48,30 \pm 18,10$  và  $56,13 \pm 15,33$ , sự khác biệt về số gói - năm ở các nhóm GOLD này có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,032$  (Bảng 3.4). Kết quả này cho thấy các đối tượng BPTNMT ở giai đoạn tắc nghẽn nặng có số gói - năm (pack - years) cao hơn so với các đối tượng BPTNMT ở giai đoạn tắc nghẽn nhẹ. Phép kiểm tương quan Pearson về số gói thuốc - năm đã hút liên quan với mức độ tắc nghẽn (giai đoạn GOLD) ở đường dẫn khí cho thấy có mối tương quan thuận,  $r = 0,231$  và  $p = 0,006$  (Bảng 3.4). Như vậy, ở bệnh nhân BPTNMT, mức độ tắc nghẽn (GOLD I, II, III, IV) ở đường dẫn khí có liên quan thuận với số gói thuốc - năm (pack - years) mà bệnh nhân đã hút.

Số gói thuốc - năm (pack - years) ở các đối tượng ở 3 nhóm tuổi (nhóm  $< 60$  tuổi,  $60 - 69$  tuổi, và  $> 70$  tuổi) lần lượt là  $42,55 \pm 16,80$ ,  $46,38 \pm 20,90$  và  $49,98 \pm 15,99$ , không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,773$ . Thông thường, ở những người lớn tuổi hơn có thời gian tiếp xúc với nguy cơ khói thuốc lá nhiều hơn và số gói - năm có thể là cao hơn so với nhóm trẻ tuổi hơn. Tuy nhiên, trong nghiên cứu này, kết quả cho thấy số gói thuốc - năm ở 3 nhóm tuổi trên không khác biệt, không có ý nghĩa thống kê  $p = 0,773$  (Bảng 3.4).



#### **4.1.5 Giá trị trung bình các thông số hô hấp ở các nhóm nghiên cứu: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc**

Tất cả các đối tượng tham gia nghiên cứu đều được đo phế dung kí (máy đo phế dung kí KOKO), kết quả được ghi nhận trên phế dung kí gồm có các thông số hô hấp: SCV, FVC, FEV<sub>1</sub>(L), FEV<sub>1</sub> / FVC, FEV<sub>1</sub>% - dự đoán, FEV<sub>6</sub>, FEF<sub>25-75%</sub> . dự đoán và PEF<sub>R</sub> (L/S) (máy đo này không có chức năng đo DLCO).

Các thông số hô hấp trên phế dung kí phản ánh tình trạng tắc nghẽn các đường dẫn khí ở bệnh nhân BPTNMT, các thông số hô hấp như: FEV<sub>1</sub> / FVC, FEV<sub>1</sub> (L), FEV<sub>1</sub>% - dự đoán và FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán là các thông số quan trọng nhất trong BPTNMT, mức độ tắc nghẽn đường dẫn khí có liên quan chặt chẽ với các thông số hô hấp và liên quan đến nghiên cứu này.

So sánh giá trị trung bình ở tất cả các thông số hô hấp (FEV<sub>1</sub>/ FVC, FEV<sub>1</sub> (L), FEV<sub>1</sub>% và FEF<sub>25-75%</sub> ) ở 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT- không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc, có ý nghĩa thống kê, đều có p = 0,001 (Bảng 3.5) .

#### **Kết quả về thông số FEV<sub>1</sub> (L)**

Kết quả giá trị trung bình của thông số FEV<sub>1</sub>(L) (số lít khí thở ra gắng sức trong 1 giây đầu) ở 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc lần lượt là  $1,02 \pm 0,27$ ;  $1,20 \pm 0,34$ ;  $1,88 \pm 0,65$  và  $2,32 \pm 0,69$ , có ý nghĩa thống kê, p = 0,001 (Bảng 3.5). Như vậy, dung tích thở ra ở 1 giây đầu (FEV<sub>1</sub>) ở 4 nhóm đối tượng trên có khác biệt rõ ràng.

So sánh nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) về dung tích khí thở ra trong một giây đầu (FEV<sub>1</sub>(L)) lần lượt là:  $1,88 \pm 0,65$  và  $2,32 \pm 0,69$ ; phép kiểm T- test, p = 0,0002; kết quả này cho thấy có khả năng là những người khỏe - hút thuốc lá đã có sự hình thành và tiến triển tắc nghẽn sớm ở các đường dẫn khí nhỏ (đường kính < 2 mm) ở phổi.

#### **Kết quả về thông số FEV<sub>1</sub>% - dự đoán**

So sánh giá trị trung bình của thông số FEV<sub>1</sub>% - dự đoán ở 4 nhóm đối

tượng: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT- không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) lần lượt là  $0,45 \pm 0,17$ ;  $0,62 \pm 0,20$ ;  $0,88 \pm 0,23$  và  $0,99 \pm 0,19$ , sự khác biệt có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.5).

Kết quả này cho thấy mức độ tắc nghẽn đường dẫn khí (FEV1%) ở 4 nhóm đối tượng trên có khác biệt rõ ràng.

### **Kết quả về thông số FEF 25-75 % - dự đoán**

So sánh giá trị trung bình của thông số FEF 25-75 % - dự đoán (thông số phản ánh dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ) ở 4 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) lần lượt là  $0,22 \pm 0,09$ ;  $0,32 \pm 0,09$ ;  $0,49 \pm 0,12$  và  $0,94 \pm 0,35$ , có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.5). Kết quả này cho thấy mức độ tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở 4 nhóm đối tượng trong nghiên cứu đều có khác biệt rõ ràng.

Ở nhóm BPTNMT - hút thuốc và nhóm BPTNMT- không hút thuốc có thông số FEF 25-75 % - dự đoán lần lượt là  $0,22 \pm 0,09$  và  $0,32 \pm 0,09$  (Bảng 3.5), Kết quả này cho thấy ở bệnh nhân BPTNMT (hút thuốc hoặc không hút thuốc) luôn có FEF 25-75 % - dự đoán rất thấp; đồng nghĩa với tình trạng tắc nghẽn ở các đường dẫn khí nhỏ rất nhiều lan rộng trong 2 lá phổi ở những bệnh nhân BPTNMT.

Đáng chú ý là ở nhóm khỏe - hút thuốc lá có giá trị của FEF 25-75 % - dự đoán là  $0,49 \pm 0,12$  (Bảng 3.5). Điều này cho thấy các đối tượng nhóm khỏe - hút thuốc lá này đã có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ (theo tiêu chuẩn của phế dung kí, các đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ được xác định khi họ có FEF 25-75% - dự đoán  $< 0,60$ ).

### **Kết quả về thông số FEV<sub>1</sub> / FVC**

Nghiên cứu cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc có thông số FEV<sub>1</sub> / FVC =  $0,72 \pm 0,10$  (Bảng 3.5), giá trị này rất gần giá trị ngưỡng mắc bệnh BPTNMT (FEV<sub>1</sub>/ FVC  $< 0,7$ ). Kết quả này cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc (trong nghiên cứu này) là nhóm có nguy cơ cao mắc bệnh BPTNMT, có thể xem họ như là bệnh nhân BPTNMT ở giai đoạn 0 (trước đây, các nhà nghiên cứu phân loại bệnh nhân

BPTNMT - giai đoạn 0 là các đối tượng khỏe - hút thuốc - có triệu chứng) [68].

Trong nước, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu có thiết kế tương tự để chúng tôi so sánh.

Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả tương tự các nghiên cứu ở nước ngoài: (1) Nghiên cứu của tác giả Demedts (2006) [39] cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc lá có  $FEV_1 / FVC = 0,78$ ; (2) Nghiên cứu của tác giả Redka Chaudhuri (2012) [115] cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc cũng có  $FEV_1 / FVC = 0,78$ ; (3) Nghiên cứu của tác giả Gilowska (2019) [51] cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có  $FEV_1 / FVC = 0,88$ .

Kết quả nghiên cứu này cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có  $FEV_1 / FVC = 0,72 \pm 0,10$  (Bảng 3.5), giá trị này rất gần giá trị ngưỡng mắc bệnh BPTNMT, kết quả này có thể là do các đối tượng nhóm khỏe - hút thuốc đã hút thuốc quá nhiều với số gói - năm (pack-years), họ đã hút thuốc  $46,57 \pm 19,62$  gói - năm.

Ở nước ta, do tình trạng kinh tế xã hội còn kém, môi trường không khí ô nhiễm trong nhà và bên ngoài rất nhiều và đặc biệt là trong dân số người lớn có tần suất hút thuốc lá rất cao (hút thuốc ở nam giới chiếm tỉ lệ là 45,3 %, theo điều tra GATS của Bộ Y Tế), và họ hút thuốc lá rất nhiều (trong nghiên cứu này là  $46,57 \pm 19,62$  gói - năm); các yếu tố trên đã góp phần dẫn đến tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ trong phổi, dẫn đến BPTNMT, và dẫn đến tần suất mắc bệnh BPTNMT ở nước ta rất cao. Nghiên cứu của tác giả Hoàng Thị Lâm (2014) [62] cho thấy tần suất mắc bệnh BPTNMT ở Miền Bắc Việt Nam là 7,1% trong dân số người lớn; nghiên cứu của tác giả Yong Soo (2011) [153] cho thấy tần suất BPTNMT ở Việt Nam là 6,7% trong dân số người lớn, cao nhất trong 12 nước Châu Á Thái Bình Dương [153], tần suất này cao hơn hầu hết các nước Châu Âu [111].

#### **4.1.6 Tỉ lệ đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (còn gọi là tắc nghẽn nhỏ sớm) ở nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc**

Đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ trong phổi là những người không mắc bệnh BPTNMT, nhưng họ có  $FEF_{25-75\%}$  - dự đoán  $< 0,6$ .

Khảo sát tìm kiếm các đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ từ 178 đối tượng của 2 nhóm: (1) nhóm khỏe - hút thuốc ( $n=115$ ) và (2) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) ( $n = 63$ ) (Bảng 3.6).

Nhóm khỏe - hút thuốc có 115 đối tượng, trong đó, số đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ là  $n = 75$  đối tượng, và không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ là  $n = 40$  đối tượng; số đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ chiếm tỉ lệ là 65,2 % (75 / 115). Kết quả này cho thấy đa số những người hút thuốc lá dai dẳng đều có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

Nhóm khỏe - không hút thuốc 63 đối tượng, trong đó, số đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ là  $n = 6$ , chiếm tỉ lệ 9,5% (6 / 63).

#### **4.1.7 Tỉ lệ đối tượng BPTNMT - nguy cơ cao và tỉ lệ đối tượng BPTNMT-nhiều triệu chứng**

Nhóm BPTNMT - chung có 173 đối tượng; trong đó, gồm có 2 nhóm: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc lá có  $n = 112$  đối tượng và (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá có  $n = 61$  đối tượng (Bảng 3.6).

GOLD 2020 phân loại bệnh nhân BPTNMT - có nguy cơ cao căn cứ vào tiền sử số đợt cấp / năm, và mức độ nặng của đợt cấp.

Kết quả nghiên cứu số đối tượng nhóm BPTNMT - có nguy cơ cao là  $n = 117$  đối tượng, chiếm tỉ lệ là 67,6 % (117 / 173) (Bảng 3.7) cho thấy đa số bệnh nhân BPTNMT trong nghiên cứu này có nguy cơ cao và tức là họ bị ảnh hưởng nặng nề đến đời sống sinh hoạt.

Tương tự, GOLD 2020 phân loại bệnh nhân BPTNMT - có nhiều triệu chứng hoặc BPTNMT - có ít triệu chứng căn cứ theo thang điểm CAT và thang điểm mMRC.

Kết quả nghiên cứu cho thấy đối tượng nhóm BPTNMT - có nhiều triệu chứng  $n = 95$ , chiếm tỉ lệ là 54,9 % (95 / 173) (Bảng 3.7). Như vậy, đa số bệnh nhân BPTNMT trong nghiên cứu này có nhiều triệu chứng, và tức là họ bị bệnh ảnh hưởng nặng nề đến đời sống, sinh hoạt.

Kết quả nghiên cứu này của chúng tôi không có tài liệu trong và ngoài nước để so sánh.

#### **4.1.8 Tỉ lệ đối tượng theo phân nhóm A, B, C, D ở nhóm BPTNMT**

Nhóm BPTNMT - chung có 173 đối tượng; trong đó, gồm có 2 nhóm: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc lá có  $n = 112$  đối tượng và (2) nhóm BPTNMT - không

hút thuốc lá có  $n = 61$  đối tượng (Bảng 3.6).

Nhóm BPTNMT - chung được phân chia thành 4 nhóm: nhóm A, nhóm B, nhóm C, nhóm D với số đối tượng và tỉ lệ lần lượt là 27 (15,6%), 29 (16,8%), 51 (29,5%), 66 (38,1%) (Bảng 3.7). Như vậy, kết quả trên cho thấy đa số bệnh nhân BPTNMT đến khám bệnh tại Phòng Khám Hô Hấp là thuộc về nhóm D, tức là các nhóm nhiều triệu chứng.

#### **4.1.9 Đặc điểm mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm nghiên cứu**

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 được phản ánh thông qua số chu kì ngưỡng ( $\Delta CT$ ). Kết quả nghiên cứu (Bảng 3.9) cho thấy số chu kì ngưỡng của gen MMP-12 ở 4 nhóm đối tượng như sau: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc có  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$ ; (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc có  $\Delta CT = 7,81 \pm 1,11$ ; (3) Nhóm khỏe - hút thuốc có  $\Delta CT = 7,86 \pm 1,02$ ; (4) Nhóm khỏe - không hút thuốc có  $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$  (Bảng 3.9). Kết quả này cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ cao xuống thấp theo thứ tự là: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc > (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc > (3) nhóm khỏe - hút thuốc > (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.9).

Nhóm BPTNMT - hút thuốc có mức độ biểu hiện gen MMP-12 cao nhất (tương ứng với số chu kì ngưỡng thấp nhất là  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$ ) và ngược lại, nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có mức độ biểu hiện gen MMP-12 thấp nhất (tương ứng với số chu kì ngưỡng cao nhất là  $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$ ).

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn có trong đàm kích thích ở tất cả mọi đối tượng nghiên cứu (đối tượng bệnh BPTNMT và đối tượng nhóm khỏe), và cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở các nhóm nghiên cứu là không đồng nhất, do liên quan với bệnh lí BPTNMT và / hoặc tình trạng hút thuốc lá (Bảng 3.9).

#### **Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự một số nghiên cứu ở nước ngoài:**

(1) Nghiên cứu của tác giả Peng Qu (2009) [107] cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm BPTNMT - hút thuốc > nhóm BPTNMT - không hút thuốc > nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng), và tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 6,91 \pm 1,74$ ;  $7,30 \pm 2,68$  và  $8,46 \pm 1,66$ ,  $p = 0,001$ . Tác giả Peng Qu [107] cho thấy nhóm BPTNMT -

hút thuốc lá có biểu hiện gen MMP-12 là cao nhất, cao hơn so với nhóm chứng 2,92 lần. Nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn so với nhóm chứng 2,32 lần. Như vậy, mức độ biểu hiện gen từ cao xuống thấp trong nghiên cứu của chúng tôi tương tự như mức độ biểu hiện gen từ cao xuống thấp trong nghiên cứu của tác giả Peng Qu [107]. Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nhóm BPTNMT - hút thuốc có mức độ biểu hiện gen cao nhất, có  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$  (Bảng 3.9), tương tự, nghiên cứu của tác giả Peng Qu cũng cho thấy nhóm BPTNMT- hút thuốc có mức độ biểu hiện gen cao nhất, với  $\Delta CT = 6,91 \pm 1,74$ . Ngược lại, trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nhóm chứng có mức độ biểu hiện gen thấp nhất, có  $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$  (Bảng 3.9), tương tự, nghiên cứu của Peng Qu cũng cho thấy nhóm chứng có mức độ biểu hiện gen thấp nhất, có  $\Delta CT = 8,46 \pm 1,66$ .

Tương tự, (2) nghiên cứu của tác giả Gilowska Iwona và cộng sự (2019) [51] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 trong huyết thanh; của nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc 2,12 lần,  $p < 0,0001$ . Nồng độ proteinase MMP-12 trong huyết thanh của nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng 1,94 lần,  $p < 0,0001$ . Tương tự với nghiên cứu của chúng tôi là ở nhóm BPTNMT - hút thuốc có biểu hiện gen cao hơn nhóm chứng 3,63 lần (Bảng 3.11).

Đáng chú ý là trong phản ứng Realtime RT- PCR có rất nhiều loại gen chứng nội (như chúng tôi đã đề cập ở phần trên) có thể được chọn lựa để sử dụng trong phản ứng, mục đích của gen chứng nội giúp chuẩn hóa phản ứng Realtime RT-PCR, các gen chứng nội thường sử dụng là:  $\beta$ -Actin, GAPDH,  $\beta_2$ -microglobulin, và rRNA..., trong nghiên cứu của chúng tôi được thiết kế với gen chứng nội là  $\beta$ -Actin. Vì vậy, các kết quả về số chu kỳ ngưỡng chuẩn hóa ( $\Delta CT$ ) trong nghiên cứu của chúng tôi có tính đại diện cho gen mục tiêu là gen MMP-12 được thực hiện cùng với gen chứng nội là  $\beta$ -Actin. Điều này, dẫn đến kết quả nghiên cứu của chúng tôi có khả năng chênh lệch một ít về trị số chu kỳ ngưỡng của gen MMP-12 so với các nghiên cứu khác (do 2 nghiên cứu có sử dụng gen chứng nội khác nhau), ví dụ: tác giả Peng Qu và cộng sự (2009) [107] nghiên cứu biểu hiện gen MMP-12 và gen chứng nội được sử dụng là GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase) cho thấy nhóm BPTNMT - hút thuốc, nhóm BPTNMT - không hút thuốc và nhóm

chúng có số chu kì ngưỡng gen MMP-12 chuẩn hóa lần lượt là  $\Delta CT = 6,91 \pm 1,74$ ;  $7,30 \pm 2,68$  và  $8,46 \pm 1,66$  so với nghiên cứu của chúng tôi lần lượt là  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$ ;  $7,81 \pm 1,10$  và  $9,47 \pm 1,08$  (Bảng 3.9). Tức là, có sự chênh lệch nhỏ về trị số chu kì ngưỡng của gen MMP-12 ở nghiên cứu của chúng tôi so với nghiên cứu của tác giả Peng Qu.

Như chúng tôi đã đề cập, do các nghiên cứu khác nhau có sử dụng gen chứng nội khác nhau (trong nghiên cứu chúng tôi sử dụng gen  $\beta$ -Actin so với nghiên cứu Peng Qu [107] sử dụng gen GAPDH), và kết quả thường chênh lệch nhau một ít về trị số, nhưng kết cục vẫn có kết luận chung tương tự như nhau là nhóm bệnh nhân BPTNMT có biểu hiện gen MMP-12 tăng cao hơn so với nhóm khỏe mạnh (nhóm chứng),  $p < 0,001$ .

## **4.2 KHẢO SÁT MỐI LIÊN QUAN GIỮA KHÓI THUỐC LÁ VỚI BIỂU HIỆN GEN MMP-12 DẪN ĐẾN BPTNMT.**

### **4.2.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung so với nhóm khỏe - chung (nhóm không BPTNMT)**

Kết quả nghiên cứu cho thấy nhóm BPTNMT - chung (gồm nhóm BPTNMT - hút thuốc và nhóm BPTNMT - không hút thuốc) có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn so với nhóm khỏe - chung (gồm nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc) 1,95 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.10). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen lần lượt là  $\Delta CT = 7,68 \pm 1,10$  so với  $8,65 \pm 1,22$  (Bảng 3.10).

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở người mắc bệnh BPTNMT so với người khỏe mạnh (người không mắc bệnh BPTNMT).

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong đàm, đường dẫn khí và nhu mô phổi ở bệnh nhân BPTNMT là cơ sở để góp phần giải thích về tình trạng viêm mạn tính luôn tiến triển ở bệnh nhân BPTNMT. Có khả năng là do sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong phổi có vai trò góp phần dẫn đến tình trạng viêm, phá hủy sợi elastin, collagen trong chất nền phế nang, tái cấu trúc các đường dẫn khí nhỏ dẫn đến BPTNMT.

Kết quả nghiên cứu cho thấy gen MMP-12 luôn có trong tế bào đàm ở tất cả mọi nhóm đối tượng: người bệnh BPTNMT cũng như người chưa mắc bệnh BPTNMT và người khỏe mạnh hoàn toàn. Trước đây, một số tác giả không tìm thấy

gen MMP-12 trong tế bào đàm / trong phổi, (ví dụ: nghiên cứu của Imai K và cộng sự (2001) [69], và một số nghiên cứu khác). Ngày nay, các nhà nghiên cứu cho biết gen MMP-12 định vị trên nhiễm sắc thể số 11 trong nhân tế bào, ở vị trí 11q22.2, tất cả tế bào có nhân đều có mang gen MMP-12.

Tuy nhiên, sự hoạt động của gen MMP-12 chỉ gặp 3 loại tế bào là: (1) đại thực bào (macrophage), (2) tế bào cơ trơn (smooth muscle cell, tế bào cơ trơn phế quản, tế bào cơ trơn mạch máu...), (3) nguyên bào sợi (fibroblast, là tế bào định vị trong mô liên kết, tiết ra chất nền và mô sợi) [74].

Khi đối tượng mắc bệnh BPTNMT do phơi nhiễm với các yếu tố nguy cơ khói bụi, khí độc hại dai dẳng; thường gặp nhất là nguy cơ khói thuốc lá sẽ kích hoạt các gen MMP-12 ở các tế bào này (tế bào cơ trơn, đại thực bào, nguyên bào sợi) gia tăng hoạt động dẫn đến gia tăng mức độ biểu hiện gen MMP-12 và nồng độ proteinase MMP-12 trong tế bào ở đàm, trong huyết thanh, trong hơi thở cô đặc [137]. Thêm vào đó, thành phần tế bào trong đàm khạc ra hầu hết là đại thực bào (macrophage) và ngược lại, hầu như không có tế bào cơ trơn, nguyên bào sợi. (trong phần này đề cập về các loại tế bào có liên quan với hoạt hóa gen MMP-12. Các tế bào ái toan, và bạch cầu đa nhân trung tính... trong đàm không hoạt hóa, không sản xuất MMP-12). Vì vậy, mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đại thực bào cũng chính là mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm [115].

Như vậy, kết quả trong nghiên cứu của chúng tôi (Bảng 3.10) cho thấy người mắc bệnh BPTNMT luôn có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn người khỏe mạnh (người không mắc bệnh BPTNMT), và cho thấy gen MMP-12 có vai trò liên quan đến cơ chế bệnh sinh BPTNMT. Kết quả này phù hợp với kết luận của tổ chức GOLD 2020: “gen MMP-12 có liên quan đến BPTNMT hoặc liên quan đến các yếu tố nguy cơ dẫn đến BPTNMT” [54].

Ở trong nước, hiện nay, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT để chúng tôi so sánh.

Ở nước ngoài, nhiều nghiên cứu về gen MMP-12 ở BPTNMT được thiết kế với 3 hình thức khác nhau như: (1) nghiên cứu thiết kế về mức độ biểu hiện gen MMP-12 (là nghiên cứu về sự sao chép từ RNA thành DNA), (2) nghiên cứu thiết kế đo nồng độ proteinase MMP-12 (là nghiên cứu về miễn dịch kháng nguyên – kháng thể, proteinase do gen tương ứng giải mã) và (3) nghiên cứu thiết kế về sự



hoạt động gen MMP-12 ở BPTNMT (nghiên cứu hoạt động gen MMP-12 trên bề mặt đại thực bào). Vì vậy, trong phần trình bày kết quả nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 của các tác giả có thể ở những dạng khác nhau.

Trước đây, vào những năm đầu nghiên cứu về biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT, các tác giả kết luận là không tìm thấy sự biểu hiện gen MMP-12, hoặc không có sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở người bệnh BPTNMT. Tuy nhiên, trong những năm sau đó và cho đến nay, các nghiên cứu đều kết luận có sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 và / hoặc proteinase MMP-12 ở người bệnh BPTNMT và người khỏe có hút thuốc lá dai dẳng. Nghiên cứu của chúng tôi cũng có kết quả biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở người mắc bệnh BPTNMT, tương tự với kết quả nghiên cứu của các tác giả nước ngoài.

Đáng chú ý là, trong những năm gần đây, do ngành sinh học phân tử phát triển, hầu hết các nghiên cứu ở nước ngoài về MMP-12 là nghiên cứu cùng một lúc nhiều loại gen có liên quan đến cơ chế bệnh sinh mất cân bằng proteinase - antiproteinase; ví dụ: các tác giả nước ngoài thường nghiên cứu các gen sản xuất ra các proteinase là gen MMP-1, MMP-2, MMP-8, MMP-9, MMP-12...cùng lúc với nghiên cứu các gen sản xuất ra các antiproteinase là gen TIMP1, TIMP2, TIMP3, TIMP 4,  $\alpha$ 1- Antitrypsin...và các nghiên cứu nước ngoài thường thiết kế nghiên cứu theo hướng Realtime RT- PCR với định lượng nồng độ tuyệt đối.

Bước đầu, do điều kiện của Phòng Y Sinh Học Phân Tử Đại học Y Dược TPHCM, nên chúng tôi chỉ thực hiện nghiên cứu biểu hiện gen với phương pháp định lượng tương đối, trên một loại gen MMP-12 được các nhà nghiên cứu chú ý nhiều nhất, và được tổ chức GOLD 2020 cho biết “gen MMP-12 có liên quan đến BPTNMT hoặc liên quan đến yếu tố nguy cơ BPTNMT” [54] (nghiên cứu chỉ trên 1 gen MMP-12 và định lượng tương đối là hạn chế trong đề tài này)

Trong những thập niên trước đây, các nghiên cứu ở nước ngoài có kết luận là: không có gia tăng mức độ biểu hiện gen MMP-12 và không có gia tăng nồng độ proteinase MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT. Có nghĩa là khác với kết quả nghiên cứu của chúng tôi. Các nghiên cứu vào những thập niên trước đây gồm có: (1) nghiên cứu của tác giả Finlay GA (1997) [46], (2) nghiên cứu của tác giả Imai K (2001) [69], (3) nghiên cứu của tác giả Lapan P (2010) [86] (4) nghiên cứu của tác giả Gosselink JV (2010) [55], (5) nghiên cứu của tác giả Hyeon (2016) [66].

Trong các nghiên cứu được đề cập trên: (1) nghiên cứu của tác giả Finlay GA (1997) [46] kết luận không có sự khác biệt về mức độ biểu hiện mRNA MMP-12, cũng không có gia tăng sản xuất proteinase MMP-12 từ gen MMP-12 ở BPTNMT. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của tác giả Finlay GA. Điều đáng chú ý là nghiên cứu của tác giả Finlay thực hiện trên cỡ mẫu khá nhỏ, chỉ có 10 bệnh nhân khí phế thũng / BPTNMT, và cỡ mẫu lại được chia nhỏ hơn nữa là nhóm BPTNMT- hút thuốc chỉ có 4 đối tượng và nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc có n = 6 đối tượng, nhóm chứng có n = 10 đối tượng.

Một nghiên cứu khác là: (2) nghiên cứu của tác giả Imai K và cộng sự (2001) [69], mẫu mô trong nghiên cứu là nhu mô phổi, tác giả kết luận: không có gia tăng mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở những bệnh nhân khí phế thũng / BPTNMT, không có gia tăng mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở những người khỏe - hút thuốc và hầu hết mRNA MMP-12 không thể tìm thấy ở phổi bình thường. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của tác giả Imai K [69]. Điều đáng chú ý trong thiết kế nghiên cứu của tác giả Imai K (2001) [69] là sử dụng mẫu mô nghiên cứu từ sự cắt nhu mô phổi và sau đó là nuôi cấy các tế bào đại thực bào (tế bào sản xuất MMP-12) từ nhu mô phổi này, sau đó là xác định mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở phổi. Kết quả nghiên cứu của tác giả Imai K là không có gia tăng mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở những bệnh nhân khí phế thũng / BPTNMT. Kết quả này có thể là do tác giả đã nuôi cấy tế bào đại thực bào ở môi trường ngoài phổi, ngoài cơ thể, (tức là môi trường không có hóa ứng động các loại tế bào viêm, chất trung gian gây viêm, tế bào miễn dịch, các chỉ dấu sinh học phân tử...)

Tương tự, (3) nghiên cứu của tác giả Lapan P và cộng sự (2010) [86] trên 38 đối tượng BPTNMT, tác giả thực hiện xác định nồng độ proteinase MMP-12 bằng phản ứng miễn dịch Sandwich ELISA. Tác giả kết luận có sự biểu hiện của proteinase MMP-12 / gen MMP-12 ở phổi. Tuy nhiên, nghiên cứu của tác giả Lapan P kết luận không có sự khác biệt nồng độ proteinase MMP-12 giữa nhóm mắc bệnh BPTNMT so với nhóm chứng. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của tác giả Lapan P (2010) [86].

Tương tự, (4) nghiên cứu của tác giả Gosselink JV và cộng sự (2010) [55] thực hiện trên 8 bệnh nhân BPTNMT đang chờ được cấy ghép phổi, biểu hiện gen MMP-12 được đo bằng phản ứng RT-PCR định lượng và so sánh bằng phương

pháp hồi quy tuyến tính. Tác giả Gosselink JV báo cáo không thể tìm thấy bất kỳ mối liên hệ nào về biểu hiện gen MMP-12 trong nhu mô phổi với bệnh lý BPTNMT. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của tác giả Lapan P. Đáng chú ý là nghiên cứu của tác giả Gosselink JV (2010) [86] được thực hiện trên cỡ mẫu khá nhỏ, chỉ có 8 đối tượng bệnh nhân BPTNMT.

Tương tự, (5) nghiên cứu của tác giả Hyeon - Kyoung Koo (2016) [66] trên 57 bệnh nhân BPTNMT và 36 đối tượng nhóm chứng, tác giả kết luận mức độ biểu hiện gen MMP-12 và nồng độ proteinase MMP-12 trong huyết thanh không có khác biệt đáng kể giữa nhóm BPTNMT so với nhóm chứng,  $p = 0,73$ . Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi khác với kết quả nghiên cứu của tác giả Hyeon - Kyoung Koo (2016) [66].

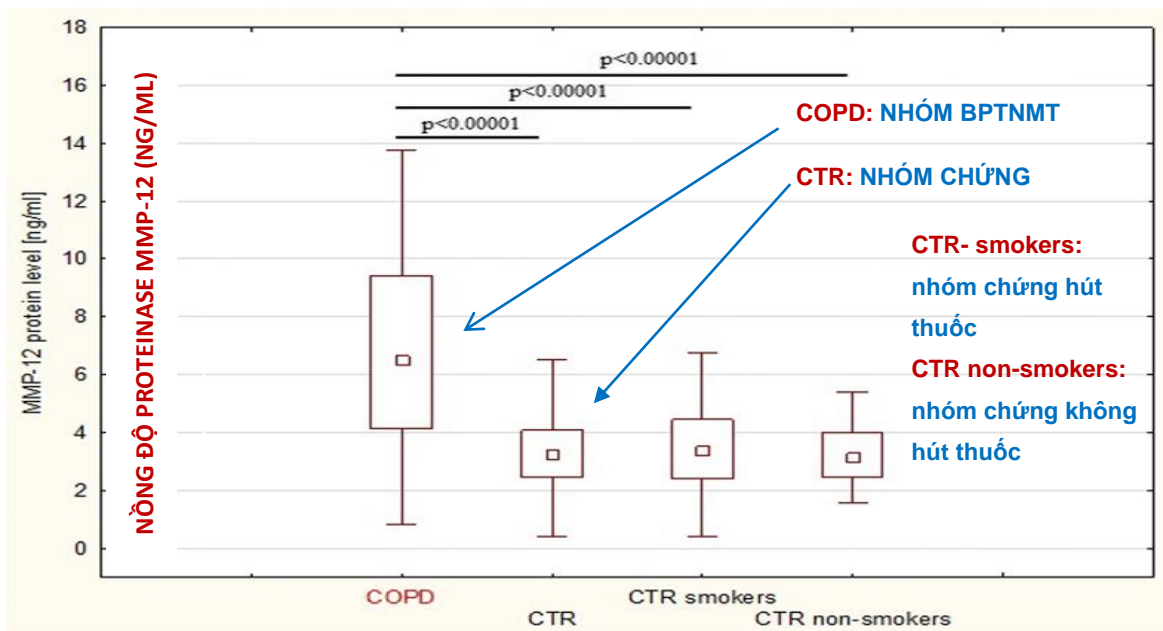
Tổng hợp lại, các nghiên cứu nói trên, các nghiên cứu có kết luận không tìm thấy sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 và / hoặc proteinase MMP-12 ở BPTNMT là ở các nghiên cứu không sử dụng mẫu mô nghiên cứu là đàm kích thích, mà sử dụng mẫu mô là: nhu mô phổi, huyết thanh, nuôi cấy tế bào đại thực bào. Điều này, khác với nghiên cứu của chúng tôi có mẫu mô nghiên cứu là đàm kích thích; Đáng chú ý là hầu hết các nghiên cứu này đã thực hiện nghiên cứu với cỡ mẫu rất nhỏ ở nhóm đối tượng mắc bệnh BPTNMT và ở mẫu chứng; ví dụ: nghiên cứu của tác giả Finlay GA [46] chỉ có  $n = 10$  đối tượng mắc bệnh BPTNMT, nghiên cứu của tác giả Imai K [66] chỉ có  $n = 8$  đối tượng ở nhóm chứng, nghiên cứu của tác giả Gosselink [55] có  $n = 8$  đối tượng ở nhóm BPTNMT [55].

Ngược lại với các kết quả nghiên cứu trên, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy người mắc bệnh BPTNMT luôn có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn so với người khỏe (người không mắc bệnh BPTNMT).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm BPTNMT so với nhóm chứng (Bảng 3.11 và 3.12) là tương tự với các kết quả nghiên cứu của các tác giả nước ngoài: (1) Nghiên cứu của tác giả Molet S (2005) [99] cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng  $p < 0,05$ , (2) Nghiên cứu của tác giả Demedts IK (2006) [38] cho thấy proteinase MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng  $p = 0,0002$ , (3) Nghiên cứu của tác giả Babusyte A (2007) [17] cho thấy biểu hiện gen ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng  $p < 0,05$ , (4) Nghiên cứu của tác giả Rekha

(2012) [115] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $p = 0,003$ , (5) Nghiên cứu của tác giả Annelie (2016) [14] cho thấy ở dịch rửa phế quản có nồng độ proteinase MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $p = 0,005$ , (6) Nghiên cứu của tác giả Taru Aggarwal (2017) [127] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $p < 0,001$ , (7) nghiên cứu của tác giả Wengdong Hao (2019) [137] cho thấy mức độ biểu hiện mRNA MMP -12 ở bệnh nhân BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $p = 0,0067$ , (8) nghiên cứu của tác giả Gilowska Iwona (2019) [51] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $p < 0,0001$ , (9) nghiên cứu của tác giả Kraen M (2019) [85] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng,  $p < 0,0001$ .

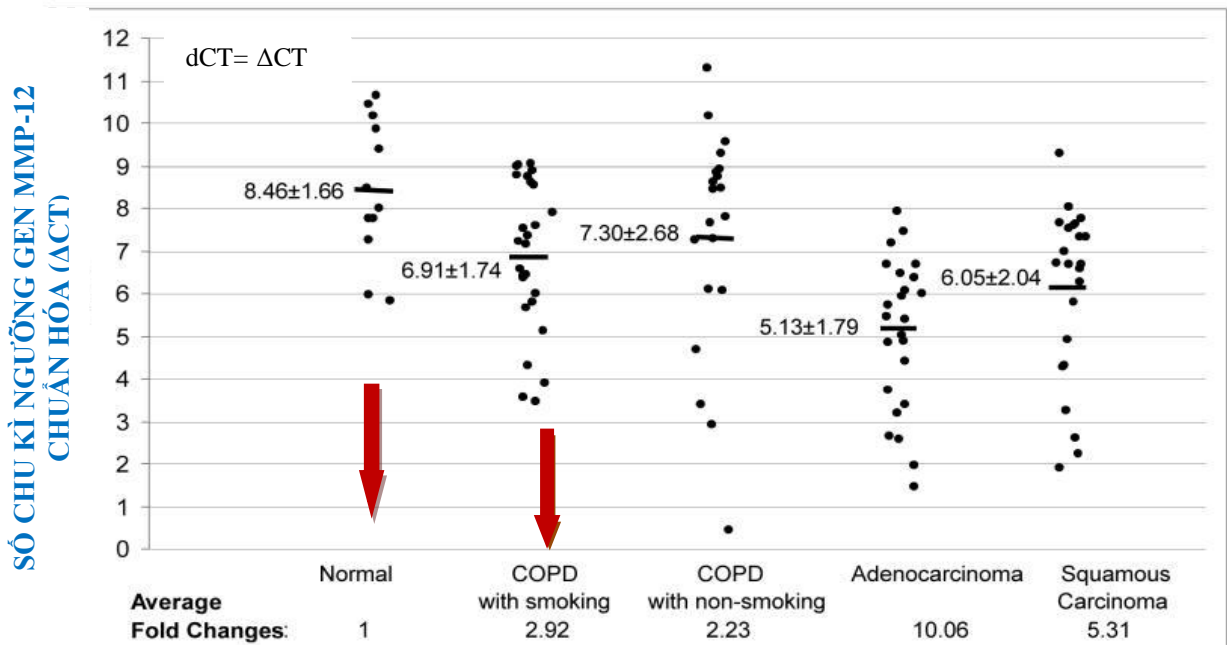
Như chúng tôi đã trình bày, do các tác giả nghiên cứu có những thiết kế nghiên cứu khác nhau và kỹ thuật khác nhau để phát hiện mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở phổi. Vì vậy, các kết quả nghiên cứu có thể trình bày ở những dạng khác nhau và biểu đồ, hình minh họa có thể ở các dạng khác nhau (hầu hết các tác giả nghiên cứu đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 thông qua nồng độ proteinase MMP-12). Trong nghiên cứu của tác giả Gilowska [51] có biểu đồ minh họa bệnh BPTNMT theo nồng độ proteinase MMP-12 theo Biểu đồ 4.1 dưới đây.



**Biểu đồ 4.1: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT trong nghiên cứu của Gilowska. “Nguồn: Gilowska, 2019” [51]**

Biểu đồ 4.1 cho thấy tác giả Gilowska [51] thiết kế nhóm chứng (chung) gồm có 2 nhóm nhỏ là: (1) nhóm chứng - hút thuốc và (2) nhóm chứng - không hút. Kết quả là biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT (COPD) cao hơn so với nhóm nhóm chứng - chung (viết tắt là CTR), có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$ . Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả nghiên cứu của Gilowska.

Một nghiên cứu khác có kết quả tương tự nghiên cứu của chúng tôi là nghiên cứu của tác giả Peng Qu (2009) [107] cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở người mắc bệnh BPTNMT cao hơn so với người khỏe mạnh. (Biểu đồ 4.2).



**Biểu đồ 4.2: So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở BPTNMT trong nghiên cứu của Peng Qu. “Nguồn: Peng Qu, 2009” [107]**

Tác giả Peng Qu (2009) [107] giải thích biểu đồ minh họa trên như sau: “Biểu hiện mRNA của gen MMP-12 trong phản ứng Realtime RT PCR được chuẩn hóa (normalized) bởi biểu hiện mRNA của gen chứng nội GAPDH. Những số dọc theo cột (trục tung) là số trung bình của chu kỳ ngưỡng - dCT (delta CT hoặc còn kí hiệu là  $\Delta CT$ ). Độ gấp hơn (fold change) trong biểu hiện gen được xác định bởi công thức  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ . Trong công thức tính biểu hiện gen:  $\Delta CT = dCt$  của mẫu mô ở nhóm BPTNMT (hoặc mẫu mô ở nhóm Ung thư) trừ đi dCt của mẫu mô ở người bình thường. Con số ở phần đáy (bottom) phản ánh mức độ gấp hơn (fold) của gen mục tiêu (gen MMP-12) ở mẫu mô bệnh lí so với gen mục tiêu (gen MMP-12) ở mẫu mô của người bình thường. Các mẫu mô của người đã được chuẩn hóa” [107].

Trong biểu đồ minh họa kết quả nghiên cứu của tác giả Peng Qu (2009) [107] (Biểu đồ 4.2) cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc lá cao hơn so với nhóm chứng 2,92 lần, và nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá cao hơn so với nhóm chứng gấp 2,23 lần. Nghiên cứu của Peng Qu (2009) [107] nghiên cứu 2 bệnh có liên quan đến khối thuốc lá là: (1) ung thư tuyến ở phổi và (2) khí phế thũng / BPTNMT, kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong cả 2 bệnh lí này so với nhóm chứng, và tác giả Peng Qu kết luận: có thể là MMP-12 là phân tử gây ra khí phế thũng từ đó chuyển tiếp thành ung thư phổi. Trong nghiên cứu này, tác giả Peng Qu sử dụng phản ứng RT-PCR và định lượng gen MMP-12 tương đối. Như vậy, nghiên cứu của chúng tôi có sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT so với nhóm chứng là tương tự với nghiên cứu của tác giả Peng Qu (2009) [107].

Trong kết quả nghiên cứu của chúng tôi với tỉ lệ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung cao hơn so với nhóm khỏe - chung 1,95 lần,  $p = 0,0001$  (Bảng 3.10) là tương tự với kết quả nghiên cứu của tác giả Peng Qu (2009) [107] với tỉ lệ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn nhóm chứng 2,92 lần. (Biểu đồ 4.2)

Đáng chú ý là trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỉ lệ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng là 1,95 lần, có nghĩa là chênh lệch với kết quả trong nghiên cứu của tác giả Peng Qu [107] với tỉ lệ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT cao hơn so với nhóm chứng là 2,92 lần; Như vậy, có sự chênh lệch về 2 tỉ lệ trên (1,95 lần so với 2,92 lần). Điều này, có thể là do thiết kế nghiên cứu của chúng tôi khác với thiết kế nghiên cứu của tác giả Peng Qu; cụ thể là, chúng tôi sử dụng gen chứng nội là  $\beta$ -Actin trong phản ứng Realtime RT-PCR, khác với nghiên cứu của tác giả Peng Qu sử dụng gen chứng nội là GAPDH (Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase)

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - chung cao hơn so với nhóm khỏe - chung (nhóm chứng) 1,95 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.10). Điều này cho thấy gen MMP-12 có vai trò liên quan đến bệnh lí BPTNMT, và mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có thể xem như là một chỉ dấu sinh học có thể có hữu ích trong lâm sàng của bệnh

nhân BPTNMT. Có thể là sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là một trong những yếu tố nguy cơ để góp phần tiên đoán đối tượng mắc bệnh BPTNMT.

Tuy nhiên, trong lâm sàng, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm còn gặp trong các các trạng thái bệnh lí của đường hô hấp như: hen [104], ung thư tuyến ở phổi, ung thư tế bào vẩy ở phổi [107],... và ngay cả ở những người hút thuốc lá dai dẳng (nhóm khỏe- hút thuốc lá) [115], [143]. Vì vậy, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm chỉ là yếu tố nguy cơ để hướng tới chẩn đoán BPTNMT và cần chẩn đoán phân biệt với các bệnh lí khác có liên quan với gia tăng biểu hiện gen MMP-12. Nói cách khác, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là điều kiện cần trong chẩn đoán BPTNMT, nhưng chưa là điều kiện đủ để kết luận bệnh nhân mắc bệnh BPTNMT.

Tóm lại, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là chỉ dấu sinh học để hướng tới chẩn đoán BPTNMT và có thể là dùng để chẩn đoán phân biệt với một số bệnh phổi khác (bệnh phổi không tăng biểu hiện gen MMP-12). Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi về vai trò MMP-12 trong BPTNMT chỉ là nghiên cứu bước đầu, quy mô nhỏ, cần có nhiều nghiên cứu thêm nữa, với quy mô lớn, để làm sáng tỏ vai trò của gen MMP-12 ở BPTNMT.

#### **4.2.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)**

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen nhóm BPTNMT - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,63 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$  (Bảng 3.11). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$  so với  $9,47 \pm 1,08$  (Bảng 3.11).

Kết quả nghiên cứu cho thấy người mắc bệnh BPTNMT luôn có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm, và đặc biệt là nhóm BPTNMT - hút thuốc lá là nhóm có biểu hiện gen MMP-12 trong đàm cao nhất (trong kết quả nghiên cứu từ Bảng 3.19 cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ cao xuống thấp theo thứ tự là: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc > (2) nhóm BPTNMT- không hút thuốc > (3) nhóm khỏe- hút thuốc > (4) nhóm khỏe - không hút thuốc). Điều này, cho thấy gen MMP-12 có vai trò liên quan đến BPTNMT và cũng cho thấy có thể là yếu tố nguy cơ khói thuốc lá có liên quan mức độ biểu hiện gen MMP-12.

Kết quả nghiên cứu (Bảng 3.11) cho thấy biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở người mắc bệnh BPTNMT là tương tự với các kết quả nghiên cứu của các tác giả nước ngoài, mà chúng tôi vừa trình bày ở phần trên (Mục 4.2.1).

#### **4.2.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- không hút thuốc lá so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng)**

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,16 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.12). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen lần lượt là  $\Delta CT = 7,81 \pm 1,11$  và  $\Delta CT = 9,47 \pm 1,08$  (Bảng 3.12).

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở bệnh nhân BPTNMT- không hút thuốc cũng như ở BPTNMT- hút thuốc. (kết hợp kết quả nghiên cứu ở Bảng 3.11 và Bảng 3.12).

Nhóm BPTNMT- không hút thuốc lá tương tự như nhóm BPTNMT- hút thuốc lá, cả hai nhóm này đều có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn so với nhóm chứng, có ý nghĩa thống kê,  $p < 0,05$ . Kết quả này cho thấy vai trò của sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong phổi dẫn đến BPTNMT.

Kết quả đối tượng BPTNMT- không hút thuốc có sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi (Bảng 3.12) đã góp phần giải thích về tình trạng vì sao có những người không hút thuốc lá nhưng vẫn mắc bệnh BPTNMT. Lý do là, ở những đối tượng - không hút thuốc lá này đã có (sẵn) tình trạng gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi của họ (sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi của họ không phải là do khói thuốc lá, do nguyên nhân khác. Do MMP-12 tăng cao ở phổi, dẫn đến phá hủy protein chất nền (elastin, collagen) ở phế nang, ở đường dẫn khí nhỏ dẫn đến BPTNMT.

Kết quả biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá cho thấy bên cạnh yếu tố nguy cơ chính là khói thuốc lá, còn có các yếu tố nguy cơ khác làm gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong phổi. Có khả năng là các yếu tố nguy cơ như: khói bụi, phân tử độc hại, khí độc hại khác đã tương tác với các yếu tố gen, biến thể gen trên cơ thể. Từ đó, kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong các tế bào đàm, trong đường dẫn khí nhỏ và trong phổi.

Tóm lại, kết quả nghiên cứu nhóm BPTNMT- không hút thuốc lá có biểu



hiện gen MMP-12 cao hơn so với nhóm chứng,  $p = 0,001$  (Bảng 3.12) cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở người mắc bệnh BPTNMT (cho dù bệnh nhân BPTNMT có hút thuốc lá hay không hút thuốc lá), và cho thấy gen MMP-12 có liên quan đến cơ chế bệnh sinh dẫn đến BPTNMT. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có thể xem như là một chỉ dấu sinh học có thể hữu ích trong lâm sàng của BPTNMT.

#### **4.2.4 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc**

Cả 2 nhóm trên đều thuộc nhóm có hút thuốc lá: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc và (2) nhóm khỏe - hút thuốc.

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc không khác biệt so với nhóm khỏe - hút thuốc, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,077$  (Bảng 3.13). Tương ứng với số chu kỳ ngưỡng của gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$  và  $7,86 \pm 1,02$  (Bảng 3.13).

Kết quả trên cho thấy khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ chính dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm, bằng chứng là cả 2 nhóm đối tượng: (1) nhóm BPTNMT- hút thuốc, và (2) nhóm khỏe - hút thuốc đều có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm.

Tuy nhiên, nhóm khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu này chưa mắc bệnh BPTNMT (nhóm khỏe - hút thuốc có  $FEV1 / FVC = 0,72 \pm 0,09$  (Bảng 3.5)). Kết quả này cho thấy có khả năng là, sự gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong phổi ở người hút thuốc lá chưa đủ các điều kiện về bệnh sinh dẫn đến BPTNMT.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc không khác biệt so với nhóm khỏe - hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,077$  (Bảng 3.13) là tương tự với các nghiên cứu nước ngoài: Nghiên cứu của tác giả Rekha Chaudhuri và cộng sự (2012) [115] cho thấy nồng độ proteinase MMP-12 trong đàm ở những đối tượng BPTNMT - hút thuốc không khác biệt so với đối tượng khỏe mạnh - hút thuốc lá,  $p = 0,270$ .

Kết quả nghiên cứu (về mặt thống kê so sánh) cho thấy nhóm BPTNMT- hút thuốc có mức độ biểu hiện gen MMP-12 không khác biệt so với nhóm khỏe - hút thuốc,  $p = 0,077$  (Bảng 3.13). Tuy nhiên, 2 nhóm này có sự khác biệt rõ ràng về

biểu hiện lâm sàng. Bởi vì, nhóm khỏe - hút thuốc vẫn chưa (không) có biểu hiện bệnh lí trên lâm sàng, chưa có triệu chứng của bệnh tắc nghẽn đường dẫn khí và nhóm này có giá trị thông số hô hấp (trên phế dung kí) ở trong mức giới hạn bình thường ( $FEV_1 / FVC = 0,72 \pm 0,09$  (Bảng 3.5)). Ngược lại, ở nhóm BPTNMT - hút thuốc có biểu hiện trên lâm sàng tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ nặng nề, có nhiều triệu chứng: khó thở, ho đàm mạn tính và bất thường rõ ràng về các thông số hô hấp ( $FEV_1 / FVC = 0,49 \pm 0,08$  và  $FEF_{25-75\%} -$  dự đoán  $= 0,22 \pm 0,09$  (Bảng 3.5)).

Mặc dù, nhóm BPTNMT- hút thuốc và nhóm khỏe - hút thuốc đều có gia tăng biểu hiện MMP-12 tăng cao, đều cao hơn nhóm chứng,  $p < 0,05$ . Nhưng các đối tượng ở nhóm BPTNMT - hút thuốc có triệu chứng lâm sàng của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Ngược lại, các đối tượng ở nhóm khỏe - hút thuốc vẫn chưa mắc bệnh, không có triệu chứng lâm sàng. Điều này, cho thấy có thể là do các đối tượng ở nhóm BPTNMT - hút thuốc này là nhóm có cơ địa (thể tạng) có mang kiểu gen nhạy cảm với mắc bệnh BPTNMT [29], [38], [123], hoặc ngược lại, có thể là, các đối tượng ở nhóm khỏe - hút thuốc có mang kiểu gen, biến thể gen có tính chất bảo vệ cơ thể với BPTNMT [77].

Nhóm khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu này có thể đã có mang yếu tố gen, biến thể gen (genetic variation) bảo vệ cơ thể với bệnh lí BPTNMT. Có thể là, các biến thể gen ở nhóm khỏe - hút thuốc lá này đã kích hoạt mạnh hệ thống gen - có vai trò sản xuất ra các antiproteinase (ví dụ: các gen TIMP 1,2,3,4, alpha -1 antitrypsin...) để xuất ra các antiproteinase, và để cân bằng với các proteinase. Vì vậy, mặc dù nhóm khỏe - hút thuốc đã có hút thuốc lá trong thời gian dài, có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 / proteinase MMP-12 ở phổi, nhưng cơ thể nhóm khỏe - hút thuốc vẫn còn sự cân bằng giữa proteinase - antiproteinase tương đối. Do đó, họ vẫn chưa mắc bệnh BPTNMT (có thể là nhóm khỏe - hút thuốc có tình trạng tắc nghẽn đường dẫn khí tiến triển chậm tương đối).

Các nghiên cứu gần đây đã đề cập đến yếu tố gen bảo vệ cơ thể với bệnh BPTNMT và yếu tố gen nhạy cảm với BPTNMT: (1) nghiên cứu của tác giả Wei Chen và Brehm M. John (2015) [29] ở đối tượng người Tây Ban Nha cho thấy có 2 ổ gen nhạy cảm và gây ra bệnh sinh BPTNMT là ổ gen KLHL7 / NUPL2 và ổ gen DLG2; (2) nghiên cứu của Sorheim IC (2010) [123], và (3) nghiên cứu của DeMeo

(2007) [38] cho thấy ổ gen nhạy cảm với mắc bệnh BPTNMT ở vị trí đa hình nucleotide đơn (SNP - Single Nucleotide Polymorphism) là E1- rs8192287 và I1- rs9192288 là hai biến thể gen (genetic variation) trong intron đầu tiên, hai biến thể gen này liên quan đến giảm chức năng phổi; (4) nghiên cứu của Yamada N (2000) [150] tìm thấy biến thể gen ở vùng khởi động của gen HMOX-1, trong sự sắp xếp của các nucleotide, nếu có chứa trên 30 lần lặp lại kiểu nucleotide (GT)<sub>n</sub> dẫn đến gia tăng tính nhạy cảm với khí phế thũng / BPTNMT; (5) nghiên cứu của Yuan CH và cộng sự (2017) [154] nghiên cứu về tương quan trên bộ gen (Genome Wide Association Studies, GWAS) cho thấy có 5 ổ gen nhạy cảm với mắc bệnh BPTNMT là: ổ gen 4q31 (HHIP), ổ gen 15q25 (CHRNA5) liên quan khí phế thũng, ổ gen 4q13 (SHOWAHB), 8q24 (TRAPPC9) và 10p12 (KIAA1462) liên quan với tính nhạy cảm mắc bệnh BPTNMT. Trong đó, ổ gen 4q31 (HHIP) định vị ở nhiễm sắc thể 4 được tổ chức GOLD 2020 và các nhà nghiên cứu quan tâm nhiều đến ổ gen này [54].

Như vậy, có thể là các đối tượng trong nhóm mắc bệnh BPTNMT- hút thuốc trong nghiên cứu của chúng tôi là các đối tượng có mang các gen, các biến thể gen nhạy cảm với mắc bệnh BPTNMT. Ngược lại, cũng có thể là ở nhóm khỏe - hút thuốc có mang yếu tố gen, biến thể gen có tính bảo vệ cơ thể với BPTNMT.

Các yếu tố gen, biến thể gen - có tính bảo vệ cơ thể đã được tìm thấy trong các nghiên cứu: (1) Nghiên cứu của tác giả Klaus Juul (2006) [77] cho biết trong gen SOD3 khi có sự xuất hiện biến thể gen R213G để tạo ra các đa hình nucleotide đơn (SNP) là tạo ra các yếu tố gen bảo vệ cơ thể với bệnh BPTNMT. (2) Nghiên cứu của Young RP [152] cho thấy biến thể gen R213G trong gen SOD3 có khả năng giảm nguy cơ phát triển BPTNMT, tác giả Klaus Juul cho thấy tần số biến thể R213G của gen SOD3 tăng cao ở người khỏe mạnh - hút thuốc so với người mắc bệnh BPTNMT. (3) Nghiên cứu của tác giả Gilowska và cộng sự (2019) [51] kết luận biến thể gen MMP-12 là alen - 82G của đa hình nucleotide đơn - SNP rs2276109 làm giảm biểu hiện gen MMP-12, đồng nghĩa với có liên quan đến việc giảm nguy cơ mắc bệnh BPTNMT ở trẻ nhỏ bị hen và người lớn hút thuốc lá” [77], [152], tác giả Gilowska cho biết có thể là biến thể gen SNP rs2276109 - có tính bảo vệ đã kích hoạt gia tăng sản xuất ra các antiproteinase, từ đó dẫn đến sự cân bằng

proteinase - antiproteinase trong phổi. Tác giả Gilowska cho biết các antiproteinase này được giải mã từ các gen TIMP gồm có: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, TIMP-4; Các antiproteinase TIMP là chất ức chế các proteinase MMP và proteinase MMP-12. Các antiproteinase TIMP có chức năng ức chế sự phá hủy chất nền ở phế nang và ở phổi do các proteinase MMP gây ra. Các nhà nghiên cứu cho biết  $\alpha_1$ -antitrypsin là các antiproteinase; Vì vậy, sự khiếm khuyết gen  $\alpha_1$ AT (gen  $\alpha_1$ AT sản xuất ra antiproteinase) dẫn đến mắc bệnh BPTNMT do yếu tố gen [16], [22].

Tóm lại, kết quả nghiên cứu cho thấy có khả năng là nhóm khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu này đã có mang yếu tố gen, biến thể gen - có tính bảo vệ cơ thể một phần nào đó, đã giúp làm hạn chế, chậm lại quá trình viêm, và chậm lại sự phá hủy chất nền ngoại bào ở phế nang, ở phổi do gen MMP-12, hoặc là, nhóm khỏe - hút thuốc này có mang yếu tố gen, biến thể gen có tính bảo vệ cơ thể không mắc bệnh BPTNMT.

#### **4.2.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc so với nhóm khỏe - hút thuốc**

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc không khác biệt so với nhóm khỏe - hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,771$  (Bảng 3.14). Tương ứng với số chu kỳ ngưỡng của gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,81 \pm 1,11$  và  $7,86 \pm 1,02$  (Bảng 3.14)

Kết quả nghiên cứu cả 2 nhóm này đều có biểu hiện gen MMP-12 tăng cao như nhau (cả 2 nhóm này đều có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn nhóm chứng  $p = 0,001$ ). Điều này, cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi là do khói thuốc lá. Tuy nhiên, ở nhóm BPTNMT - không hút thuốc sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi (Bảng 3.14) không phải là do khói thuốc lá. Như vậy, có khả năng là không chỉ có khói thuốc lá dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 mà còn có các yếu tố nguy cơ khác (ví dụ: khói, bụi, phân tử độc hại, khí độc hại, hen, lao phổi...) cũng có thể dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 ở phổi và dẫn đến BPTNMT.

Nhóm khỏe - hút thuốc tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm nhưng vẫn chưa mắc bệnh BPTNMT, có thể là do nhóm này có thể tạng mang yếu tố gen bảo vệ cơ thể, làm chậm lại quá trình tắc nghẽn đường thở nhỏ hoặc có mang yếu tố

gen bảo vệ cơ thể không mắc bệnh BPTNMT (như đã trình bày ở Mục 4.2.5 ở trên).

#### **4.2.6 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- hút thuốc so với nhóm BPTNMT- không hút thuốc.**

Nhóm BPTNMT - hút thuốc lá và nhóm BPTNMT- không thuốc lá có điểm chung như nhau là cùng mắc bệnh BPTNMT, nhưng có điểm khác nhau ở tiền sử là một nhóm có hút thuốc và nhóm còn lại không hút thuốc.

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc không khác biệt so với nhóm BPTNMT - không hút thuốc, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,371$  (Bảng 3.15), tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc so với nhóm BPTNMT - không hút thuốc lần lượt là  $\Delta CT = 7,61 \pm 1,10$  và  $\Delta CT = 7,81 \pm 1,11$  (Bảng 3.15).

Kết quả nghiên cứu cả 2 nhóm này đều có biểu hiện gen MMP-12 tăng cao như nhau (cả 2 nhóm này đều có biểu hiện gen MMP-12 cao hơn nhóm chứng  $p = 0,001$ ). Điều này, cho thấy có khả năng là không chỉ có khói thuốc lá dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 mà còn có các yếu tố nguy cơ khác cũng có thể dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12, ví dụ: khói, bụi, phân tử độc hại, khí độc hại... (như đã trình bày ở phần trên).

Các đối tượng nhóm BPTNMT- không hút thuốc trong nghiên cứu này có thể đã phơi nhiễm với các yếu tố nguy cơ khác ở môi trường ô nhiễm trong, ngoài nhà. Ở nước ta, do điều kiện kinh tế - xã hội còn thấp, môi trường trong nhà chật hẹp không thông thoáng, thói quen nấu nướng trong nhà; môi trường bên ngoài nhiều khói bụi, khí độc hại ngày càng tăng ở mức báo động nguy hại. Vì vậy, có khả năng là các đối tượng nhóm mắc bệnh BPTNMT- không hút thuốc đã phơi nhiễm với môi trường có nhiều khói bụi, khí độc hại, mà không phải là do phơi nhiễm với khói thuốc lá.

Tuy nhiên, có một khả năng khác nữa là các đối tượng nhóm mắc bệnh BPTNMT- không hút thuốc này đã phơi nhiễm thụ động với khói thuốc lá, họ đã hít phải khói thuốc lá dai dẳng trong môi trường không thông thoáng. Thêm vào đó, các đối tượng mắc bệnh BPTNMT- không hút thuốc này có thể bị phơi nhiễm cùng lúc nhiều yếu tố nguy cơ phối hợp như: khói thuốc lá, môi trường không khí ô

nhiễm trong và ngoài nhà, hóa chất, bụi nghề nghiệp, tình trạng nhiễm trùng hô hấp, tiền sử hen, lao phổi....

Tóm lại, mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở bệnh nhân BPTNMT- có hút thuốc không khác biệt so với bệnh nhân BPTNMT- không có hút thuốc, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,371$  (Bảng 3.15) và cả 2 nhóm này đều tăng biểu hiện gen MMP-12 so với nhóm chứng,  $p = 0,001$ . Điều này, cho thấy biểu hiện gen MMP-12 gia tăng ở tất cả bệnh nhân BPTNMT (gồm có BPTNMT- hút thuốc và BPTNMT- không hút thuốc). Có khả năng là không phải chỉ có do khói thuốc lá dẫn đến BPTNMT, mà còn do nhiều yếu tố nguy cơ độc lập khác nhau (ngoài khói thuốc lá) tương tác với yếu tố gen, biến thể gen của bệnh nhân dẫn đến BPTNMT.

#### **4.2.7 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc lá so với nhóm khỏe - không hút thuốc lá (nhóm chứng)**

Nhóm khỏe - hút thuốc và nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) đều là nhóm khỏe mạnh (không mắc bệnh BPTNMT trong thời gian nghiên cứu).

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) 3,05 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.16). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,86 \pm 1,02$  và  $9,47 \pm 1,08$  (Bảng 3.16).

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 luôn tăng cao ở các đối tượng hút thuốc lá dai dẳng. Mặc dù, đối tượng là người khỏe mạnh (chưa mắc bệnh BPTNMT), nhưng khi đối tượng này khi hút thuốc lá dai dẳng sẽ dẫn đến biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong phổi. Kết quả này bằng chứng để khuyên những người hút thuốc lá nên ngưng hút thuốc, nguyên do là sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong phổi là yếu tố nguy cơ cao dẫn đến BPTNM.

Cơ chế bệnh sinh BPTNMT cho biết khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ chính kích hoạt gen MMP-12 sản xuất (giải mã) proteinase MMP-12 dẫn đến BPTNMT. Khi phổi bị phơi nhiễm với khói lá thuốc dai dẳng, khói thuốc lá tác động vào tế bào cơ trơn (cơ trơn phế quản, cơ trơn mạch máu) ở đường dẫn khí nhỏ và các đại thực bào (macrophage) ở phế nang. Từ đó, kích hoạt gen MMP-12 sản xuất proteinase MMP-12, lôi kéo các tế bào viêm, chất trung gian gây viêm, các chỉ dấu sinh học... dẫn đến tình trạng viêm tiến triển và dẫn đến BPTNMT. Như vậy, nhóm

khỏe - hút thuốc trong nghiên cứu này có biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong đàm có khả năng nhiều là do họ hút thuốc lá nhiều và dai dẳng, họ đã hút  $46,57 \pm 19,62$  gói – năm (pack – years) (Bảng 3.4).

Kết quả nghiên cứu cho thấy vai trò của khói thuốc lá trong BPTNMT. Bước đầu, khói thuốc lá kích hoạt đại thực bào, tế bào cơ trơn, nguyên bào sợi dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, dẫn đến tình trạng tắc nghẽn sớm đường dẫn khí nhỏ (FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán < 0,6) (dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ) và sau cùng là dẫn đến BPTNMT.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với nhiều kết quả nghiên cứu ở nước ngoài như:

(1) Nghiên cứu của Woodruff và cộng sự (2005) [143], trên 45 đối tượng gồm: 15 người khỏe - hút thuốc lá, 15 người khỏe - không hút thuốc và 15 người - bệnh hen, sử dụng phương pháp miễn dịch ELISA, cho thấy có sự gia tăng gấp 9 lần biểu hiện gen MMP-12 ở những đối tượng nhóm khỏe - hút thuốc lá so với đối tượng nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng). Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của tác giả Woodruff. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của chúng tôi có tỉ lệ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm chứng là 3,05 lần,  $p = 0,001$  (Bảng 3.16), có nghĩa là khác với nghiên cứu của Woodruff là gấp 9 lần,  $p = 0,0001$ . Điều này có thể do thiết kế nghiên cứu của chúng tôi khác với thiết kế nghiên cứu của tác giả Woodruff.

Tương tự, (2) Nghiên cứu của Demedts IK và cộng sự (2006) [39], các mẫu đàm kích thích được thu thập trên 28 bệnh nhân BPTNMT, 20 người khỏe - không hút thuốc và 14 người khỏe - ngưng hút thuốc. Tác giả Demedts kết luận mức proteinase MMP-12 trong đàm của người khỏe - ngưng hút thuốc cao hơn so với người khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng). Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của Demedts IK [39].

Tương tự, (3) Nghiên cứu của tác giả Ilumets H và cộng sự (2007) [68], cho thấy có sự tăng cao nồng độ proteinase MMP-12 trong đàm ở nhóm khỏe - hút thuốc cao hơn so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng),  $p = 0,04$ . Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự nghiên cứu của Ilumets H.

Có khả năng là ở đối tượng nhóm khỏe - hút thuốc lá trong nghiên cứu này bị

phoi nhiễm khói thuốc lá trong thời gian dài, Vì vậy, khói thuốc lá đã kích hoạt các tế bào chức năng, dẫn đến gia tăng mức biểu hiện gen MMP-12 và sản xuất proteinase MMP-12 dẫn đến phá hủy chất nền phế nang, tái cấu trúc các mô ở phổi dẫn đến tắc nghẽn sớm đường dẫn khí nhỏ, và tình trạng tắc nghẽn nhỏ sớm được phản ánh qua kết quả đo phế dung kí của họ. Kết quả nghiên cứu này cho thấy ở nhóm khỏe - hút thuốc có thông số hô hấp  $FEF_{25-75\%} = 0,49 \pm 0,12$  và  $FEV1 / FVC = 0,72 \pm 0,10$  (Bảng 3.5) cho thấy nhóm khỏe - hút thuốc có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (tắc nghẽn nhỏ sớm).

Tóm lại, kết quả nghiên cứu mức biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm khỏe - hút thuốc so với nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) gấp 3,05 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.16) cho thấy khói thuốc lá là tác nhân chính kích hoạt các tế bào chức năng dẫn đến gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm

#### **4.2.8 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - hút thuốc theo số gói – năm (pack – years)**

Nhóm BPTNMT - hút thuốc có 112 đối tượng, và có số trung bình gói - năm là  $50,65 \pm 16,75$  (Bảng 3.4); Nhóm này được chia thành 2 nhóm nhỏ hơn dựa theo số gói - năm là 50 (dựa theo số trung bình gói - năm là  $50,65 \pm 16,75$  (Bảng 3.4) và chọn tròn số là 50). Kết quả nhóm BPTNMT - hút thuốc này được chia thành 2 nhóm nhỏ: (1) nhóm BPTNMT - gói-năm  $\geq 50$  có  $n = 58$  đối tượng và (2) nhóm BPTNMT- gói - năm  $< 50$  có  $n = 54$  đối tượng.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT- gói -năm  $\geq 50$  cao hơn so với nhóm BPTNMT- gói - năm  $< 50$  là 1,705 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.17). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,24 \pm 1,16$  và  $8,01 \pm 0,87$  (Bảng 3.17)

Phép kiểm tương quan Pearson về mức độ biểu hiện gen MMP-12 tương quan với số gói - năm (pack –years) của bệnh nhân BPTNMT đã hút, có  $r = 0,278$ ;  $p^* = 0,003$ . Như vậy, mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm và với số gói - năm (pack –years) của bệnh nhân BPTNMT đã hút có tương quan thuận, có ý nghĩa thống kê  $p^* = 0,003$  (Bảng 3.17). Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy đối tượng BPTNMT- hút thuốc lá có số gói - năm (pack –years) nhiều hơn tương ứng với có biểu hiện gen MMP-12 ở đàm cao hơn,  $r = 0,278$ ;  $p^* = 0,003$ . (Bảng 3.17).



### **4.3 MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI BIỂU HIỆN LÂM SÀNG, VÀ VỚI ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH Ở NHÓM BPTNMT**

#### **4.3.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT- ngưng hút thuốc**

Trong y văn của Trung Tâm Phòng Ngừa và Kiểm Soát Bệnh Tật CDC Mỹ [29] định nghĩa: đối tượng - ngưng hút thuốc lá (ex-smoker) là > 1 tháng (28 ngày).

Các tác giả ở nước ngoài nghiên cứu về mối liên quan BPTNMT với khói thuốc lá: (1) nghiên cứu của tác giả Lisette IZ (2011) [88] chọn đối tượng ngưng hút thuốc lá (ex-smoker) là  $\geq 1$  tháng, (2) nghiên cứu của tác giả Anna Maria (2016) [12] chọn đối tượng ngưng hút thuốc lá (ex-smoker) là  $\geq 1$  năm, (3) nghiên cứu của tác giả Babusyst (2007) [17] chọn đối tượng ngưng hút thuốc lá (ex-smoker) là  $\geq 2$  năm. Từ các dữ liệu trên, nghiên cứu này chọn nhóm BPTNMT- ngưng hút thuốc lá có thời gian ngưng hút thuốc ít nhất là  $\geq 1$  năm (12 tháng).

Kết quả nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc cao hơn so với BPTNMT - ngưng hút thuốc, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.18). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với BPTNMT - ngưng hút thuốc lần lượt là  $\Delta CT = 6,86 \pm 0,92$  so với  $\Delta CT = 8,19 \pm 0,98$  (Bảng 3.18). Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy việc ngưng hút thuốc đã làm giảm biểu hiện gen MMP-12 trong đàm (có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ ).

Kết quả nghiên cứu này tương tự với nghiên cứu của tác giả Wallace (2008) [133], tác giả Wallace cho thấy nồng độ MMP-12 cao hơn trong đại thực bào ở nhóm BPTNMT - còn hút thuốc so với nhóm BPTNMT - ngưng hút thuốc

Kết quả nghiên cứu cho thấy việc ngưng hút thuốc lá là một trong những biện pháp hữu hiệu giúp giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, dẫn đến giảm mức độ viêm, giảm tình trạng phá hủy protein chất nền ở phổi, giảm tình trạng tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ tiến triển. Từ đó, giảm mức độ triệu chứng, tần số đợt cấp, mức độ nặng đợt cấp, cải thiện khả năng gắng sức và cải thiện sức khỏe.

Trong cơ chế bệnh sinh BPTNMT, khói thuốc lá kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 sản xuất proteinase MMP-12. Ngoài ra, khói thuốc lá còn lôi kéo, kích

hoạt tế bào bạch cầu đa nhân trung tính (là một trong những tế bào đầu tiên đến phổi do khói thuốc lá [128]) sản xuất ra neutrophile elastase (NE) tấn công thành phế nang (Sơ đồ 1.3), phá hủy sợi elastin của mô liên kết dẫn đến BPTNMT [63], [128]. Vì vậy, ngưng hút thuốc lá vừa giúp giảm biểu hiện gen MMP-12 và vừa giúp giảm tế bào bạch cầu đa nhân trung tính, giảm neutrophile elastase (NE) (Sơ đồ 1.3), giúp ngăn chặn sự phá hủy mô liên kết ở đường dẫn khí ở phổi, ngăn chặn sự suy giảm chức năng phổi tiến triển.

Kết quả việc ngưng hút thuốc lá làm giảm biểu hiện gen MMP-12, và giảm tế bào bạch cầu đa nhân trung tính, giảm neutrophile elastase (NE) ở phổi cho thấy tầm quan trọng của biện pháp ngưng hút thuốc trong điều trị cho bệnh nhân BPTNMT.

#### **4.3.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, GOLD II, GOLD III, GOLD IV (ở nhóm BPTNMT- chung)**

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở 4 nhóm đối tượng GOLD I, GOLD II, GOLD III, GOLD IV, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,005$  (Bảng 3.19). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 ở 4 giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV lần lượt là  $\Delta CT = 8,51 \pm 0,93$ ;  $8,17 \pm 0,86$ ;  $7,53 \pm 0,89$ , và  $6,50 \pm 0,50$  (Bảng 3.19). Như vậy, ở nhóm bệnh nhân BPTNMT, mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ cao xuống thấp lần lượt là: nhóm GOLD IV > GOLD III > GOLD II > GOLD I, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,005$ .

Phép kiểm tương quan Pearson về mức độ biểu hiện gen MMP-12 tương quan với mức độ tắc nghẽn (FEV1%) hoặc giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV có  $r = 0,631$ ,  $p = 0,001$ . Như vậy, mức độ biểu hiện gen MMP-12 và giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV có tương quan thuận. Kết quả này cho thấy biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm càng cao tương ứng với giai đoạn tắc nghẽn đường dẫn khí càng nặng (tương ứng với giai đoạn GOLD càng nặng)

Phép kiểm Posthoc (Bảng 3.20) cho thấy sự khác biệt mức độ biểu hiện gen MMP-12 theo từng cặp giai đoạn GOLD. Kết quả phép kiểm cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các đối tượng ở nhóm GOLD I so với nhóm GOLD II chưa có sự khác biệt, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,320$ . Như vậy, ở các nhóm GOLD thuộc giai đoạn nhẹ (GOLD I so với GOLD II) có kết quả là mức độ biểu hiện gen

MMP-12 trong đàm không khác biệt, không có ý nghĩa thống kê,  $p=0,320$ . Ngược lại, ở cặp nhóm GOLD III so với nhóm GOLD IV (thuộc các nhóm GOLD giai đoạn nặng), có khác biệt, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ . Tương tự, phép kiểm Posthoc cho thấy giai đoạn GOLD III, IV so với GOLD I, II đều có ý nghĩa thống kê,  $p=0,002$  và  $p=0,000$  (Bảng 3.20).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự với các kết quả nghiên cứu ở nước ngoài: nghiên cứu của tác giả Rekha Chaudhuri (2012) [115] định lượng RNA MMP-12 và DNA trong phản ứng PCR, thực hiện bằng bộ kit Qiagen, tác giả cho thấy nồng độ MMP-12 và hoạt tính gen MMP-12 ở tế bào đàm của bệnh nhân BPTNMT có liên quan trực tiếp với mức độ nặng của bệnh khí thũng được đo bằng CT Scan phổi. Tác giả Rekha Chaudhuri kết luận biểu hiện gen MMP-12 liên quan trực tiếp với mức độ tắc nghẽn. Như vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự của tác giả Rekha Chaudhuri với kết luận là mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở phổi có liên quan đến giai đoạn tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ.

Tóm lại, sự khác biệt mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở các giai đoạn tắc nghẽn GOLD I, II, III, IV ở bệnh nhân BPTNMT có thể là yếu tố có giá trị trong lâm sàng. Có thể là, sử dụng kết quả xét nghiệm về chỉ dấu sinh học MMP-12 trong đàm, để tiên đoán giai đoạn tắc nghẽn của bệnh nhân BPTNMT, giúp tiên đoán kiểu hình lâm sàng, nhằm góp phần điều trị bệnh BPTNMT tốt hơn.

#### **4.3.3 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng**

GOLD 2020 phân loại bệnh nhân BPTNMT - có nhiều triệu chứng hoặc BPTNMT - có ít triệu chứng căn cứ theo thang điểm CAT và thang điểm mMRC. Tiêu chuẩn đối tượng BPTNMT- có nhiều triệu chứng khi số điểm từ thang điểm mMRC  $\geq 2$  và / hoặc điểm CAT  $\geq 10$ , và ngược lại.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu cao hơn so với nhóm BPTNMT - ít triệu chứng 2,53 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.21). Tương ứng với số chu kỳ ngưỡng gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nhiều triệu chứng so với nhóm BPTNMT- ít triệu chứng lần lượt là  $\Delta CT = 7,08 \pm 0,87$  so với  $\Delta CT = 8,42 \pm 0,98$  (Bảng 3.21). Như vậy, ở những người bệnh BPTNMT - nhiều triệu chứng có mức độ biểu hiện gen

MMP-12 tăng cao trong đàm, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .

Kết quả nghiên cứu về mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT – nhiều triệu chứng, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu tương tự để so sánh.

Kết quả biểu hiện gen MMP-12 tăng cao trong đàm ở nhóm BPTNMT-nhiều triệu là một dấu hiệu có thể có ích trong lâm sàng. Có thể là, sử dụng kết quả xét nghiệm đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm như là một chỉ dấu sinh học. Từ đó, giúp tiên đoán được mức độ triệu chứng của bệnh nhân BPTNMT, để tiên lượng về chất lượng cuộc sống bệnh nhân BPTNMT và để điều trị BPTNMT tốt hơn.

#### **4.3.4 So sánh mức độ biểu gen MMP-12 nhóm BPTNMT - nguy cơ cao và BPTNMT - nguy cơ thấp**

Tiêu chuẩn BPTNMT- có nguy cơ cao được phân loại theo GOLD 2020: Khi đối tượng có  $\geq 2$  đợt cấp trong vòng 12 tháng vừa qua (năm vừa qua), hoặc  $\geq 1$  đợt cấp nhưng phải nhập viện. Ngược lại, là nhóm BPTNMT- nguy cơ thấp.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nguy cơ cao cao hơn so với nhóm BPTNMT- nguy cơ thấp 2,17 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.22). Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nguy cơ cao so với nhóm BPTNMT- nguy cơ thấp lần lượt là  $\Delta CT = 7,32 \pm 1,01$  so với  $8,44 \pm 0,88$  (Bảng 3.22).

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy ở những người bệnh BPTNMT- có nguy cơ cao có biểu hiện gen MMP-12 tăng cao, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$ .

Những bệnh nhân BPTNMT- có nguy cơ cao là những bệnh nhân có nhiều đợt cấp trong năm và phải nhập viện nhiều lần trong năm vừa qua. Những đợt cấp nặng (đợt cấp phải nhập viện) sẽ dẫn đến suy giảm chức năng phổi nhanh hơn và FEV<sub>1</sub> giảm nhanh hơn ở mỗi năm (ở người khỏe bình thường FEV<sub>1</sub> giảm từ 30ml - 60ml mỗi năm). Kết quả nghiên cứu (Bảng 3.22) cho thấy ở những người bệnh BPTNMT- có nguy cơ cao tương ứng với có biểu hiện gen MMP-12 tăng cao,  $p = 0,001$ . Điều này, đồng nghĩa với mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm càng cao thì chất lượng cuộc sống bệnh nhân BPTNMT càng giảm.

Kết quả nghiên cứu về mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT - nguy cơ cao, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu tương tự để so sánh.

Kết quả nghiên cứu trên cho thấy có thể xem xét sử dụng mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong tế bào đàm như là một chỉ dấu sinh học trong lâm sàng. Từ đó, tiên đoán được bệnh nhân BPTNMT - có nguy cơ cao, tiên đoán kiểu hình lâm sàng, góp phần cho điều trị BPTNMT tốt hơn.

#### 4.3.5 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP- 12 theo các nhóm tuổi tác

Có rất nhiều yếu tố nguy cơ tham gia vào cơ chế bệnh sinh dẫn đến bệnh BPTNMT. Một trong các yếu tố nguy cơ dẫn đến bệnh BPTNMT là yếu tố nguy cơ tuổi tác (yếu tố nguy cơ lão hóa, sự già hóa dân số) (Sơ đồ 1.2), và do tuổi càng cao đối tượng càng tiếp xúc càng nhiều yếu tố nguy cơ (ô nhiễm không khí trong, ngoài nhà...). Hơn nữa, tổ chức GOLD 2020 kết luận “gen MMP-12 có liên quan đến giảm chức năng phổi hoặc liên quan đến các yếu tố nguy cơ dẫn đến bệnh BPTNMT”. Vì vậy, chúng tôi khảo sát tìm kiếm mối liên quan biểu hiện gen MMP-12 với yếu tố nguy cơ tuổi tác.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm BPTNMT theo các nhóm tuổi: nhóm tuổi  $\leq 60$ , nhóm tuổi 60 - 69 và nhóm tuổi  $\geq 70$  không khác biệt, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,255$  (Bảng 3.23). Tương ứng với số chu kỳ ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,58 \pm 1,09$ ;  $7,60 \pm 1,12$  và  $7,91 \pm 1,07$  (Bảng 3.23).

Thông thường người lớn tuổi hơn có tiếp xúc với nhiều yếu tố nguy cơ hơn và thời gian tiếp xúc với yếu tố nguy cơ nhiều hơn. Do đó, có khả năng là ở người lớn tuổi hơn có mức độ biểu hiện gen MMP-12 tăng cao hơn ở các nhóm tuổi thấp hơn. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu này cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở các nhóm tuổi (tuổi  $\leq 60$ , nhóm tuổi 60 - 69 và nhóm tuổi  $\geq 70$ ) không khác biệt, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,255$  (Bảng 3.23).

Kết quả nghiên cứu này cho thấy những người lớn tuổi hơn không có biểu hiện gen MMP-12 trong đàm cao hơn. Như vậy, tuổi tác (sự lão hóa) không liên quan chặt chẽ với mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm.

Kết quả nghiên cứu này cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 không khác biệt giữa các nhóm tuổi, không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,255$ , (Bảng 3.23). Kết quả này có thể được giải thích dựa theo cơ chế bệnh sinh BPTNMT do phơi nhiễm khói thuốc lá. Lý do là, khi xem xét về số gói thuốc - năm (pack - years) ở 3 nhóm tuổi

này, có số gói - năm không khác biệt với nhau, lần lượt là  $42,55 \pm 16,80$ ,  $46,38 \pm 28,90$ ;  $59,98 \pm 15,99$ , không có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,773$  (Bảng 3.4). Có khả năng là do 3 nhóm đối tượng theo tuổi tác nói trên (tuổi  $\leq 60$ , nhóm tuổi 60 - 69 và nhóm tuổi  $\geq 70$ ) có mức độ hút thuốc lá như nhau, có số gói - năm không khác biệt,  $p = 0,773$ . Vì vậy, dẫn đến kết quả là họ có mức biểu hiện gen MMP-12 như nhau. Điều này, là phù hợp với cơ chế bệnh sinh BPTNMT do khói thuốc lá kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12.

Như vậy, mức độ biểu hiện gen MMP-12 liên quan nhiều đến tình trạng hút thuốc lá, số gói - năm (pack - years) và ít liên quan đến tuổi tác.

Kết quả nghiên cứu về mối liên quan biểu hiện gen MMP-12 với tuổi tác, chúng tôi chưa thấy nghiên cứu tương tự để so sánh.

#### **4.4 ĐÁNH GIÁ MỐI LIÊN QUAN GIỮA BIỂU HIỆN GEN MMP-12 VỚI DẤU HIỆU SỚM CỦA TẮC NGHẼN ĐƯỜNG DẪN KHÍ NHỎ (CÒN GỌI LÀ TẮC NGHẼN NHỎ SỚM)**

##### **4.4.1 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ**

Nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (tắc nghẽn nhỏ sớm) là những người không mắc bệnh BPTNMT, nhưng có thông số FEF 25-75% - dự đoán  $< 0,6$  (kết quả từ phế dung kí). Trong nghiên cứu này, nhóm đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ được chọn ra từ các đối tượng của 2 nhóm là: (1) nhóm khỏe - hút thuốc và (2) nhóm khỏe - không hút thuốc.

Kết quả trong nghiên cứu này cho thấy không phải tất cả những người hút thuốc lá dai dẳng đều có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Nhóm khỏe - hút thuốc có 115 đối tượng, trong đó có  $n = 75$  đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 65,2 % ( $75 / 115$ ) (Bảng 3.6). Nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng) có 63 đối tượng, trong đó có  $n = 6$  đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, chiếm tỉ lệ 9,5% ( $6 / 63$ ) (Bảng 3.6). Trong nghiên cứu này chọn ra các đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ để nghiên cứu về mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm.

Kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 2,05 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,001$  (Bảng 3.24). Tương ứng với số chu kì ngưỡng lần lượt là  $\Delta CT = 8,01 \pm 0,91$  và  $9,05 \pm 1,17$  (Bảng 3.24). Điều này cho thấy sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có liên quan đến tình trạng bệnh lí - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

Phép kiểm Pearson về sự tương quan mức độ biểu hiện gen MMP-12 với giá trị của thông số FEF<sub>25-75%</sub> - dự đoán có kết quả là  $r = 0,524$ ,  $p = 0,001$  (Bảng 3.24). Như vậy, mức độ biểu hiện gen MMP-12 có tương quan thuận (ở mức độ vừa) với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (tương quan thuận với mức độ của tắc nghẽn nhỏ sớm).

Khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ kích hoạt gen MMP-12 sản xuất (giải mã) proteinase MMP-12 [54], và kết quả nghiên cứu cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 có tương quan thuận với mức độ tắc nghẽn nhỏ sớm,  $r = 0,524$ ,  $p = 0,001$  (Bảng 3.24). Điều này, cho thấy có mối liên quan giữa 3 yếu tố: (1) khói thuốc lá, (2) mức độ biểu hiện gen MMP-12 và (3) dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (mức độ tắc nghẽn nhỏ sớm). Như vậy, có khả năng là nếu như đối tượng ngưng hút thuốc lá sẽ dẫn đến giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi và ngăn chặn được tình trạng tắc nghẽn nhỏ sớm (ngăn chặn được dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ).

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ,  $p = 0,001$ . Điều này cho thấy có thể xem MMP-12 như là một chỉ dấu sinh học, có thể có ích trên lâm sàng, góp phần cùng với kết quả đo phế dung kí trong việc phát hiện các đối tượng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ.

Có thể là, đo mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở những người khỏe mạnh - có tiếp xúc với nhiều yếu tố nguy cơ của BPTNMT (những người sống trong môi trường ô nhiễm, nghề nghiệp tiếp xúc nhiều khói bụi, khí độc hại... và nhất là người khỏe - hút thuốc lá dai dẳng), để giúp phát hiện ra đối tượng - có dấu

hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Từ đó có cơ sở để khuyến cáo thích hợp cho những người này để góp phần ngăn chặn sự tắc nghẽn đường dẫn khí tiến triển và góp phần giảm tần xuất BPTNMT.

#### **4.4.2 So sánh mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ so với nhóm khỏe - hút thuốc - không dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ**

Nhóm khỏe - hút thuốc có 115 đối tượng, trong đó, có n= 75 đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, và n= 40 đối tượng - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ (Bảng 3.6).

Kết quả nghiên cứu trong mục 4.4.1 (phần vừa trình bày) cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 có liên quan với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ,  $p = 0,001$  (Bảng 3.24). Chúng tôi tiếp tục tìm kiếm mối liên quan biểu hiện gen MMP-12 với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở nhóm khỏe - hút thuốc lá (nhóm có nguy cơ cao mắc bệnh BPTNMT)

Kết quả nghiên cứu (Bảng 3.25) cho thấy mức độ biểu hiện gen MMP-12 ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cao hơn so với nhóm khỏe - hút thuốc - không có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ 1,87 lần, có ý nghĩa thống kê,  $p = 0,0001$ . Tương ứng với số chu kì ngưỡng gen MMP-12 lần lượt là  $\Delta CT = 7,84 \pm 0,93$  và  $8,75 \pm 1,07$  (Bảng 3.25).

Như vậy, kết quả nghiên cứu cho thấy mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với khói thuốc lá và với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Có khả năng là những người hút thuốc lá dai dẳng sẽ dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi. Từ đó, dẫn đến tình trạng có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở phổi.

Mức độ biểu hiện gen MMP-12 tăng cao ở nhóm khỏe - hút thuốc - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ,  $p = 0,0001$  và mối liên quan giữa biểu hiện gen MMP-12 với khói thuốc lá và với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ cho thấy việc ngưng hút thuốc lá sẽ dẫn đến giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi và ngăn chặn được tình trạng tắc nghẽn nhỏ sớm tiến triển.

Kết quả này cho thấy có thể xem MMP-12 như là một chỉ dấu sinh học, có thể có ích trên lâm sàng. Có thể là, xét nghiệm Realtime RT- PCR đo mức độ biểu



hiện gen MMP-12 trong đàm ở những người khỏe - hút thuốc lá để giúp phát hiện ra đối tượng - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, có cơ sở để khuyến cáo ngưng hút thuốc lá ở những người khỏe - hút thuốc lá có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ, nhằm giảm tần suất BPTNMT.

Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi chỉ là nghiên cứu bước đầu với quy mô nhỏ, cần có nhiều nghiên cứu thêm nữa với quy mô lớn, để làm sáng tỏ mối liên quan mức độ biểu hiện gen MMP-12 với dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ và với mức độ tắc nghẽn nhỏ sớm ở phổi.

## KẾT LUẬN

Nghiên cứu mức độ và vai trò biểu hiện gen Matrix Metalloproteinase-12 (MMP-12) trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính được thực hiện trên 351 đối tượng, gồm 4 nhóm: (1) nhóm BPTNMT - hút thuốc, (2) nhóm BPTNMT - không hút thuốc, (3) nhóm khỏe - hút thuốc, (4) nhóm khỏe - không hút thuốc (nhóm chứng), bằng phương pháp Realtime RT- PCR với định lượng gen tương đối, kỹ thuật phát hiện SYBR Green. Chúng tôi có kết luận sau:

1. Biểu hiện gen MMP-12 được tìm thấy ở mẫu đàm kích thích của tất cả các đối tượng ở các nhóm trong nghiên cứu. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là khác biệt nhau (không đồng nhất) giữa các nhóm nghiên cứu do liên quan với tình trạng bệnh lý BPTNMT và / hoặc tình trạng hút thuốc lá. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm từ thấp đến cao theo thứ tự là: nhóm khỏe - không hút thuốc lá < nhóm khỏe - hút thuốc lá < nhóm BPTNMT - không hút thuốc lá < nhóm BPTNMT - hút thuốc,  $p = 0,001$ .
2. Mọi liên quan giữa khói thuốc lá dẫn đến tăng cao biểu hiện gen MMP-12 ở phổi là rõ ràng, Tuy nhiên, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là chưa đủ điều kiện bệnh sinh để dẫn đến BPTNMT. Nói cách khác, sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là không đủ tiêu chuẩn để kết luận đối tượng mắc bệnh BPTNMT. Phơi nhiễm khói thuốc lá là yếu tố nguy cơ chính kích hoạt gia tăng biểu hiện gen MMP-12 trong đàm.
3. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có mối liên quan thuận với mức độ nặng của bệnh nhân BPTNMT trên lâm sàng. Mức độ biểu hiện gen MMP-12 trong đàm càng cao, tương ứng với mức độ tắc nghẽn đường dẫn khí càng nặng và nguy cơ nặng của bệnh càng cao. Sự tăng cao biểu hiện gen MMP-12 trong đàm là chỉ dấu sinh học có thể hữu ích trong tiên đoán bệnh nặng trên lâm sàng và tiên đoán sự suy giảm FEV<sub>1</sub> và chức năng phổi theo thời gian. Biện pháp ngưng hút thuốc lá là một trong những biện pháp hữu hiệu làm giảm biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, giúp giảm bớt tình trạng suy giảm chức năng phổi ở bệnh nhân BPTNMT.
4. Xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm có thể giúp phát hiện

những người - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ ở những người hút thuốc lá dai dẳng. Từ đó, có cơ sở để khuyến cáo ngưng hút thuốc ở những người này (người hút thuốc lá - có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn ở đường dẫn khí nhỏ), góp phần ngăn chặn sự tắc nghẽn nhỏ sớm tiến triển, và góp phần giảm tần suất BPTNMT.

## KIẾN NGHỊ

Nghiên cứu Matrix Metalloproteinase 12 (MMP-12) trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính được xét nghiệm tại Trung Tâm Y Sinh Học Phân Tử ĐHYD là bước đầu, quy mô nhỏ, cần có nghiên cứu lớn hơn. Dựa theo kết quả nghiên cứu, chúng tôi kiến nghị.

1. Xem xét xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở người hút thuốc lá dai dẳng để phát hiện những người có dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ. Từ đó, có cơ sở để khuyến cáo những người này đến khám bệnh hô hấp định kì, giúp phát hiện sớm bệnh nhân BPTNMT, và có cơ sở để khuyến cáo ngưng hút thuốc lá ở những người này, giúp giảm tần suất BPTNMT.
2. Xem xét xét nghiệm đo mức biểu hiện gen MMP-12 trong đàm ở bệnh nhân BPTNMT để tiên đoán mức độ nặng tắc nghẽn, mức độ nguy cơ và mức độ triệu chứng của bệnh nhân BPTNMT, nhằm góp phần cho điều trị bệnh nhân BPTNMT tốt hơn.
3. Khuyến cáo ngừng hút thuốc lá ở bệnh nhân BPTNMT nhằm hạn chế biểu hiện gen MMP-12 ở phổi, hạn chế sự tắc nghẽn tiến triển mạn tính ở bệnh nhân BPTNMT, giúp giảm mức độ nặng của bệnh trên lâm sàng. Khuyến cáo ngừng hút thuốc lá ở người khoẻ mạnh - hút thuốc lá nhằm phòng ngừa dấu hiệu sớm của tắc nghẽn đường dẫn khí nhỏ ở phổi. Từ đó, giúp giảm tần suất BPTNMT.
4. Nghiên cứu mức độ biểu hiện các gen sản xuất antiproteinase (các gen TIMP1,2,3,4 và gen alpha - 1 antitrypsin) ở nhóm đối tượng có tăng cao biểu hiện gen MMP-12 (nhóm BPTNMT và ở nhóm khỏe - hút thuốc lá), để góp phần hiểu rõ hơn về cân bằng proteinase - antiproteinase ở các nhóm này và hiểu rõ hơn vai trò của gen MMP-12 trong BPTNMT.

**DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CỦA TÁC GIẢ  
LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Nguyễn Công Trung, Hoàng Anh Vũ, Nguyễn Thế Vinh (2018), “ Xây dựng quy trình kỹ thuật Realtime PCR để khảo sát sự biểu hiện gen MMP12 trong tế bào thu từ mẫu đàm của bệnh nhân bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, 22 (2), tr. 47-53.
2. Nguyễn Công Trung, Nguyễn Văn Trí, Lê Thị Tuyết Lan, Hoàng Anh Vũ, Nguyễn Thế Vinh (2018), “ Gia tăng biểu hiện gen *MMP-12* trong tế bào từ mẫu đàm của bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính ở người cao tuổi”, *Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, 22 (2), tr. 86-92.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

### Tiếng Việt

1. Lê Khắc Bảo (2012), “Giá trị bảng điểm đánh giá lâm sàng COPD trong đánh giá bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y Học Thành Phố Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 16, số 1, tr. 58-63.
2. Ngô Quý Châu, Đỗ Quyết, Nguyễn Hải Anh, Vũ Văn Giáp, Chu Thị Hạnh, Nguyễn Thanh Hồi, Trần Văn Ngọc, Lê Thị Tuyết Lan, Nguyễn Viêt Nhung, Phan Thu Phương và cộng sự (2018), “ hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính ”, *nhà xuất bản Y Học Hà Nội, Bộ Y Tế*, tr.13-52
3. Đỗ Văn Dũng (2012). “Phương pháp nghiên cứu khoa học với phần mềm Stata. Bộ môn thống kê và tin học, tr. 39-54.
4. Nguyễn Thanh Hồi, Nguyễn Văn Thành (2017), “Sinh bệnh học bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Tạp chí Hô Hấp Hội Lao và Bệnh Phổi Việt Nam*, tập 12, số 4, tr. 4-11.
5. Phạm Hoàng Khánh, Nguyễn Thị Lê (2012), “Đánh giá chức năng hô hấp ở bệnh nhân bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, điều trị theo GOLD”, *Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 16, số 1, tr. 64-68.
6. Thái Thị Thùy Linh, Lê Thị Tuyết Lan (2012), “Ứng dụng bộ câu hỏi CAT phiên bản tiếng việt để đánh giá chất lượng cuộc sống ở bệnh nhân bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 16, số 1, tr. 33-38.
7. Trần Thiện Luân, Lê Thị Tuyết Lan (2008), “Đặc điểm về dữ liệu bệnh nhân bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 12, số 1, tr. 85-89
8. Trần Văn Ngọc (2011), “Đợt cấp bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 15, số 1, tr. 56-64
9. Lê Thị Huyền Trang, Lê Thị Tuyết Lan, Thái Thị Thùy Linh (2012), “Đột biến gen matrix metalloprotease 9 ở bệnh nhân bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y học TP Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 16, số 1, tr. 54-58.
10. Lê Thị Huyền Trang, Lê Thị Tuyết Lan (2009), “Tần suất BPTNMT dựa vào bảng câu hỏi tầm soát của GOLD”, *Y học Thành Phố Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, phụ bản tập 12, số 1, tr. 92-94.
11. Hoàng Anh Vũ, Nguyễn Thế Vinh (2018), “Xây dựng quy trình kỹ thuật Realtime PCR để khảo sát sự biểu hiện gen MMP12 trong tế bào thu từ mẫu đàm

của bệnh nhân bị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính”, *Y học TP Hồ Chí Minh*, chuyên đề nội khoa, tập 22. Số 2, tr.47-53.

## Tiếng Anh

12. Adeloye D, Chua S, Lee C, Basquill C (2015), “Global and regional estimates of COPD prevalence: Systematic review and meta-analysis”, *Epidemiology Reference Group (GHERG)*”, *Journal of Global Health*, 5(2), pp. 204-15.
13. Ana Maria, Menezes (2005), “Chronic obstructive pulmonary disease in five Latin American cities (the PLATINO study)”, *Lancet*, 366, pp. 1875-1881.
14. Annelie F. Behndig , Robert Linder , Anne Lindberg, et al. (2015), “Inflammatory Markers in Different COPD Subgroups Compared to Smokers and Healthy Controls” *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, pp.191-198.
15. Annelie F. Behndig, Robert Linder, Jamshid Pourazar, (2016), “Lung function decline in COPD in relation to MMP-12 and surfactant protein A ” *European Respiratory Journal*, pp 48-56.
16. Arinir U, Hoffjan S, Knoop H, Schultze- G (2009), “The genetics of chronic obstructive pulmonary disease”, *Pneumologie*, 63(1), pp. 41-48.
17. Babusyte A, Stravinskaite K (2007), “Patterns of airway inflammation and MMP-12 expression in smokers and ex-smokers with COPD”. *Respir Res*, 8, pp.81-89.
18. Barbara P Yawn, Peter Wollan, Matthew Rank (2013), “Exacerbations in the pre - and post- COPD diagnosis periods”. *Pragmat Obs Res*, 4, pp.1–6. Barnes PJ, Celli B.R.(2009), “Systemic manifestations and comorbidities of COPD”, *European Respiratory Journal* 2009, 33, pp. 1165-1185
19. Barnes PJ (2013), “New anti-inflammatory targets for chronic obstructive pulmonary disease”, *Nat Rev Drug Discov*, 12(7), pp. 543-59
20. Barnes PJ, Celli B. R.(2009), “Systemic manifestations and comorbidities of COPD”, *European Respiratory Journal*, 33, pp. 1165
21. Bdeir K, Gollomp K, Stasiak M, Mei J E, et al (2017), “Platelet-Specific Chemokines Contribute to the Pathogenesis of Acute Lung Injury” *Am J Respir Cell Mol Biol*; 56(2), pp. 261-270..
22. Berndt Annerose, Adriana S Leme, and Steven D Shapiro (2012), “Emerging genetics of COPD” *EMBO Mol Med*, 4(11), pp. 1144-1155.
23. Bhowmik A, T Seemungal, JL Devalia, JA Wedzicha, (2009), “Comparison of spontaneous and induced sputum for investigation of airway inflammation in

- chronic obstructive pulmonary disease”, *Thorax BMJ*, 53(11), pp.525-531.
24. Białas Adam Jerzy, Przemysław Sitarek, (2016), “The Role of Mitochondria and Oxidative/Antioxidative Imbalance in Pathobiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease” *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, pp. 1- 15.
  25. Botelho FM, Nikota J, Bauer C et al. (2011), “A mouse GM-CSF receptor antibody attenuates neutrophilia in mice exposed to cigarette smoke”, *Eur Respir J*, 38, pp. 285-294.
  26. Brewa K, Hideaki Nagaseb (2010), The tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs): An ancient family with structural and functional diversity” , *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*, 1, pp. 55-71.
  27. Caroline A Owen (2008), “Roles for proteinases in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease”, *J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 3(2), pp. 253-268.
  28. Cazzola M, Bettoncelli G, Sessa E, Cricelli C, Biscione G (2010), “Prevalence of comorbidities in patients with chronic obstructive pulmonary disease”, *Respiration*, 80 (2), pp.112-119.
  29. CDC- Centers for Disease Control and Prevention / NHIS- National Center for Health Statistics, Adult Tobacco Use - Glossary, Page last reviewed: August 29, 2017.
  30. Chung K, Adcock (2008),”Multifaceted mechanisms in COPD: inflammation, immunity, and tissue repair and destruction” *European Respiratory Journal*, pp.1334-1356.
  31. Chung Kian Fan (2017) Mitochondrial Dysfunction as a Therapeutic Target in COPD, *Tanaffos Journal*; 16 (11), pp 19-25
  32. Churg A, Wang RD, Wang X, Onnervik PO, Thim K, Wright JL (2007), “Effect of an MMP-9 / MMP-12 inhibitor on smoke-induced emphysema and airway remodelling in guinea pigs”, *Thorax*, 62(8), pp.706-713.
  33. Churg A, Cosio M, Wright J (2008), “Mechanisms of cigarette smoke-induced COPD: insights from animal models”, *Am J Physiol*, 294, pp. 612–631.
  34. Churg A, S. Zhou and J.L. Wright (2012), “Matrix metalloproteinases in COPD, series matrix metalloproteinases in lung health and disease” *Eur Respir J*, 39, pp.197–209.
  35. Comandini A, Marzano V, Curradi G, et al. (2010), “Markers of anti-oxidant response in tobacco smoke exposed subjects: a data-mining review”, *Pulm Pharmacol Ther*, 23, pp. 482 - 492.



36. Crick FH (1958), "On protein synthesis", *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 12, pp. 138 -163.
37. David M Mannino, Rosenberg SR, Kalhan R (2015), "Epidemiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Prevalence, Morbidity, Mortality, and Risk Factors", *Semin Respir Crit Care Med*, 36(4), pp. 457-469.
38. DeMeo Dawn L., Craig Hersh, Eric Hoffman, (2007), "Genetic Determinants of Emphysema Distribution in the National Emphysema Treatment Trial", *Am J Respir Crit Care Med*, 176 (1), pp. 42–48.
39. Demedts IK et al (2006), "Elevated MMP-12 protein levels in induced sputum from patients with COPD", *Thorax*, 61, pp. 196–201.
40. DeSwert KO, Bracke KR, Demoor T, et al (2009), "Role of the tachykinin NK1 receptor in a murine model of cigarette smoke-induced pulmonary inflammation", *Respir Res*, 10, pp. 37-42.
41. Elkington, Ostridge, Kristoffer, Williams, Nicholas, Kim (2016), "Relationship between pulmonary matrix metalloproteinases and quantitative CT markers of small airways disease and emphysema in COPD". *Thorax*, 71 (2), pp. 126-132.
42. Eric G, Honig, Edwin K, Roland H, K. Silverman (2012), "Chronic bronchitis, emphysema, and airway obstruction", *Harrison's principle of internal Medicine*, 260 (15), pp.2151 - 2160.
43. Eric G, Edwin K. Silverman, James D. Crapo, Barry L. Make (2018), "Chronic Obstructive Pulmonary Disease, *Harrison's principle of internal Medicine*, 286(7), pp.1990-1999.
44. Earl S. Ford (2015), "Trends in mortality from chronic obstructive pulmonary disease among adults in the United States", *Chest*; 148(4), pp. 962–970.
45. Ferreira AD, Ramos D, Proença M, Leite MR, et al (2017). "Effects of exposure to biomass burning on pulmonary inflammatory markers and pulmonary function in individuals with COPD" , *Rev Port Pneumol*, 23(5), pp. 273-279
46. Finlay GA, O'Driscoll, Russell (1997), "Matrix metalloproteinase expression and production by alveolar macrophages in emphysema, *Am J Respir Crit Care Med*, 156, pp. 240–247.
47. Fletcher (2008), "The MRC breathlessness scale", *Published by Oxford University Press*, 58, pp. 226–227.
48. Frederik van Gemert, Bruce Kirenga. (2015), "Prevalence of chronic obstructive pulmonary disease and associated risk factors in Uganda" study, *The Lancet*, 3(1), pp. 44–51.

49. Fischer Bernard M, Elizabeth Pavlisko, and Judith A Voynow (2011), “Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease–antiprotease imbalance, and inflammation”, *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 6, pp. 413–421.
50. Fujimoto K, Kitaguchi Y, Kubo K, (2006), “Clinical analysis of chronic obstructive pulmonary disease phenotypes classified using high resolution computed tomography” , *Respirology*, 11(6), pp.731-40.
51. Gilowska I, Majorczyk E, Kasper Ł, Bogacz K, Szczegielniak J, Kasper M, Kaczmarek J, Skomudek A, Czerwinski M, Sładek K ( 2019). The role of MMP-12 gene polymorphism - 82 A-to-G (rs2276109) in immunopathology of COPD in polish patients: a case control study, *BMC Med Genet*; 20(1), pp: 19.
52. GOLD (2017), “Global Strategy for Diagnosis, Management, and Prevention of COPD 2017”, [www.goldcopd.org/html](http://www.goldcopd.org/html), uptodate 16/10/2018.
53. GOLD (2019), “Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease, Guide lines global strategy for diagnosis management” [http://www. goldcopd.org/ .html](http://www.goldcopd.org/html), uptodate 22/05/2019.
54. GOLD (2020), “Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease Guide lines global strategy for diagnosis management”, [http://www.goldcopd.org/. html](http://www.goldcopd.org/html), uptodate 20/02/2020.
55. Gosselink JV, Hayashi S, Elliott WM, et al (2010), “Differential expression of tissue repair genes in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease”, *Am J Respir Crit Care Me*, 181, pp. 1329–1335.
56. Gueders MM, Foidart J-M et al. (2006), “Matrix metalloproteinases of MMPs in the respiratory tract: potential implications in asthma and other lung”, *Eur J Pharmacol* 2006, 533, (1-3), pp.133-44.
57. Hafiz Hasanov, Mammadova K, Guliyeva F, Azizova, Mikailova (2018) “The Role of Matrix Metalloproteinases in Human Body, *Biol Med* 11, pp. 452-455.
58. HakanGunen (2008), “Prevalence of COPD: First epidemiological study of a large region in Turkey”, *European Journal of Internal Medicine*, 19, pp .499-504.
59. Halil Ibrahim Yakar, Hakan Gunen, Erkan Pehlivan, and Selma Aydogan (2017), “The role of tuberculosis in COPD”, *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 12, pp. 323–329.
60. Haq I, Chappell S et al, (2010), “Association of MMP-12 polymorphisms with severe and very severe COPD: a case control study of MMPs -1, 9 and 12 in a European population”, *BMC Med Genet*, 11, pp.7-15.
61. Hautamaki RD, Kobayashi DK, Senior RM, et al (1997), “Macrophage elastase is

- required for cigarette smoke-induced emphysema in mice”, *Science*, 277, pp. 2002–2004.
62. Hoang Thi Lâm, Ekerljung L, Nguyen Van Tuong, Eva Ronmark, T Formula (2014). “Prevalence of COPD by disease severity in men and women in northern Vietnam”. *COPD*, 11(5), pp.575-581
  63. Houghton MC Garry et al (2015), “Matrix metalloproteinases in destructive lung disease”, *Matrix Biology, Published by Elsevier B.V*, 44–46, pp. 167–174.
  64. Hunninghake GM, Cho MH et al (2009), “MMP12, lung function, and COPD in high-risk populations”, *N Engl J Med*, 361, pp. 2599–2608.
  65. Hunninghake GM, Davidson JM, Rennard S, et al (1981), Elastin fragments attract macrophage precursors to diseased sites in pulmonary emphysema. *Science*, 212, pp. 925–927.
  66. Hyeon-Kyoung Koo, Yoonki Hong, Myoung Nam Lim, Jae-Joon Yim. (2016), “Relationship between plasma matrix metalloproteinase levels, pulmonary function, bronchodilator response, and emphysema severity”, *International Journal of COPD*, 11(1), pp.1129-1137.
  67. Hyo Yong Kim, Taihua Li, Cheulhee Jung, (2018) “universally applicable, quantitative pcr method utilizing fluorescent nucleobase analogs” *The Royal Society of Chemistry*, 8, pp: 391-395
  68. Ilumets H, Demedts L et al. “Matrix metalloproteinases -8, -9, and -12 in smokers and patients with stage 0 COPD”, *Int J COPD* 2007, 2, pp.369–379.
  69. Imai Kazushi et al (2001), “Human collagenase (matrix metalloproteinase-1), expression in the lungs of patients with emphysema”, *Am Rev Respir Dis*, 163, pp.786–791.
  70. Jabłońska-Trypuć, Matejczyk, Rosochacki (2016), “Matrix metalloproteinases (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs”. *Enzyme Inhib Med Chem*, 31(1), pp.177-183.
  71. Jamie L.Todd, David B. Goldstein, Dongliang Ge, Jason Christie. (2011), “The State of Genome-Wide Association Studies in Pulmonary Disease”, *Am J Respir Crit Care Med*, 184(8), pp. 873–880
  72. Janoff A (1983), “Proteases and lung injury”, *Chest*, 83, pp. 54–58.
  73. Jeffrey J. Atkinson, Robert M. Senior, Ajay Sheshadri, and Mario Castro (2012), “Obstructive Lung Disease Obstructive Lung Disease” *Washington Manual of Medical Therapeutics*, 15, pp. 293- 321.
  74. John J, Reilly Jr, Edwin K, Silverman; Shapiro (2012), “Chronic Obstructive

- Pulmonary Disease”, *Harrison's Manual of Medicine*, 140, pp. 915-920.
75. John J, Reilly Jr, Edwin K (2015), “Chronic Obstructive Pulmonary Disease” *Harrison's Internal Medicines*, 314, pp.792-856.
  76. Joos Ladina, Jian-Qing He, Megan B. Shepherdson, John E. Connett, Nicholas R. Anthonisen, Peter D. Paré, Andrew J. Sandford (2003). “The role of matrix metalloproteinase polymorphisms in the rate of decline in lung function”. *Human Molecular Genetics*, 11 (5), pp 569–576.
  77. Juul K, Tybjaerg A, Marklund S, Lange P, Nordest; (2006), “Genetically increased antioxidative protection and decreased chronic obstructive pulmonary disease”, *Am J Respir Crit Care Med*, 173(8), pp. 858-64.
  78. Kailash C. Pandey, Sajal De, and Pradyumna K. Mishra (2017), “Role of Proteases in Chronic Obstructive Pulmonary Disease” *Front Pharmacol*, 8, pp. 512- 518.
  79. Karadag F, Karul AB, Cildag O, Yilmaz M, Ozcan (2008), “Biomarkers of systemic inflammation in stable and exacerbation phases of COPD”, *Lung*, 186, pp. 403–409.
  80. Karina Di Gregoli, Jason Lee Johnson (2017), “Role of Matrix Metalloproteinases in the Development and Progression of Atherosclerosis, proteases in Human Diseases”, *Springer Nature*, pp 425-446
  81. Keisaku NN, Keishi, (2006), “Characteristics of COPD phenotypes classified according to the findings of HRCT”, *Hum Mol Genet*, 100, pp.1742-1752.
  82. Kirkham PhD, Peter J. Barnes DSc (2013), “Oxidative Stress in COPD” *Chest* 2013, 144 (1), pp. 266-273.
  83. Kim SJ, Lee J, Park YS, Lee CH (2015), “Effect of airflow limitation on acute exacerbations in patients with destroyed lungs by tuberculosis”, *J Korean Med Sci*, 30 (6), pp.737-42.
  84. Kluchova Z, Petrasova D, Joppa P, Dorkova Z, Tkacova R (2007), “The association between oxidative stress and obstructive lung impairment in patients with COPD”, *Physiol Res*, 56, pp. 51–56.
  85. Kraen M, Frantz S, Nihlén U, Engström G, Löfdahl CG, Wollmer (2019) Matrix Metalloproteinases in COPD and atherosclerosis with emphasis on the effects of smoking; *Journal Pone* 14(2), pp. 79-87.
  86. LaPan P, Brady J, Grierson C, et al. (2010), “Optimization of total protein and activity assays for the detection of MMP-12 in induced human sputum” *BMC Pulm Med*; pp.10- 40.

87. Lee SY, Kim MJ, Kang HG, et al. (2010), "Polymorphisms in matrix metalloproteinase-1, -9 and -12 genes and the risk of chronic obstructive pulmonary disease in a Korean population", *Respiration*, 80, pp.133–138.
88. Lisette IZ Kunz, Thérèse S Lapperre, Jiska B Snoeck-Stroband, Simona Budulac, Wim Timens, Simone van, Jasmijn et al (2011) "Smoking status and anti-inflammatory macrophages in bronchoalveolar lavage and induced sputum in COPD" *Respir Res*, 22 (1), pp:34 -48.
89. Livaka Kenneth J, Schmittgen (2001), "Thomas D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$ ", *Methods*, 25( 4), pp. 402-408.
90. Löffek S, Schilling O, Franzke CW (2011), "Biological role of matrix metalloproteinases: a critical balance" *Eur Respir J*, 38, pp. 191–208.
91. Lorcan P McGarvey, Matthias John, Julie A Anderson, Michael Zvarich, Robert A Wise (2007), "Ascertainment of cause-specific mortality in COPD" the TORCH Clinical Endpoint Committee, *Thorax*, 62, pp.378-379.
92. Louise M, R Carpenter, Kate R (2014), "Smoker, ex-smoker or non-smoker? The validity of routinely recorded smoking status in UK primary care: a cross-sectional study 2014" *Journals.Bmj.Com*, 4 ( 4), pp.1-7.
93. Loukides S, Bartziokas K, Vestbo J, Singh D (2013), "Novel anti-inflammatory agents in COPD: targeting lung and systemic inflammation", *Curr Drug Targets*, 14(2), pp.235-45.
94. Martina Reiter & Michael (2005), Physiology Weihenstephaner Berg, RT PCR Optimisation Strategies, *Methods*, 5, (8), pp: 53-54
95. Marsh SE, Travers J, Weatherall M, Williams MV (2008), "Proportional classifications of COPD phenotypes, *Thorax*, 2008 Sep, 63(9), pp.761-7.
96. Michael Pfaffl. (2001), "A new mathematical model for relative quantification in real-time RT–PCR", *Nucleic Acids Research*, 29(9), pp.45-50.
97. Ministry of New Zealand Health (2015), "Definitions of smoking status, [www.health.govt.nz](http://www.health.govt.nz), updated: 04 June 2015.
98. Miranda Caroline Smith; Jeremy P Wrobel (2014), "Epidemiology and clinical impact of major comorbidities in patients with COPD". *International Journal of COPD*, (9), pp. 871-888.
99. Molet S, Belleguic C, Lena H, Germain N, Bertrand CP, Shapiro SD, Planquois JM, (2005), "Increase in macrophage elastase (MMP-12) in lungs from patients with chronic obstructive pulmonary disease", *Inflamm Res*, 54(1), pp.31-36.

100. Mukhopadhyay S, Sypek J, Tavendale (2010). "Matrix metalloproteinase-12 is a therapeutic target for asthma in children and young adults", *J Allergy Clin Immunol*, 126(1), pp.70-76.
101. Murray Christopher, D.Phil, Alan Lopez (2013), "Measuring the Global Burden of Disease" *N Engl J Med*, 369, pp. 448-457.
102. Navratilova Z1, Kolek V (2016), "Matrix Metalloproteinases and Their Inhibitors in COPD" *Springer Nature Switzerland AG*, 64(3), pp.177-193.
103. Natalie Terzikhan, Katia M. Albert Hofman, Bruno H. Stricker (2016) "Prevalence and incidence of COPD in smokers and non-smokers: the Rotterdam Study, *Eur J Epidemiol*, 31(8), pp. 785–792.
104. Ning Cui, Min Hu, Raouf A (2017) "Biochemical and Biological Attributes of Matrix Metalloproteinases" *Prog Mol Biol Transl Sci*; 147: pp 1-73.
105. O'Shaughnessy TC, Ansari TW, Barnes NC, J(1997), "Inflammation in bronchial biopsies of subjects with chronic bronchitis: inverse relationship of CD8+ T lymphocytes with FEV1". *Am J Respir Crit Care Med*, 155, pp. 852–857.
106. Pavord I. D, M. M. Pizzichini, E. Pizzichini, and F. E (1997), "The use of induced sputum to investigate airway inflammation" *Thorax*, 52(6), pp.498–501
107. Peng Qu, Hong Du, Xi Wang, Cong Yan (2009). "Matrix Metalloproteinase 12 Overexpression in Lung Epithelial Cells Plays a Key Role in Emphysema to Lung Bronchioalveolar Adenocarcinoma Transition", *Cancer Res*, 69 (18), pp. 7252-7261.
108. Peter J. Barnes, FRS, FMedSci (2016), "Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease", *J Allergy Clin Immunol*, 138, pp.16-27.
109. Quément C, Guénon I, Gillon JY, et al (2008), "MMP-12 induces IL-8/CXCL8 secretion through EGFR and ERK1/2 activation in epithelial cells", *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*; 294, pp. 1076–1084.
110. Rahman Irfan (2012), "Pharmacological antioxidant strategies as therapeutic interventions for COPD" *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1822(5), pp. 714-728.
111. Raffaele Antonelli Incalzi, Simone Scarlata, Giorgio Pennazza, Marco Santonico, Claudio Pedone, (2014), "Chronic Obstructive Pulmonary Disease in the elderly", *European Federation of Internal Medicine. Published by Elsevier Inc* April, 25 (4), pp. 320–328.

112. Rao Xiayu, Xuelin Huang, Zhicheng Zhou, Xin Lin (2013), “An improvement of the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method for quantitative real-time polymerase chain reaction data analysis, *Biostat Bioinforma Biomath*, 3(3), pp.71–85.
113. Reilly Jr.; Edwin K. Silverman; Steven D. Shapiro (2012), “Chronic Obstructive Pulmonary Disease” *Harrison's principles of internal medicine*, 260, pp. 2151-2160.
114. Reilly Jr, Edwin K. Silverman; Steven D. Shapiro (2017), “Chronic Obstructive Pulmonary Disease”, *Harrison's pulmonary and critical care medicine*; 18, pp.191-204.
115. Rekha Chaudhuri, et al (2012), “Sputum matrix metalloproteinase-12 in patients with chronic obstructive pulmonary disease and asthma: Relationship to disease severity”, *American Academy of Allergy, Asthma & Immunology. Published by Elsevier Inc*, 129 (3), pp. 655-663.
116. Sarkar M, Srinivasa, Madabhavi I, Kumar K. (2017), “Tuberculosis associated chronic obstructive pulmonary disease” *Clin Respir J*; 11(3), pp. 285-295.
117. Schirnhofner L, Lamprecht B, Vollmer WM, Allison MJ, Studnicka M, Jensen RL, Buist. (2007), “COPD prevalence in Salzburg, Austria: results from the Burden of Obstructive Lung Disease (BOLD) study. *Chest*, 131, pp.29–36.
118. Schmittgen TD, Livak KJ (2008), “Analyzing real-time PCR data by the comparative (CT) method”, *Nat Protoc*, 3(6), pp.1101-1088.
119. Sin Don D. (2018), “Precision health in COPD: Now is the time” *Canadian Journal of Respiratory, Critical Care, and Sleep Medicine*, 2( 3), pp. 128-132.
120. Shapiro SD. “Proteinases in chronic obstructive pulmonary disease. *Biochem Soc Trans* 2002, 30, pp. 98–102.
121. Shapiro SD, Goldstein NM (2003), “Neutrophil elastase contributes to cigarette smoke–induced emphysema in mice”. *Am J Pathol*, 163, pp. 2329 –2335.
122. Sina A.Ghariba, Anne M.Maniconea, William C.Park (2018) “Matrix metalloproteinases in emphysema” *Matrix Biology*, Volume 73, PP. 34-51.
123. Sorheim Ic, D Demeo, G Washko, A Litonjua, D Sparrow, R Bowler, P Bakke, Silverman (2010), “Polymorphisms in the superoxide dismutase-3 gene are associated with emphysema in COPD; 7(4), pp. 262–268.
124. Takahashi S, Ishii M, Namkoong H, Hegab AE et al (2016), Pneumococcal Infection Aggravates Elastase Induced Emphysema via Matrix Metalloproteinase 12 Overexpression. *J Infect Dis*, 213(6), pp.1018-1030.
125. Stephan F Van Eeden, MD PhD and Don D Sin, MD (2013) “Oxidative stress in

- chronic obstructive pulmonary disease: A lung and systemic process”, *Can Respir J*, 20(1), pp. 27–29.
126. Stefano A, Caramori G, Gnemmi I, et al. (2009), “Association of increased CCL5 and CXCL7 chemokine expression with neutrophil activation in severe stable COPD. *Thorax*, 64, pp. 968–975.
  127. Taru Aggarwal, Ridhima Wadhwa, Vishwajeet Rohil & Pawan Kumar (2017). “Biomarkers of oxidative stress and protein-protein interaction in chronic obstructive pulmonary disease”, *Arch Physiol Biochem. Epub* pp. 226-231.
  128. Tapan Dey, Jatin Kalita, Sinéad Weldon, Clifford C. Taggart (2018), “Proteases and Their Inhibitors in Chronic Obstructive Pulmonary Disease” *J Clin Med.* 7(9), pp. 244 -264.
  129. Titlestad I, Dahl R1, Lindqvist A, Wielders P, Wray H, Wang M, Samuelsson V, Mo J, Holt A, (2012) “ Effects of an oral MMP-9 and -12 inhibitor, AZD1236, on biomarkers in moderate/severe COPD: a randomised controlled trial”. *Pulm Pharmacol Ther*, 25(2), pp.169-177.
  130. Tuleta I, Stöckigt F, Juergens UR, Pizarro C, Schrickel JW, Kristiansen G, Nickenig G, Skowasch D (2016), “Intermittent Hypoxia Contributes to the Lung Damage by Increased Oxidative Stress, Inflammation, and Disbalance in Protease/Antiprotease System”, *Lung*, 94(6), pp.1015-1020.
  131. Vandembroucke RE, Dejonckheere E, Libert C (2011), “A therapeutic role for matrix metalloproteinase inhibitors in lung diseases?”, *Eur Respir J*; 38, pp.1200–1214.
  132. Van Diemen C, Postma D et al (2011), “Genetic variation in TIMP1 but not MMPs predict excess FEV1 decline in two general population-based cohorts” *Respir Res*; 12, pp. 55- 57.
  133. Wallace AM, Sandford AJ et al. (2008), “Matrix metalloproteinase expression by human alveolar macrophages in relation to emphysema. COPD” *The European Respiratory Journal*, 5, pp. 13–23.
  134. Wan C. Tan, MD. (2011), “COPD in Asia”, *Chest*, 133(2), pp. 517–527.
  135. Wang RD, Tai H, et al (2003), “Macrophage metalloelastase mediates acute cigarette smoke-induced inflammation via tumor necrosis factor- $\alpha$  release”. *Am J Respir Crit Care Med*, 167, pp.1083–1089.
  136. Weathington NM, Van houwelingen AH, et al (2011), “A novel peptide CXCR ligand derived from extracellular matrix degradation during airway inflammation”, *Nat Med*, 12, pp. 317–323.



137. Wendong Hao, Manxiang Li, Yunqing Zhang, Cailian Zhang, Yani Xue (2019) “Expressions of MMP-12, TIMP-4, and Neutrophil Elastase in PBMCs and Exhaled Breath Condensate in Patients with COPD and Their Relationships with Disease Severity and Acute Exacerbations”, *J Immunol Res. J Immunol Res*, 17, pp. 35-42
138. Wendong Hao, Manxiang Li, Cailian Zhang, Yunqing Zhang & Ping Wang (2019) “Inflammatory mediators in exhaled breath condensate and peripheral blood of healthy donors and stable COPD patients” *Journal Immunopharmacology and Immunotoxicology* 41 (2), pp. 224-230
139. Wen Jianxion, Yi Song, Yuehui Xie, Feng Liu, Chong Zhao, Rui Yu, Shao Ban, Qiufang Ye, Haibo Wan, (2013) “Expression of matrix metalloproteinase-12 in aortic dissection” *BMC Cardiovasc Disord.* pp. 13 - 34
140. Witold Mazur, Helen Ilumets, Tuula (2011). “Ageing and smoking contribute to plasma surfactant proteins and protease imbalance with correlations to airway obstruction” *European Respiratory Journal*, 38: pp.11-19.
141. Watt Fiona M. & Huck (2013) “Role of the extracellular matrix in regulating stem cell fate” *Nature Reviews Molecular Cell Biology* ,14, pp. 467-473.
142. World Health Organization (2020), “Chronic Obstructive Pulmonary Disease” <http://www.who.int>. Accessed October 6, 2020.
143. Woodruff et al (2005), “A distinctive alveolar macrophage activation state induced by cigarette smoking, *Am J Respir Crit Care Med*, 172, pp. 1383–1392.
144. Woodruff PG, Agusti A, Roche N, (2015),” Current concepts in targeting chronic obstructive pulmonary disease pharmacotherapy: making progress towards personalised management. *Lancet*, 385(9979), pp. 1789-1798
145. Woo Jin Kim and Sang Do Lee. (2015), “Candidate genes for COPD: current evidence and research” *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 10, pp. 2249–2255.
146. Woldhuis Roy R, Corry-Anke Brandsma, Maaïke de Vries, Rita Costa, Melanie Königshoff, (2017) Lung ageing and COPD: is there a role for ageing in abnormal tissue repair? *European Respiratory Review*, pp. 26-32.
147. Wwww.Creative-Biogene.Com (2013) “Realtime RT PCR protocol”, uptodate 17 / 04/ 2017.
148. Xiong Z, Leme AS, (2011), “CX3CR1+ lung mononuclear phagocytes spatially confined to the interstitium produce TNF- $\alpha$  and IL-6 and promote cigarette smoke-induced emphysema”, *J Immunol*, 186, pp. 3206–3214.

149. Xu J, Xu F, Barrett E. (2008). “Metalloelastase in lungs and alveolar macrophages is modulated by extracellular substance P in mice”. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 295, pp.162–170.
150. Yamada Kazuhiro, Kazuhisa Asai , Fumihiko Nagayasu, Kanako Sato, Naoki Ijiri, Naoko Yoshii, Yumiko Imahashi,\* (2016) Impaired nuclear factor erythroid 2-related factor 2 expression increases apoptosis of airway epithelial cells in patients with chronic obstructive pulmonary disease due to cigarette smoking, *BMC Pulmonary Medicine*, PP. 16-27.
151. Yamada N, Yamaya M, Okinaga S, et al (2000), “Microsatellite polymorphism in the heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to emphysema”. *Am J Hum Genet*, 66, pp.187–195
152. Young RP, Hopkins R, Black PN, Eddy C, Wu L, Gamble GD, Mills GD, Garrett JE, Eaton TE, Rees MI (2006), “Functional variants of antioxidant genes in smokers with COPD and in those with normal lung function”, *Thorax*, 61(5), pp. 394-399.
153. Young-Soo Shim, Korea; Wan C Tan and Regional COPD Working Group. (2011), “COPD prevalence in 12 Asia-Pacific countries and regions: projections based on the COPD prevalence estimation model”, *Respirology*, 8(2), pp.192-198.
154. Yuan CH, Chang D, Lu GM, Deng XW (2017), “Genetic polymorphism and chronic obstructive pulmonary disease”, *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*. 1(2) pp.1385 - 1393
155. YuchuanWua, Jianchang Lia, Junjun Wua et al (2012) “Discovery of potent and selective matrix metalloprotease 12 inhibitors for the potential treatment of chronic obstructive pulmonary disease (COPD)” *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22 (1), pp. 138-143.
156. Zheng JP, Wen FQ, Bai CX, Wan HY, Kang J, et al ; PANTHEON study group (2014), “Twice daily N-acetylcysteine 600 mg for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease”, *Lancet Respir Med*, 2(3), pp.187-194.
157. Zhang Jiasheng, Mahmoud Razavian, Thomas Bordenave, Georgiadis, Fabrice Beau, Reza Golestani, Jakub Toczec, ( 2016) “Optical imaging of MMP-12 active form in inflammation and aneurysm,” *Scientific reports*, 6, pp. 345-355.

## PHỤ LỤC I

### PHIẾU THU THẬP THÔNG TIN BPTNMT

Ngày khám bệnh:

Số hồ sơ:

Họ và tên bệnh nhân (viết tắt tên):

Năm sinh:

Tuổi:

Giới tính:

Nam  Nữ

Địa chỉ: (Tỉnh, Thành phố) .

Số điện thoại liên lạc:

#### TIỀN SỬ HÚT THUỐC LÁ

Ông / Bà có hút thuốc lá (hoặc hút thuốc lào) không ?	<input type="checkbox"/> có <input type="checkbox"/> không
Ông / Bà có hút thuốc lá đều đặn, thường xuyên mỗi ngày hay không ?	<input type="checkbox"/> có <input type="checkbox"/> không
Ông / Bà hút thuốc từ năm bao nhiêu tuổi ?	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> tuổi
Ông / Bà hút trung bình bao nhiêu điếu thuốc trong 1 ngày?	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> điếu/ ngày
Hiện tại ông / Bà còn hút thuốc không?	<input type="checkbox"/> còn hút <input type="checkbox"/> không
Ông / Bà đã ngưng hút thuốc từ khi nào	Tháng <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> , năm <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

#### TIỀN SỬ BỆNH: ĐỢT CẤP BPTNMT TRONG NĂM VỪA QUA

Trong năm trước Ông /Bà có phải nhập viện vì bệnh hô hấp không? ( khó thở, ho, có đờm)	<input type="checkbox"/> có <input type="checkbox"/> không
Năm trước Ông /Bà phải nhập viện bao nhiêu lần	số lần <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Trong năm rồi, Ông/Bà có lần nào bị khó thở, ho, có đờm và được điều trị kháng sinh không? (Mỗi đợt được tính khi uống kháng sinh trên 5 ngày)	<input type="checkbox"/> có <input type="checkbox"/> không
Có khoảng bao nhiêu đợt dùng kháng sinh do bệnh hô hấp (ho, khó thở, có đờm) trong năm vừa qua. (Mỗi đợt được tính khi uống kháng sinh trên 5 ngày)	Số đợt <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

**CÂU HỎI ĐÁNH GIÁ MỨC ĐỘ NẶNG KHÓ THỞ (mMRC)**

<b>Ông /Bà có các triệu chứng dưới đây không?</b>	<b>Có</b>	<b>Không</b>	<b>Điểm</b>
Tôi chỉ khó thở khi gắng sức	<input type="checkbox"/> có	<input type="checkbox"/> không	0
Tôi khó khi vội vã hoặc khi đi lên dốc nhẹ	<input type="checkbox"/> có	<input type="checkbox"/> không	1
Tôi đi bộ chậm hơn người cùng tuổi vì khó thở, tôi phải dừng lại để thở khi đi bộ	<input type="checkbox"/> có	<input type="checkbox"/> không	2
Tôi dừng lại để thở sau khi đi bộ 100 mét hoặc sau vài phút	<input type="checkbox"/> có	<input type="checkbox"/> không	3
Tôi quá khó thở, không thể ra khỏi nhà hoặc thay quần áo	<input type="checkbox"/> có	<input type="checkbox"/> không	4

**CÂU HỎI BPTNMT - NGUY CƠ CAO / NGUY CƠ THẤP**

<b>Ông /Bà có các triệu chứng dưới đây không?</b>	<b>Có</b>	<b>Không</b>
Có đợt cấp nặng phải nhập viện (trong năm vừa qua)		
Có 0 - 1 đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, đợt cấp không nhập viện.		
Có $\geq 2$ đợt cấp, hoặc $\geq 1$ đợt cấp trong vòng 12 tháng qua, đợt cấp phải nhập viện		

**TIỀN SỬ BỆNH PHỔI KHÁC**

<b>Ông /Bà có các bệnh phổi khác dưới đây không?</b>	<b>Có</b>	<b>Không</b>
Hen		
Lao phổi		
Ung thư phổi		

# CÂU HỎI ĐÁNH GIÁ BỆNH PHỔI TẮC NGHẼN MẠN TÍNH ẢNH HƯỞNG ĐẾN CUỘC SỐNG

## Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính (BPTNMT) của ông/bà như thế nào? Hãy sử dụng công cụ đánh giá BPTNMT (CAT)

Bộ câu hỏi này sẽ giúp ông/bà và các nhân viên y tế đánh giá tác động của BPTNMT ảnh hưởng lên sức khỏe và cuộc sống hàng ngày của ông/bà. Nhân viên y tế sẽ sử dụng những câu trả lời của ông/bà và kết quả đánh giá để giúp họ nâng cao hiệu quả điều trị BPTNMT của ông/bà và giúp ông/bà được lợi ích nhiều nhất từ việc điều trị.

Nếu ông/bà muốn trả lời bằng câu hỏi này trên giấy, vui lòng nhấn chuột vào đây và in ra để trả lời.

Nếu ông/bà muốn hoàn tất trực tuyến bảng câu hỏi này thì đối với mỗi câu hỏi sau đây vui lòng sử dụng chuột để đánh dấu (X) vào trong ô trống mô tả đúng nhất tình trạng hiện tại của ông/ bà.

Ví dụ: Tôi rất hạnh phúc

0  1 2 3 4 5 Tôi rất buồn

		ĐIỂM	
Tôi hoàn toàn không ho	0 1 2 3 4 5	Tôi ho thường xuyên	
Tôi không có chút đờm (đờm) nào trong phổi	0 1 2 3 4 5	Trong phổi tôi có rất nhiều đờm (đờm)	
Tôi không có cảm giác nặng ngực	0 1 2 3 4 5	Tôi có cảm giác rất nặng ngực	
Tôi không bị khó thở khi lên dốc hoặc lên một tầng lầu (gác)	0 1 2 3 4 5	Tôi rất khó thở khi lên dốc hoặc lên một tầng lầu (gác)	
Tôi không bị hạn chế trong các hoạt động ở nhà	0 1 2 3 4 5	Tôi rất bị hạn chế trong các hoạt động ở nhà	
Tôi yên tâm ra khỏi nhà dù tôi có bệnh phổi	0 1 2 3 4 5	Tôi không yên tâm chút nào khi ra khỏi nhà bởi vì tôi có bệnh phổi	
Tôi ngủ ngon giấc	0 1 2 3 4 5	Tôi không ngủ ngon giấc vì có bệnh phổi	
Tôi cảm thấy rất khỏe	0 1 2 3 4 5	Tôi cảm thấy không còn chút sức lực nào	

ĐIỂM TỔNG CỘNG

# KET QUA DO CHUC NANG HO HAP

BENH VIEN NGUYEN TRAI - TP. HCM

MSTD: 02.0024.1791

Pre vs. Post FVC & SVC Report

Page 1 of 2

BUONG DO CHUC NANG HO HAP

<b>Name:</b>	<b>ID: 4953</b>	Birthdate: 01/01/1951
Height at test (cm): 163.0	Sex: Male	Smoking history (pk-yrs):
Weight at test (kg): 49.0	Age at test: 69	Predicted set: Quanjer GLI 2012

Technician: LÊ TRANG

Estimated Lung Age: >95

Diagnosis:

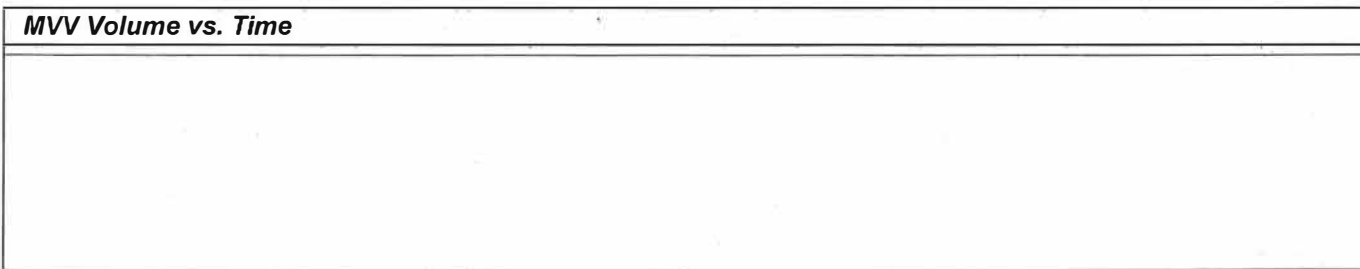
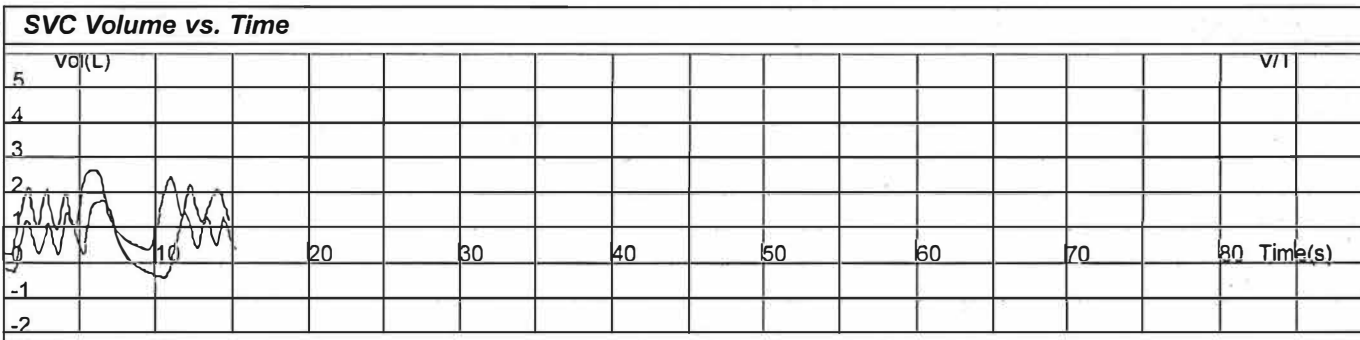
Effort summary: 3 efforts: 3 acceptable, 3 reproducible

Test series date/time: 25/02/2020 08:39 AM

Physician:

Effort #8 usability caution (ATS/ERS 2005):

Results								
Result	Pred	LLN	Pre	%Prd	Post	%Prd	%Chg	
SVC (L)	3.09	2.27	±2.20	71%	±2.26	73%	3%	
FVC (L)	3.09	2.27	2.41	78%	2.54	82%	5%	
FEV1 (L)	2.45	1.75	±1.63	66%	±1.72	70%	6%	
FEV1/FVC	0.79	0.67	0.68	85%	0.68	85%	0%	
FEV1/SVC			0.74		0.76			
FEV6 (L)	---	---	---	---	---	---	---	
FEF25-75% (L/s)	2.13	1.04	±0.96	45%	±1.04	49%	8%	
Vext (%)	---	---	1.92	---	2.79	---	46%	
IC (L)	---	---	---	---	---	---	---	
PEFR (L/s)	---	---	4.00	---	4.37	---	9%	
MVV (L/m)	---	---	---	---	---	---	---	



Ho hap ky:

Binh thuong  Bat thuong

Hoi chung han che:

Khong  Nhe  Trung binh  Nang

Hoi chung tac nghen:

Khong  Nhe  Trung binh  Nang

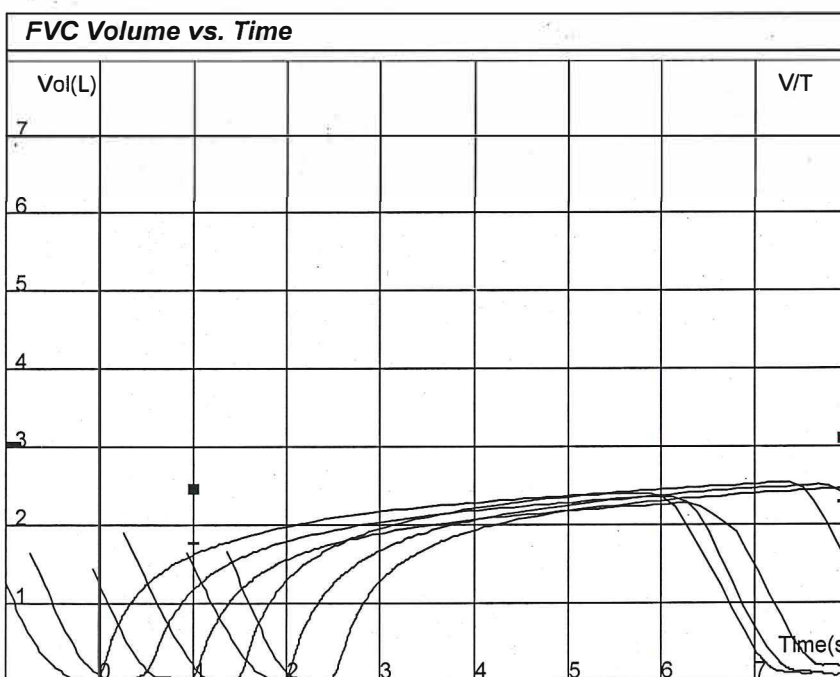
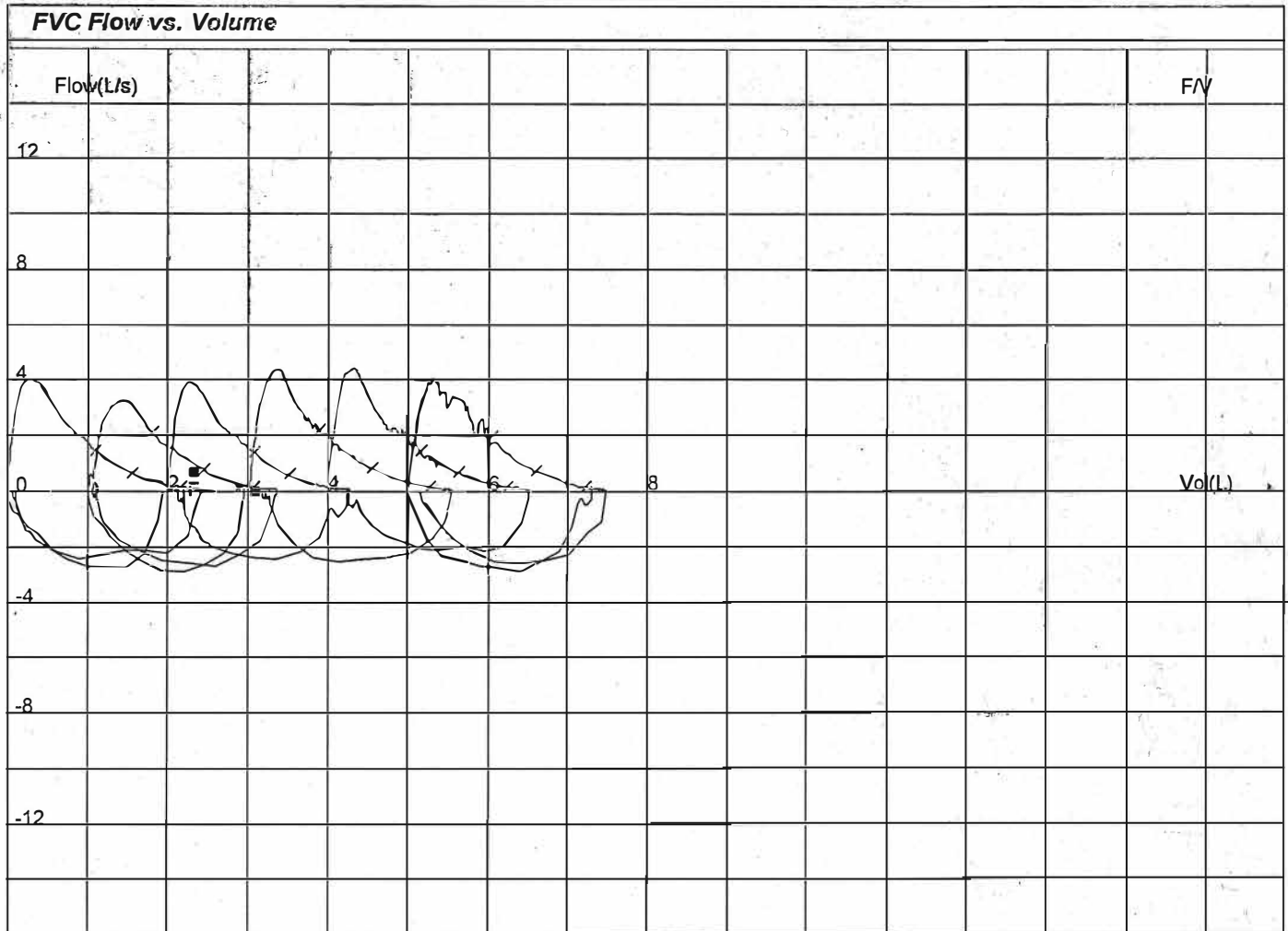
Test dan phe quan:

Khong dap ung  Co dap ung

Bac si doc ket qua

BS. CK II. LÊ QUANG QUỲNH TRÂM

Name:



**Interpretation**

Co giam FEF25 -75% ma co the bao hieu som hoac tac nghen duong tho nho, tuy nhien ty le FEV1/FVC ma thuong duoc su dung de phan biet giua tac nghen va khong tac nghen la trong gioi han binh thuong. Neu chi dinh lam sang, so sanh voi thu nghiem trong qua khu va/hoac gia tang tan suat kiem tra trong tuong lai co the huu ich.  
 @Giai thich nay la hop le chi khi bac si xem xet va chu ky xac nhan.

Interpreted by:



# KET QUẢ DO CHỨC NĂNG HỌ HẤP

BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP. HCM

Pre vs. Post FVC & SVC Report

Page 1 of 2

TRUNG TÂM CHĂM SÓC HỌ HẤP

<b>Name:</b> <span style="background-color: #e0f0ff; border: 1px solid black; display: inline-block; width: 150px; height: 15px;"></span>	<b>ID:</b> 220915	<b>Birthdate:</b> 01/01/1931
Height at test (cm): 165.0	Sex: Male	Smoking history (pk-yrs):
Weight at test (kg): 55.0	Age at test: 85	Predicted set: ITS 1984

Technician: CAI NGHIA

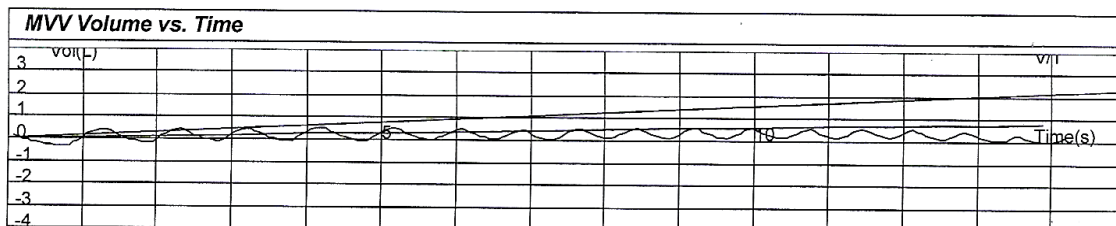
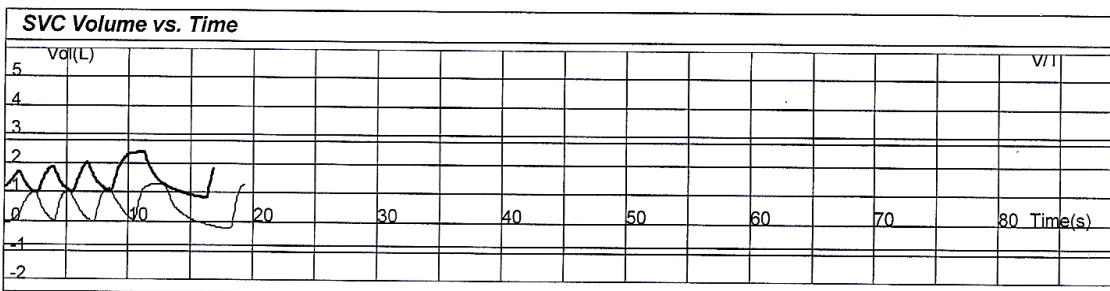
Diagnosis:

Test series date/time: 08/12/2016 10:22 AM

Physician:

Effort #8 usability caution (ATS/ERS 2005):

Results							
Result	Pred	LLN	Pre	%Prd	Post	%Prd	%Chg
SVC (L)	3.57	---	1.53	43%	1.55	43%	1%
FVC (L)	*3.08	2.08	±1.41	46%	±1.45	47%	3%
FEV1 (L)	*2.31	1.55	±0.84	36%	±0.92	40%	10%
FEV1/FVC	0.75	0.67	±0.60	80%	±0.63	85%	7%
FEV1/SVC			0.55		0.59		
FEV6 (L)	*---	---	---	---	---	---	---
FEF25-75% (L/s)	2.27	0.60	±0.46	20%	±0.53	24%	17%
Vext (%)	---	---	0.71	---	0.00	---	-100%
IC (L)	2.79	---	---	---	---	---	---
PEFR (L/s)	7.53	---	3.51	47%	3.30	44%	-6%
MVV (L/m)	92.60	35.80	33.85	37%			



- Họ hạp ký     Bình thường     Bất thường
- Hơi chung hạn chế:     Không     Nhẹ     Trung bình     Nặng
- Hơi chung tác nghẽn:     Không     Nhẹ     Trung bình     Nặng
- Test đánh giá:     không đáp ứng     có đáp ứng

Bác sĩ đọc kết quả

THS.BS. TRẦN THỊ THỦY TƯỜNG



## **PHỤ LỤC II**

### **BẢN THÔNG TIN DÀNH CHO ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU VÀ CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU**

Tên nghiên cứu: Nghiên cứu Matrix Metalloproteinase -12  
trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính

Nghiên cứu viên chính: Nguyễn Công Trung

#### **I. THÔNG TIN VỀ NGHIÊN CỨU**

##### **Mục đích và tiến hành nghiên cứu:**

Mục tiêu tìm kiếm phương thức mới để điều trị bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính có hiệu quả hơn.

##### **Nghiên cứu sẽ được tiến hành như sau:**

Tại Phòng Khám Thăm Dò Chức Năng Hô Hấp, các đối tượng tham gia nghiên cứu được khai thác thông tin, viết giấy đồng thuận, đo phế dung ký và lấy đàm khạc ra. Đo phế dung ký trong thời gian khoảng 5 phút, tiếp tục khí dung dịch muối đẳng trương NaCl 0, 9% khoảng 5 phút, sau đó người tham gia nghiên cứu khạc đàm ra vào lọ vô trùng, ngay sau đó, mẫu đàm được gửi đến Trung tâm xét nghiệm Y Sinh Học Phân Tử để thực hiện Realtime RT- PCR và phân tích mức độ biểu hiện gen MMP12.

##### **Thời gian nghiên cứu:**

Thời gian nghiên cứu từ tháng 6-2015 đến tháng 12 -2018

##### **Tiêu chuẩn loại trừ**

Đối tượng mắc những bệnh phổi khác như: hen, lao phổi, ung thư phổi

Đối tượng BPTNMT có đợt kịch phát trong vòng 2 tháng trước

Đối tượng đã phẫu thuật cắt phổi, bệnh ung thư phổi, ung thư khác.

##### **Tiêu chuẩn chọn đối tượng nghiên cứu**

Đối tượng mắc bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính hút thuốc và không hút thuốc.

Đối tượng khỏe - không hút thuốc và đối tượng khỏe - hút thuốc lá

##### **Bản chất và mức độ tham gia của những người tham gia nghiên cứu là gì?**

Người tham gia nghiên cứu tình nguyện khạc đàm khoảng 5ml

##### **Các nguy cơ và bất lợi**

Khi tham gia phế dung ký và khí dung bằng dung dịch muối đẳng trương, có thể làm kích thích ho khạc, khó chịu. Nếu có trở ngại sẽ được nhân viên phòng khám thăm dò chức năng hô hấp xử lý.

##### **Những lợi ích có thể có đối với người tham gia**

Xác định biểu hiện gen MMP-12 trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính có thể là góp phần giúp các nhà nghiên cứu tìm kiếm phương pháp điều trị bệnh hiệu quả hơn

tham gia không phải trả tiền cho việc lấy mẫu đàm, không phải trả tiền cho xét nghiệm Realtime RT- PCR, cũng như không phải trả bất kì khoản tiền nào liên quan trong công việc nghiên cứu. Tiến trình nghiên cứu không ảnh hưởng đến kết quả điều trị cho bệnh nhân,

### **Người liên hệ**

Họ tên, số điện thoại người cần liên hệ: BS Nguyễn Công Trung, Số ĐT: 0908141552, Địa chỉ cơ quan: 314 Đường Nguyễn Trãi, Quận 5 TPHCM

### **Sự tự nguyện tham gia**

Người tham gia được quyền tự quyết định, không hề bị ép buộc tham gia

Người tham gia có thể rút lui ở bất kỳ thời điểm nào mà không bị ảnh hưởng gì đến việc điều trị/chăm sóc mà họ đáng được hưởng.

### **Tính bảo mật**

Tên người tham gia nghiên cứu được mã hóa, không ghi số nhà, địa phương, phường xã, tất cả thông tin được giữ bí mật và chỉ phục vụ cho nghiên cứu, kết quả nghiên cứu không sử dụng mục đích khác.

## **II. CHẤP THUẬN THAM GIA NGHIÊN CỨU**

Tôi đã đọc và hiểu thông tin trên đây, đã có cơ hội xem xét và đặt câu hỏi về thông tin liên quan đến nội dung trong nghiên cứu này. Tôi đã nói chuyện trực tiếp với nghiên cứu viên và được trả lời thỏa đáng tất cả các câu hỏi. Tôi nhận một bản sao của Bản Thông tin cho đối tượng nghiên cứu và chấp thuận tham gia nghiên cứu này. Tôi tự nguyện đồng ý tham gia.

### **Chữ ký của người tham gia:**

Họ tên Trần Văn Dũng Chữ ký 

Ngày tháng năm 29.9.2016

### **Chữ ký của người làm chứng hoặc của người đại diện hợp pháp (nếu áp dụng):**

Họ tên \_\_\_\_\_ Chữ ký \_\_\_\_\_

Ngày tháng năm \_\_\_\_\_

### **Chữ ký của Nghiên cứu viên/người lấy chấp thuận:**

Tôi, người ký tên dưới đây, xác nhận rằng bệnh nhân/người tình nguyện tham gia nghiên cứu ký bản chấp thuận đã đọc toàn bộ bản thông tin trên đây, các thông tin này đã được giải thích cặn kẽ cho Ông/Bà và Ông/Bà đã hiểu rõ bản chất, các nguy cơ và lợi ích của việc Ông/Bà tham gia vào nghiên cứu này.

Họ tên Nguyễn Công Trung Chữ ký 

Ngày tháng năm 29.09.2016

**PHỤ LỤC III****DANH SÁCH BỆNH NHÂN**

STT	TÊN BỆNH NHÂN	SỐ HỒ SƠ	NGÀY KHÁM BỆNH	TUỔI
1	TRƯƠNG VĂN B	N16-0000316	17/09/16	71
2	LÊ VĂN QU	N16-0283526	17/09/16	62
3	BIỆN XUÂN PH	A10-0146645	17/09/16	61
4	PHẠM VĂN B	N16-0293305	24/09/16	73
5	NGUYỄN VĂN K	N16-0294718	26/09/16	65
6	LÊ TRUNG T	N16-0294714	26/09/16	74
7	NGUYỄN VĂN M	N16-0296409	27/09/16	66
8	NGÔ Đ	A10-0173436	28/09/16	78
9	HUỲNH TÀI H	N16-0280529	28/09/16	75
10	BÙI BẠCH Đ	N13-0000899	28/09/16	67
11	NGUYỄN VĂN KH	N16-0298194	28/09/16	61
12	PHAN VĂN Đ	N14-0284459	28/09/16	77
13	TRẦN VĂN G	N16-0299069	29/09/16	63
14	TRẦN VĂN Đ	N16-0299696	29/09/16	74
15	NGUYỄN VĂN Â	A04-0107248	03/10/16	63
16	NGUYỄN VĂN TH	N16-0303190	03/10/16	61
17	LÊ VĂN B	A08-0050464	04/10/16	70
18	THÁI VĂN CH	A12-0119492	05/10/16	62
19	NGUYỄN VĂN B	B07-0061765	05/10/16	62
20	LÊ VĂN U	N16-0306182	05/10/16	85
21	NGUYỄN HÀM CH	N16-0308551	06/10/16	88
22	LÝ VĂN H	N16-0307638	06/10/16	63
23	TRẦN VĂN NGH	A13-0169790	07/10/16	67
24	LÊ VĂN H	N16-0196338	07/10/16	68
25	NGUYỄN PHI TH	N16-0313179	10/10/16	62
26	TRẦN DƯƠNG T	B11-0028854	11/10/16	66
27	BÙI THANH H	A10-0107164	13/10/16	64
28	ĐỖ THÁI H	N15-0207016	13/10/16	78
29	NGUYỄN ĐÌNH L	N16-0318766	14/10/16	80
30	NGUYỄN HỮU Q	A11-0072034	14/10/16	87
31	NGUYỄN N	A13-0169610	15/10/16	65
32	NGUYỄN NGỌC C	N16-0322350	17/10/16	75
33	NGUYỄN VĂN V	N15-0345297	21/10/16	61
34	HUỲNH NAM Đ	B03-0006743	21/10/16	81
35	NGUYỄN HUY D	N15-0246880	22/10/16	93
36	NGUYỄN VĂN K	N16-0294718	24/10/16	65

**BỆNH  
KẾ**

37	NGUYỄN VĂN H	N16-0300762	24/10/16	64
38	HOÀNG HỮU C	N16-0330897	24/10/16	67
39	NGUYỄN HỮU PH	N16-0244930	25/10/16	81
40	LÊ VĂN NH	A12-0061018	26/10/16	67
41	VÕ QUỐC T	A12-0059724	26/10/16	67
42	LÊ VĂN Q	N16-0310825	26/10/16	80
43	LÊ VĂN C	A12-0182343	26/10/16	79
44	NGUYỄN VĂN V	N16-0334368	26/10/16	61
45	BÙI KIM KH	N13-0077452	27/10/16	65
46	HUỖNH T	N16-0336446	28/10/16	80
47	LÊ VĂN D	N16-0279915	28/10/16	72
48	LÂM TỰ HỒNG QU	N16-0340058	31/10/16	61
49	NGUYỄN VĂN TH	N13-0037491	01/11/16	76
50	NGUYỄN VĂN T	N16-0120633	01/11/16	87
51	LÊ VĂN T	A09-0130868	01/11/16	67
52	NGUYỄN VĂN B	N16-0160925	01/11/16	68
53	NGUYỄN VĂN C	N16-0324126	02/11/16	62
54	LÊ CÒN Y	N16-0342910	02/11/16	82
55	PHAN ĐIÊN KH	N16-0281553	03/11/16	64
56	NGUYỄN VĂN B	N16-0345201	04/11/16	61
57	NGUYỄN THÀNH C	N16-0345555	04/11/16	65
58	TRƯƠNG THỊ L	A13-0061852	05/11/16	68
59	NGUYỄN VĂN Đ	N16-0348968	07/11/16	61
60	HÀ HỮU D	A09-0228819	07/11/16	63
61	TRẦN XUÂN L	A11-0150934	07/11/16	72
62	BÙI THỊ C	N16-0337877	07/11/16	72
63	TÔ VĂN TR	N16-0349437	08/11/16	77
64	PHẠM VĂN D	N16-0361006	16/11/16	61
65	TRẦN MINH KH	A06-0128080	17/11/16	66
66	PHẠM M	N16-0361566	17/11/16	74
67	NGUYỄN VĂN L	A09-0187754	18/11/16	69
68	LÊ VĂN D	A09-0118673	19/11/16	83
69	ĐINH ĐÌNH TH	A10-0122450	19/11/16	73
70	NGÔ THỊ H	N13-0168386	21/11/16	64
71	NGUYỄN VĂN CH	N16-0368515	23/11/16	69
72	NGUYỄN LƯƠNG M	N13-0053156	23/11/16	83
73	NGUYỄN VĂN TH	N16-0369837	24/11/16	63
74	NGUYỄN VĂN C	N16-0370481	24/11/16	78
75	NGUYỄN TẤN TR	N15-0320348	28/11/16	61

TIỀN ĐẠI H  
PH  
HOẠCH



76	NGUYỄN CÔNG D	N16-0049055	28/11/16	79
77	PHẠM TH	N16-0374546	28/11/16	82
78	ĐẶNG THANH D	A08-0204633	28/11/16	62
79	PHẠM THẾ C	N16-0374826	28/11/16	67
80	LÊ QUANG Đ	A11-0324072	30/11/16	67
81	NGUYỄN CÔNG TH	N16-0361274	30/11/16	61
82	LÊ VĂN U	N16-0306182	30/11/16	85
83	CAO QUANG PH	B09-0035137	30/11/16	93
84	ĐẶNG KIM H	A05-0136550	30/11/16	69
85	VĂN TÔ T	N16-0377549	30/11/16	61
86	MAI THẾ Y	A05-0133756	01/12/16	85
87	NGUYỄN MINH TH	N16-0379312	02/12/16	80
88	PHẠM TÂN N	A11-0265257	02/12/16	77
89	NGUYỄN MINH T	N16-0292903	02/12/16	62
90	HUỖNH VĂN B	N16-0019935	02/12/16	79
91	ĐỖ VĂN Đ	N15-0290418	03/12/16	67
92	NGUYỄN VĂN	N15-0302326	03/12/16	82
93	ÔN KH	N15-0214989	05/12/16	73
94	TRẦN ĐẶNG H	A13-0044801	07/12/16	61
95	NGUYỄN VĂN TH	N16-0383749	07/12/16	87
96	TỬ JOHN	N16-0385779	07/12/16	78
97	NGUYỄN CÔNG T	N16-0384914	07/12/16	62
98	NGUYỄN VĂN T	N14-0307424	08/12/16	76
99	NGUYỄN VĂN TH	N16-0385294	07/12/16	82
100	NGUYỄN TÂN TH	N14-0094233	08/12/16	86
101	HỒ KIM S	A01-0921067	08/12/16	67
102	HỒ SINH H	A07-0097892	09/12/16	72
103	NGUYỄN VĂN H	N16-0343312	09/12/16	62
104	NGUYỄN THANH H	A03-0056192	10/12/16	67
105	LA ĐÌNH H	N16-0390596	12/12/16	72
106	LÊ VĂN H	N16-0389024	14/12/16	73
107	VÕ ĐÌNH T	A13-0070006	13/12/16	88
108	LÊ NINH C	N16-0372422	14/12/16	75
109	NGÔ PHƯỚC L	A08-0041377	15/12/16	61
110	LƯU VĨNH H	N16-0248839	16/12/16	70
111	HUỖNH PHƯỚC C	N16-0397448	19/12/16	67
112	TỬ ĐÌNH CH	N16-0397263	19/12/16	64
113	TRƯƠNG VĂN PH	A13-0126786	19/12/16	64
114	NGUYỄN ĐỨC L	N16-0398297	20/12/16	63

115	NGUYỄN TH	N15-0178086	20/12/16	73
116	TÔ VĂN S	A08-0115404	22/12/16	62
117	NGUYỄN HỮU TR	N16-0385327	26/12/16	62
118	NGUYỄN VĂN Â	A04-0107248	26/12/16	78
119	NGUYỄN THỊ YẾN T	A04-0102442	26/12/16	63
120	LÊ VĂN Ú	N16-0343646	27/12/16	84
121	NGUYỄN M	N16-0406762	28/12/16	66
122	NGUYỄN HOÀNG V	A12-0143710	28/12/16	61
123	ĐÌNH VĂN T	B09-0064417	28/12/16	67
124	NGUYỄN PHƯỚC G	N16-0319227	28/12/16	61
125	PHAN VĂN L	N16-0406517	28/12/16	71
126	LÊ MINH TR	A12-0201389	28/12/16	60
127	BÙI VĂN AN	N16-0376667	29/12/16	61
128	LÊ VĂN X	A12-0238046	29/12/16	67
129	NGUYỄN VĂN TH	A06-0116432	29/12/16	61
130	PHẠM TIẾN L	N15-0025405	30/12/16	64
131	CAO VĂN CH	N16-0409307	30/12/16	61
132	NGUYỄN HOÀNG N	A05-0082907	30/12/16	75
133	NGUYỄN VĂN T	N17-0003338	05/01/17	85
134	CAO D	N14-0334760	05/01/17	62
135	CAO LƯƠNG B	A05-0103705	09/01/17	85
136	NGUYỄN VĂN N	A09-0008863	09/01/17	67
137	NGUYỄN VĂN H	N17-0009249	11/01/17	69
138	NGUYỄN HỮU TR	A13-0084437	12/01/17	78
139	HUỖNH VĂN D	N16-0327108	14/01/17	81
140	TRẦN ĐÌNH TR	A12-0278341	14/01/17	82
141	HUỖNH NGỌC CH	N17-0013952	17/01/17	61
142	NGUYỄN VĂN T	N16-0407490	19/01/17	82
143	HỒ VĂN QU	N17-0013124	20/01/17	67
144	TRỊNH MINH H	N14-0362320	01/03/17	75
145	NGUYỄN VĂN T	N14-0052187	02/03/17	76
146	LƯƠNG VĂN T	N17-0049854	02/03/17	72
147	HUỖNH VĂN B	N17-0052822	03/03/17	77
148	NGUYỄN VĂN M	N15-0219777	06/03/17	61
149	QUÁCH ĐĂNG B	N17-0056046	06/03/17	63
150	TRẦN VĂN PH	N17-0055110	06/03/17	89
151	NGUYỄN PH	N17-0054547	08/03/17	73
152	NGUYỄN NGỌC TH	N15-0145175	10/03/17	76
153	LÊ THANH TR	N17-0058452	10/03/17	69

DƯỢC  
G  
ÔNG

154	LỮ KIM C	A02-0012166	10/03/17	75
155	MAI VĂN L	N17-0061522	10/03/17	74
156	LÊ VĂN X	N17-0048141	13/03/17	67
157	NGUYỄN VĂN TH	N17-0069628	17/03/17	66
158	BÙI VĂN S	N17-0070347	17/03/17	75
159	VÕ THIÊN H	N17-0070564	18/03/17	74
160	NGÔ VĂN S	N17-0072160	20/03/17	62
161	HUỶNH HUY QU	N17-0073274	20/03/17	79
162	NGUYỄN TH	N15-0068031	21/03/17	81
163	DƯƠNG XUÂN TH	N13-0072085	22/03/17	74
164	PHÙNG V	N14-0306922	22/03/17	65
165	NGUYỄN VĂN M	A09-0200160	24/03/17	71
166	NGUYỄN VĂN CH	N17-0078614	24/03/17	70
167	ĐOÀN VĂN M	N16-0313353	24/03/17	60
168	PHẠM VĂN NGH	N17-0082110	28/03/17	67
169	TRẦN TÚ H	N16-0030558	30/03/17	62
170	NGUYỄN VĂN O	A12-0076833	30/03/17	71
171	PHAN NGỌC QUỐC D	N17-0087843	31/03/17	72
172	VŨ THỊ M	N17-0090034	03/04/17	63
173	LÊ THỊ NH	N17-0091841	11/04/17	66
174	TRẦN VĂN Đ	N17-0080642	24/04/17	82
175	VÕ QUANG TR	B09-0073285	24/04/17	73
176	NGUYỄN ANH T	N17-0114273	24/04/17	65
177	ĐẶNG TẤN V	N15-0280450	24/04/17	78
178	NGUYỄN THANH H	N16-0199603	24/04/17	83
179	PHAN VĂN H	A10-0074859	24/04/17	67
180	NGUYỄN TẤN Đ	N16-0288908	24/04/17	74
181	LÊ QUANG V	N17-0114770	24/04/17	63
182	HUỶNH TH	N13-0103670	08/05/17	87
183	LÊ VĂN TH	N17-0084761	12/05/17	75
184	LÊ THANH H	A12-0241186	15/05/17	60
185	VŨ KIM H	N16-0321141	15/05/17	91
186	PHAN VĂN T	B10-0043028	16/05/17	79
187	PHAN THÀNH TH	N17-0140446	18/05/17	62
188	PHẠM VĂN L	N17-0142478	19/05/17	67
189	ĐINH VĂN H	N17-0146869	23/05/17	68
190	MẠC PHƯỚC KH	N17-0144114	22/05/17	69
191	TRẦN VĂN M	N17-0146812	23/05/17	85
192	NGUYỄN VĂN NH	N17-0008940	30/05/17	65



193	VÕ TRẦN CH	N17-0156133	31/05/17	83
194	LÊ QUANG Đ	A11-0324072	31/05/17	67
195	PHẠM VĂN NG	N17-0155991	02/06/17	85
196	ĐOÀN THANH TR	A12-0226962	07/06/17	72
197	TRẦN T	A13-0132200	30/06/17	78
198	NGUYỄN VĂN TH	N17-0203549	03/07/17	75
199	NGUYỄN TRI PH	N17-0209348	06/07/17	67
200	TRẦN VĂN Đ	N17-0212890	10/07/17	65
201	NGUYỄN THỊ PH	N16-0385001	10/07/17	81
202	LÊ THỊ L	N15-0310143	11/07/17	62
203	NGUYỄN VĂN H	N17-0219191	13/07/17	78
204	TRƯƠNG X	N17-0219655	13/07/17	77
205	NGUYỄN THỊ L	N15-0075276	26/07/17	72
206	TRƯƠNG MINH C	N14-0148351	27/07/17	70
207	TRẦN VĂN TH	A10-0109417	27/07/17	60
208	NGUYỄN VĂN X	N17-0246599	01/08/17	60
209	CAO VĂN B	N17-0252475	04/08/17	62
210	TRƯƠNG VĂN T	N16-0337511	07/08/17	61

TP.HCM, ngày 21 tháng 09 năm 2018

Khoa TDCN Hồ Hấp

  
ThS BS. Nguyễn Như Vinh  
A07-198

Xác nhận của BVĐHYD   
BỆNH VIỆN ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP.HCM  
PHÒNG  
KẾ HOẠCH TỔNG HỢP  
BS. Lê Quan Anh Tuấn  
A00-044

CM



**DANH SÁCH BỆNH NHÂN TẠI BỆNH VIỆN NGUYỄN TRÃI**

<b>DANH SÁCH BỆNH NHÂN</b>				
<b>STT</b>	<b>TÊN BỆNH NHÂN</b>	<b>SỐ HỒ SƠ</b>	<b>NGÀY KHÁM BỆNH</b>	<b>TUỔI</b>
1.	Phạm Trung K	ID 2502	02/06/16	55
2.	Phạm Đình D	ID 2503	02/06/16	70
3.	Nguyễn Ngọc D	ID 2504	02/06/16	74
4.	Trương Lê Đ	ID 2505	06/06/16	63
5.	Phan Cẩm Th	ID 2506	06/06/16	63
6.	Bùi Hào T	ID 2507	06/06/16	75
7.	Nguyễn Văn T	ID 2508	09/06/16	74
8.	Phạm Thị S	ID 2509	09/06/16	70
9.	Ngô Minh T	ID 2510	09/06/16	69
10.	Lê Văn D	ID 2511	13/06/16	72
11.	Hoàng Văn K	ID2512	13/06/16	72
12.	Trần Phúc H	ID2513	13/06/16	63
13.	Lê Thị H	ID2514	14/06/16	84
14.	Nguyễn Qu V	ID2515	14/06/16	66
15.	Lý Lâm Nhật Tr	ID2516	14/06/16	55
16.	Trương Thị L	ID2517	16/06/16	70
17.	Trương Thị H	ID2518	20/06/16	62
18.	Trần Công B	ID2519	20/06/16	74
19.	Nguyễn D	ID2520	20/06/16	60
20.	Lê Hoàng Th	ID2521	21/06/16	70
21.	Phan Thị Tr	ID2522	27/06/16	68
22.	Nguyễn Bảo H	ID2523	28/06/16	75
23.	Hồ Hải H	ID2524	28/06/16	80
24.	Dương Văn L	ID2525	28/06/16	81
25.	Nguyễn Minh T	ID2526	30/06/16	68
26.	Nguyễn Gia Kh	ID2527	30/06/16	77
27.	Lâm Thành P	ID2528	30/06/16	70
28.	Đoàn Quốc Th	ID 2529	30/06/16	69
29.	Tạ Công Đ	ID 2530	04/07/16	74

S  
BỆNH  
KẾ HO

30.	Phan Nguyễn Qu	ID 2531	04/07/16	81
31.	Lê Hữu Tr	ID 2532	04/07/16	79
32.	Phạm Văn L	ID 2533	07/07/16	83
33.	Trần Thảo M	ID 2534	07/07/16	60
34.	Lâm Thị Kim Qu	ID 2535	11/07/16	63
35.	Nguyễn Thị T	ID 2536	11/07/16	66
36.	Trương Trí T	ID 2537	11/07/16	55
37.	Đậu Bá D	ID 2538	12/07/16	75
38.	Nguyễn Anh Tr	ID 2539	12/07/16	72
39.	Trần Duy Ph	ID 2540	12/07/16	76
40.	Nguyễn Thị QNh	ID 2541	14/07/16	62
41.	HỒ Nhật N	ID 2542	14/07/16	74
42.	Trần Thị C	ID 2543	14/07/16	77
43.	Trần Xuân Đ	ID 2544	18/07/16	73
44.	Phạm Thị T	ID 2545	18/07/16	66
45.	Trần Phương Qu	ID 2546	18/07/16	80
46.	Lê Văn N	ID 2547	19/07/16	75
47.	Lê Cát L	ID 2548	19/07/16	55
48.	Nguyễn Hữu Đ	ID 2549	19/07/16	68
49.	Nguyễn Lưu H	ID 2550	19/07/16	81
50.	Nguyễn Văn M	ID2551	21/07/16	66
51.	Lê Nguyễn Th	ID 2552	21/07/16	59
52.	Lâm Thị Ngọc V	ID 2553	21/07/16	86
53.	Lê Thị T	ID 2554	25/07/16	70
54.	Nguyễn Thành T	ID 2555	25/07/16	68
55.	Nguyễn Bá H	ID 2556	25/07/16	80
56.	Trần Sang T	ID 2557	28/07/16	74
57.	Hồng Diệp T	ID 2558	28/07/16	74
58.	Huỳnh Ch	ID 2559	28/07/16	55
59.	Phạm Văn Q	ID 2560	01/08/16	66
60.	Trần Văn D	ID 2561	01/08/16	69
61.	Trần Thị Cẩm L	ID 2562	01/08/16	72
62.	Nguyễn Lê Khánh D	ID 2563	04/08/16	56

Y TẾ  
VIỆ  
PH  
CH

63.	Phạm Văn Th	ID 2564	04/08/16	76
64.	Đình Nhật D	ID 2565	04/08/16	55
65.	Trần Thị M	ID 2566	04/08/16	77
66.	Dương Hoàng L	ID 2567	08/08/16	72
67.	Phạm Thị Bích L	ID 2568	08/08/16	75
68.	Phạm Trường V	ID 2569	09/08/16	55
69.	Nguyễn Thành Q	ID 2570	09/08/16	68
70.	Đào Văn H	ID 2571	09/08/16	81
71.	Phạm Công T	ID 2572	10/08/16	66
72.	Phan Văn Đ	ID 2573	10/08/16	59
73.	Hoàng Linh V	ID 2574	10/08/16	86
74.	Nguyễn Thị V	ID 2575	10/08/16	70
75.	Trương Chí Th	ID 2576	10/08/16	68
76.	Trần Công Đ	ID 2577	11/08/16	55
77.	Phan Bảo H	ID 2578	11/08/16	68
78.	Nguyễn Thị H	ID 2579	15/08/16	76
79.	Nguyễn Thành N	ID 2580	15/08/16	81
80.	Phạm Văn Nh	ID 2581	15/08/16	68
81.	Trần Huy Th	ID 2582	15/08/16	60
82.	Bùi Quang Tr	ID 2583	18/08/16	74
83.	Phan Cao H	ID 2584	18/08/16	59
84.	Nguyễn Trọng Ng	ID 2585	18/08/16	55
85.	Thái Quang N	ID 2586	19/08/16	86
86.	Lê Văn C	ID 2587	19/08/16	66
87.	La Văn Đ	ID 2588	19/08/16	63
88.	Nguyễn Phú Q	ID 2589	25/08/16	76
89.	Nguyễn Văn H	ID 2590	12/09/16	74
90.	Lâm Tông C	ID 2591	15/09/16	68
91.	Vương Tấn P	ID 2592	15/09/16	74
92.	Đào Văn H	ID 2593	15/09/16	59
93.	Võ Văn L	ID 2594	17/09/2016	55
94.	Vũ Ngọc T	ID 2595	17/09/2016	86
95.	Phan Ngọc H	ID 2596	17/09/2016	66

P. HO  
NG  
DUNG  
TONG



96.	Huỳnh Văn T	ID 2597	24/09/2016	74
97.	Phan Đình D	ID 2598	26/09/2016	58
98.	Đình Hữu T	ID 2599	26/09/2016	68
99.	Phạm Tấn H	ID 2600	27/09/2016	76
100.	Nguyễn Đức Th	ID 2601	28/09/2016	81
101.	Hàn Tấn C	ID 2602	28/09/2016	68
102.	Huỳnh Hữu N	ID 2603	28/09/2016	60
103.	Nguyễn Thị Ngọc P	ID 2604	28/09/2016	69
104.	Nguyễn Huy M	ID 2605	28/09/2016	72
105.	Võ Văn T	ID 2606	29/09/2016	56
106.	Đặng Sơn H	ID 2607	29/09/2016	76
107.	Lý Thành Đ	ID 2608	3/10/2016	55
108.	Phạm Duy Ch	ID 2609	4/10/2016	77
109.	Nguyễn Văn M	ID2610	3/10/2016	55
110.	Đoàn Thị Ngọc L	ID2611	5/10/2016	68
111.	Huỳnh Văn T	ID2612	5/10/2016	81
112.	Đào Minh L	ID2613	5/10/2016	66
113.	Nguyễn Văn D	ID2614	6/10/2016	59
114.	Lưu Chí Th	ID2615	6/10/2016	86
115.	Nguyễn Ngọc C	ID2616	7/10/2016	70
116.	Nguyễn Hữu Kh	ID2617	7/10/2016	68
117.	Thái Tư T	ID2618	14/10/2016	55
118.	Nguyễn Thị Hồng Th	ID2619	15/10/2016	68
119.	Lê Thanh Nh	ID2621	17/10/2016	81
120.	Đoàn Văn D	ID2622	21/10/2016	66
121.	Lê Thị D	ID2623	21/10/2016	59
122.	Đoàn Ngọc T	ID2624	22/10/2016	86
123.	Nguyễn Hữu N	ID2625	24/10/2016	55
124.	Lại Văn T	ID2626	24/10/2016	68
125.	Trần hữu p	ID2627	25/10/2016	81
126.	Lại Minh H	ID2628	26/10/2016	66
127.	Nguyễn Văn H	ID2629	26/10/2016	59
128.	Nguyễn Minh D	ID2630	27/10/2016	86

PHI M  
ÊN T  
HQP

129.	Lê Minh B	ID2631	31/10/2016	70
130.	Trần Văn Ng	ID2632	1/11/2016	68
131.	Lê Văn D	ID2633	1/11/2016	55
132.	Đình Công M	ID2634	24/10/2016	59
133.	Võ Gia H	ID2635	26/10/2016	55
134.	Huỳnh Thị Minh N	ID2636	26/10/2016	68
135.	Phan Văn T	ID2637	26/10/2016	81
136.	Trần Hồng Ng	ID2638	28/10/2016	66
137.	Trương Thị Thanh H	ID2639	28/10/2016	59
138.	Lý Minh M	ID2640	31/10/2016	66
139.	Hoàng Văn M	ID2631	1/11/2016	59
140.	Lưu Chí H	ID2632	2/11/2016	86
141.	Đào Hữu Đ	ID2633	3/11/2016	70

Trưởng Khoa Hô Hấp

TPHCM, ngày 15 tháng 09 năm 2018

Xác nhận của BV NGUYỄN TRÃI

  
BS. CKII NGUYỄN THANH TRUNG

SỞ Y TẾ TP. HỒ CHÍ MINH  
BỆNH VIỆN NGUYỄN TRÃI  
PHÒNG  
KẾ HOẠCH TỔNG HỢP

  
BS. Nguyễn Thị Kim Anh

H  
A

HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG NCYSH

Số: *14*/ĐHYD-HĐĐĐ

V/v chấp thuận các vấn đề đạo đức NCYSH

TP Hồ Chí Minh, ngày 14 tháng 6 năm 2018

**CHẤP THUẬN (CHO PHÉP) CỦA HỘI ĐỒNG ĐẠO ĐỨC TRONG  
NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC ĐẠI HỌC Y DƯỢC TP HỒ CHÍ MINH**

Căn cứ quyết định số 1863/QĐ-BYT ngày 27 tháng 5 năm 2009 của Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế Tổ chức và hoạt động của Đại học Y Dược thành phố Hồ Chí Minh;

Căn cứ quyết định số 5129/QĐ-BYT ngày 19 tháng 12 năm 2002 của Bộ trưởng Bộ Y tế về việc ban hành Quy chế về tổ chức và hoạt động của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học;

Căn cứ Quyết định số 1238/QĐ-ĐHYD-TC ngày 18 tháng 5 năm 2016 của Hiệu trưởng Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh về việc thành lập Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu y sinh học;

Trên cơ sở xem xét của thường trực Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu y sinh học Đại học Y Dược ngày 14/6/2018;

Nay Hội đồng đạo đức **chấp thuận (cho phép)** về các khía cạnh đạo đức trong nghiên cứu đối với đề tài:

- Tên đề tài: *Nghiên cứu vai trò Matrix Metalloproteinase (MMP12) trong bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính ở người cao tuổi.*
- Mã số: 18247 - ĐHYD
- Chủ nhiệm đề tài: *Nguyễn Công Trung - Nghiên cứu sinh*
- Đơn vị chủ trì: *Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh*
- Địa điểm triển khai nghiên cứu: *Bệnh viện Đại học Y Dược Tp. Hồ Chí Minh.*
- Thời gian tiến hành nghiên cứu: *từ tháng 6/2018 đến tháng 6/2019*
- Phương thức xét duyệt: *Qui trình rút gọn.*

**Ngày chấp thuận (cho phép): Ngày 14/6/2018.**

**Lưu ý: HĐĐĐ có thể kiểm tra ngẫu nhiên trong thời gian tiến hành nghiên cứu**

TM. HỘI ĐỒNG  
P. CHỦ TỊCH HỘI ĐỒNG THƯỜNG TRỰC  
PHÓ HIỆU TRƯỞNG



PGS.TS. Đỗ Văn Dũng