

ỦY BAN NHÂN DÂN THÀNH PHỐ HÀ NỘI
TRƯỜNG CAO ĐẲNG Y TẾ HÀ NỘI



Giáo trình

*(Ban hành kèm theo Quyết định số: 1089 /QĐ-CDYTN ngày 18 tháng 11 năm 2021
của Trường Cao đẳng Y tế Hà Nội)*

MÔ ĐUN: HÓA SINH NÂNG CAO
NGÀNH: KỸ THUẬT XÉT NGHIỆM Y HỌC
TRÌNH ĐỘ: CAO ĐẲNG

Hà Nội , 2021

TUYÊN BỐ BẢN QUYỀN

Tài liệu này thuộc loại sách giáo trình nên các nguồn thông tin có thể được phép dùng nguyên bản hoặc trích dùng cho các mục đích về đào tạo và tham khảo.

Mọi mục đích khác mang tính lệch lạc hoặc sử dụng với mục đích kinh doanh thiếu lành mạnh sẽ bị nghiêm cấm.

LỜI GIỚI THIỆU

Hóa sinh nâng cao là mô đun chuyên ngành xét nghiệm được thực hiện vào học kỳ 2 năm học thứ 3 trong chương trình đào tạo nghề kỹ thuật xét nghiệm y học trình độ cao đẳng. Về tính chất của mô đun: là mô đun tự chọn, tích hợp lý thuyết và thực hành tại trường.

Giáo trình được biên soạn theo chương trình khung đã được phê duyệt cho sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học bao gồm 8 bài trong đó có 4 bài lý thuyết và 4 bài thực hành, mỗi bài có mục tiêu học tập và các nội dung thiết yếu. Trong đó, nội dung thể hiện được các yêu cầu: kiến thức cơ bản, chính xác khoa học, cập nhật được tiến bộ khoa học hiện tại và thực tiễn. Sách dùng để đào tạo sinh viên ngành cao đẳng xét nghiệm y học đồng thời cũng là tài liệu tham khảo tốt cho sinh viên các chuyên ngành khác quan tâm đến công tác xét nghiệm.

Các tác giả là những người có kinh nghiệm lâm sàng lâu năm cũng như kinh nghiệm giảng dạy, hy vọng rằng cuốn sách sẽ cung cấp những thông tin giá trị cho sinh viên nhằm giúp sinh viên có nền tảng kiến thức, kỹ năng cần thiết.

Các tác giả đã biên soạn cuốn giáo trình này với tinh thần trách nhiệm cao, song cũng không tránh khỏi những thiếu sót và cần bổ sung. Chúng tôi mong nhận được nhiều ý kiến đóng góp của độc giả và đồng nghiệp để cuốn giáo trình này càng hoàn thiện hơn.

Xin trân trọng cảm ơn!

....., ngày.....tháng.....năm.....

CÁC TÁC GIẢ

THAM GIA BIÊN SOẠN

1. Chủ biên

ThS. Nguyễn Thị Hà Giang

2. Tham gia biên soạn:

1.ThS. Nguyễn Thị Thom

2. Trần Văn Khôi

MỤC LỤC

CHƯƠNG TRÌNH MÔ ĐUN HÓA SINH NÂNG CAO	6
PHẦN LÝ THUYẾT	8
BÀI 1. RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA NƯỚC VÀ CHẤT ĐIỆN GIẢI.....	8
BÀI 2. MỘT SỐ DẤU ÁN CHỈ ĐIỂM UNG THU'	21
BÀI 3. MỘT SỐ DẤU ÁN XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG NHIỄM KHUẨN	44
BÀI 4. KHÍ MÁU VÀ THĂNG BẰNG ACID - BASE	49
PHẦN THỰC HÀNH.....	59
BÀI 5. THỰC HÀNH KỸ THUẬT PHÂN TÍCH CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI.....	59
BÀI 6. THỰC HÀNH ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ DẤU ÁN CHỈ ĐIỂM UNG THU'	62
BÀI 7. THỰC HÀNH ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ DẤU ÁN XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG NHIỄM KHUẨN.....	74
BÀI 8. THỰC HÀNH KỸ THUẬT PHÂN TÍCH KHÍ MÁU.....	78
TÀI LIỆU THAM KHẢO	81

CHƯƠNG TRÌNH MÔ ĐUN HÓA SINH NÂNG CAO

Mã mô đun: XN 15C

Thời gian thực hiện: 45 giờ

- Lý thuyết: 14 giờ
- Thực hành: 29 giờ
- Kiểm tra: 2 giờ

I. Vị trí, tính chất của mô đun

1. Vị trí: là mô đun chuyên ngành tự chọn trong Chương trình đào tạo ngành Kỹ thuật xét nghiệm y học trình độ cao đẳng

2. Tính chất: mô đun nhằm cung cấp cho sinh viên những kiến thức về vai trò của các xét nghiệm hoá sinh ứng dụng, những thay đổi của một số chỉ số hóa sinh liên quan trong một số bệnh: đái tháo đường, nhồi máu cơ tim, bệnh gan mật, bệnh thận, bệnh tụy, vận dụng các kiến thức đã học vào thực hành bệnh viện, thực tế tốt nghiệp sau này.

II. Mục tiêu mô đun

* Kiến thức

- Trình bày được nguyên tắc, ý nghĩa lâm sàng của một số xét nghiệm hóa sinh chuyên sâu.
- Giải thích được những thay đổi của một số chỉ số hóa sinh liên quan trong một số bệnh liên quan.

* Kỹ năng

- Thực hiện đúng quy trình kỹ thuật một số xét nghiệm hóa sinh cơ bản phục vụ chẩn đoán và theo dõi điều trị bệnh.

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

- Sinh viên tự chủ động đọc tài liệu trước khi đến lớp, nắm bắt các ý chính theo mục tiêu học tập, đặt ra các câu hỏi và tự trả lời, hoặc hỏi giáo viên khi học trên lớp.
- Tự chủ và độc lập trong thực hành xét nghiệm.

I. Nội dung mô đun

1. Nội dung tổng quát và phân bổ thời gian mô đun

STT	Nội dung	Số tiết			
		Tổng số	Lí thuyết	Thực hành/ bài tập	Kiểm tra
1	Rối loạn chuyển hóa nước và chất điện giải	2	2		

2	Một số dấu ấn chỉ điểm ung thư	5	5		
3	Một số dấu ấn xác định tình trạng nhiễm khuẩn	3	3		
4	Khí máu và thăng bằng acid- base	4	4		
	Kiểm tra	1			1
5	Thực hành kỹ thuật phân tích các chất điện giải	5		5	
6	Thực hành định lượng một số dấu ấn chỉ điểm ung thư	10		10	
7	Thực hành định lượng một số dấu ấn xác định tình trạng nhiễm khuẩn	10		10	
8	Thực hành kỹ thuật phân tích khí máu	4		4	
	Kiểm tra	1			1
	Tổng	45	14	29	2

2. Phương pháp đánh giá

- Kiến thức: kiểm tra nội dung đã học bằng bộ công cụ lượng giá.
- Kỹ năng: Kiểm tra thực hành tại phòng thực hành chuyên dụng, sử dụng thang điểm
- Năng lực tự chủ, trách nhiệm: đánh giá thông qua việc sinh viên thực hiện kỹ năng.
- Các kiến thức và kỹ năng trên sẽ được đánh giá qua các bài kiểm tra định kỳ dạng tích hợp và bài kiểm tra kết thúc. Điểm trung bình của các bài kiểm tra định kỳ và bài kiểm tra kết thúc phải đạt $\geq 4,0$ theo khung điểm 10.

Nội dung	Hệ số 1	Hệ số 2	Thi
Kiến thức	x		x
Kỹ năng		x	
Hình thức	Tự luận/trắc nghiệm/vấn đáp	Tự luận/trắc nghiệm/quy trình kỹ thuật	Thực hành
Số lượng	1	1	1
Trọng số	40%		60%

PHẦN LÝ THUYẾT

BÀI 1. RỐI LOẠN CHUYỂN HÓA NƯỚC VÀ CHẤT ĐIỆN GIẢI

MỤC TIÊU

** Kiến thức*

1. Trình bày được phân bố, chức năng sinh lý chính, cơ chế điều hòa hằng định nội môi của các chất điện giải Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+}
2. Trình bày các nguyên nhân, biểu hiện lâm sàng của các rối loạn điện giải Mg^{2+}

** Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

3. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
4. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Nước

Nước chiếm 50-60% trọng lượng cơ thể nam giới và 45-50% ở nữ giới (do tỉ lệ mô mỡ ở nữ lớn hơn mà mô mỡ chứa ít nước). Nước trong cơ thể có trong 2 khu vực chính: dịch trong tế bào (intracellular fluid-ICF) và dịch ngoài tế bào (extracellular fluid-ECF). ICF chiếm 66% tổng lượng nước toàn cơ thể, phần còn lại 33% ở ECF. Khoảng ngoài tế bào gồm dịch kẽ và dịch trong lòng mạch. Dịch kẽ bao quanh các tế bào, ngăn cách với ICF bởi màng tế bào. Thành mạch ngăn cách dịch kẽ với dịch trong lòng mạch.

Nước có thể di chuyển tự do qua màng. Tuy nhiên sự có mặt của các chất hoà tan, chủ yếu là chất điện giải, tạo áp lực thẩm thấu giữ nước lại trong khoang đó. Áp lực thẩm thấu là yếu tố chính quyết định sự phân bố nước giữa các khu vực/K là chất điện giải chính ở trong tế bào, Na^+ là chất điện giải chính ở ngoài tế bào. Sự thay đổi nồng độ của các chất hoà tan dẫn đến sự thay đổi sự phân bố nước giữa các khoang.

Áp lực thẩm thấu (ALTT) là sự đo lường số lượng các phân tử (phân tử hay ion) hoà tan trong một dung dịch. ALTT bình thường của huyết tương từ 275-295 mOsm/kg (miliosmole/kg). Thành phần chính tạo nên ALTT của huyết tương là Na^+ và CT. ALTT có vai trò giữ nước ở khoang mà nó chiếm đóng. Dung dịch có áp lực thẩm thấu cao hơn sẽ có nhiều phân tử hoà tan hơn và ít nước hơn trên một đơn vị thể tích so với dung dịch có ALTT thấp hơn. ALTT giảm thì nước sẽ di chuyển từ nơi có ALTT cao về nơi có ALTT thấp.

Sự thay đổi ALTT huyết tương ở mức nhỏ từ 1% đến 2% kích thích các cơ chế kiểm soát để thiết lập lại ALTT bình thường. Sự tăng ALTT huyết tương kích

thích các receptor thẩm thấu vùng dưới đồi, gây cảm giác khát và uống nước. Tuyến yên sau cũng bài tiết ADH (antidiuretic hormone) dưới kích thích của vùng dưới đồi. ADH tác động lên ống lượn xa và ống góp ở các nephron của thận làm tăng tái hấp thu nước ở thận. Kết quả là cơ chế kiểm soát này ngăn tất cả các thay đổi nhỏ hàm lượng nước trong cơ thể.

Cùng với Na^+ và Cl^- , nồng độ các chất hữu cơ phân tử nhỏ như glucose và ure cũng đóng góp vào áp lực thẩm thấu của huyết tương cho dù đóng góp nhỏ so với các chất điện giải. Một số công thức tính toán ALTT dựa trên nồng độ các chất này đã được đưa ra. Công thức hay sử dụng là:

$$\text{ALTT} = 2[\text{Na}] + [\text{glucose}] + [\text{ure}]$$

Trong đó nồng độ các chất được tính bằng mmol/L

Khoảng trống áp lực thẩm thấu = ALTT đo được – ALTT tính toán. Bình thường giá trị của nó dưới 10 mOsm/kg. Khoảng trống ALTT tăng chỉ điểm cho sự có mặt của các phân tử không được tính trong công thức, tạo ALTT trong huyết tương. Khoảng trống ALTT > 10 mOsm/kg thường do ngộ độc ethanol, isopropanol, ethylene glycol và có thể do nồng độ triglycerid hay protein cao. Sự tăng khoảng trống ALTT cảnh báo các bác sĩ cần nghi ngờ sự có mặt của các chất trên, đặc biệt do uống nhiều rượu. Khoảng trống ALTT > 30 mOsm/kg chỉ điểm cho sự có mặt của các chất tạo ALTT với lượng đủ lớn để tiên lượng nặng. Do vậy, tính toán khoảng trống ALTT là một công cụ phân tích hữu ích.

2. NATRI (Sodium)

Natri là cation chủ yếu của khu vực ngoại bào. Nồng độ Na^+ máu bình thường từ 136-145 mmol/L. Vai trò chính của Natri là duy trì sự phân bố nước và áp lực thẩm thấu bình thường ở huyết tương. Các vai trò khác của Natri bao gồm duy trì thăng bằng acid- base (bởi cơ chế trao đổi $\text{Na}^+ - \text{H}^+$ ở nephron) và tính kích thích thần kinh, cơ.

2.1. Điều hòa

Lượng Natri vào cơ thể qua thức ăn, đồ uống hàng ngày từ 100-200 mmol/ngày. Natri được hấp thu tích cực ở ruột non, tuy nhiên thận là cơ quan điều hòa hàm lượng natri trong cơ thể. Natri lọc qua cầu thận được tái hấp thu 70% ở ống lượn gần bằng cơ chế vận chuyển tích cực, phần tái hấp thu ở quai Henle và ống lượn xa được thực hiện dưới sự điều hòa của các hormon. Thận có khả năng tái hấp thu tới 99% natri khi cần thiết.

Điều hòa bài tiết Na^+ ở ống lượn xa chủ yếu dưới sự kiểm soát của aldosteron, hormon chuyển hóa muối nước của vỏ thượng thận. Aldosteron có tác dụng tăng tái hấp thu Na^+ và nước ở ống lượn xa. Để duy trì cân bằng điện giải, sự

tái hấp thu Na đi cùng với bài tiết K^+ và H. Sự bài tiết aldosteron lại chịu sự điều hòa của hệ thống renin-angiotensin.

Một cơ chế quan trọng khác duy trì cân bằng nước bình thường là tác dụng của ADH (Antidiuretic hormone). ADH là hormon của vòng dưới đồi, được dự trữ ở thùy sau tuyến yên. Tác dụng của ADH là tăng tính thấm của ống góp với nước, làm tăng tái hấp thu nước ở thận và cô đặc nước tiểu.

Yếu tố bài niệu tâm nhĩ (Atrial natriuretic peptide-ANP) là một hormon peptid do cơ tâm nhĩ sản xuất, có vai trò tăng bài tiết Na^* và nước ở thận bằng cách tăng mức lọc ở cầu thận và giảm tái hấp thu Na^* ở ống lượn gần.

2.2. Giảm Natri máu (Hyponatremia)

Khi nồng độ Na^* máu < 135 mmol/L được gọi là giảm Natri máu. Sự giảm này chỉ phản ánh tỷ lệ giữa Na^+ và thể tích huyết tương chứ không cho ta biết về hàm lượng Na trong cơ thể. Vì vậy Na^+ máu giảm có thể xảy ra với lượng Na^* của toàn cơ thể thấp, bình thường hoặc cao và có thể với thể tích dịch ngoại bào giảm, bình thường hoặc tăng.

Natri máu giảm có thể do các cơ chế khác nhau:

- Giảm Na^* do thiếu hụt natri (depletional): giảm natri máu do thiếu hụt là các trạng thái có sự thiếu hụt thực sự tổng lượng natri của toàn cơ thể.
- Giảm Na^+ máu do pha loãng (Dilutional) do tác động của thừa nước.

- Giảm Na^+ máu giả tạo (pseudohyponatremia): sai số do kỹ thuật xét nghiệm. Giảm natri máu do thiếu hụt có thể do nguyên nhân tại thận hay ngoài thận. Các nguyên nhân tại thận như dùng lợi tiểu hay chứng suy giảm aldosterone (hypoadosteronism). Các thuốc lợi tiểu ngăn tái hấp thu Na^* và Cl^- ở nephron, làm tăng bài tiết Na^* và nước. Chứng suy giảm aldosteron là sự suy giảm hệ thống renin-angiotensin- aldosteron do thiếu hụt aldosteron hay giảm tiết renin. Chứng suy giảm aldosteron tiên phát là sự thiếu hụt aldosteron do giảm tổng hợp ở vỏ thượng thận. Chứng suy giảm aldosteron thứ phát là do suy giảm bài tiết renin do tổn thương bộ máy cạnh cầu thận, dẫn đến không kích thích tổng hợp aldosteron một cách thích đáng. Thiếu hụt aldosteron làm giảm tái hấp thu natri gây mất natri và các anion theo nước tiểu. Bệnh Addison là bệnh suy giảm tuyến thượng thận do phá hủy mô thượng thận, phần lớn là sự phá hủy tự miễn. Bệnh này có sự suy giảm glucocorticoid và mineralocorticoid.

Natri còn bị mất qua đường dạ dày-ruột trong tiêu chảy hay nôn, mất qua da khi tổn thương da do bỏng nặng hay chấn thương.

Giảm natri máu do pha loãng là hậu quả của các tình trạng bệnh lý trong đó tỷ lệ nước/natri lớn hơn bình thường. Một nguyên nhân của giảm natri máu do pha

loãng là hội chứng bài tiết ADH không thích đáng (syndrome of inappropriate ADH-SIADH). ADH được bài tiết một lượng quá mức ngay cả khi áp lực thẩm thấu huyết tương bình thường và nhu cầu nước cho cơ thể đã thỏa mãn đầy đủ. SIADH thường do nhiều rối loạn khác nhau, đặc biệt là các khối u ác tính gây bài tiết ADH lạc chỗ, các rối loạn hệ thần kinh trung chấn thương sọ não làm tổn thương receptor cảm áp ở vùng dưới đồi.

Phù toàn thân xảy ra khi bệnh nhân có tăng đáng kể tổng lượng natri trong cơ thể. Các bệnh nhân này còn có rối loạn bài tiết nước dẫn đến tỷ lệ nước/natri lớn hơn bình thường gây hạ natri máu. Đây là giai đoạn cuối của suy tim, xơ gan và hội chứng thận hư.

Khi glucose máu tăng cao gây tăng tăng áp lực thẩm thấu làm di chuyển nước từ trong ra ngoài tế bào để thiết lập lại cân bằng áp lực thẩm thấu. Sự tăng lượng nước ở ECF làm giảm nồng độ natri: glucose máu cứ tăng mỗi 100mg/dL gây giảm Na huyết tương 1.6 mmol/L.

Giảm natri máu giả tạo (artifactual hay pseudohyponatremia) xảy ra khi protein hay triglycerid tăng cao trong máu. Protein hay triglycerid ở nồng độ cao sẽ thay thế một lượng nước đáng kể, vì natri tan trong nước nên nồng độ khi định lượng sẽ bị thấp nhưng thực ra thì hoàn toàn bình thường. Tuy nhiên triglycerid phải > 1500 mg/dL mới gây ra sự thay đổi đáng kể lượng nước. Tăng triglycerid máu trong đái tháo đường, hội chứng thận hư, một số thể xơ gan có thể gây giảm natri máu. Tăng protein máu trong u tủy hay các rối loạn protein máu khác hiếm khi gây giảm natri máu.

Giảm natri máu hiếm khi có triệu chứng lâm sàng khi nồng độ > 125 mmol/L. Khi Na^{*} máu giảm làm nước ở khu vực ngoại bào đi vào trong tế bào để cân bằng áp lực thẩm thấu giữa hai khu vực. Các triệu chứng lâm sàng thường là các rối loạn chức năng thần kinh do phù não. Nhìn chung, khi nồng độ Na^{*} huyết tương < 125 mmol/L có biểu hiện nôn, mệt mỏi. Nồng độ Na⁺ từ 110-120 mmol/L thường có biểu hiện đau đầu, ngủ lịm, mất trí giác. Hôn mê gặp khi nồng độ Na^{*} < 110 mmol/L. Mức độ trầm trọng của các triệu chứng thần kinh liên quan trực tiếp đến tốc độ giảm Na^{*} và áp lực thẩm thấu. Có thể yếu cơ do ảnh hưởng tới quá trình khử cực.

Bảng 1. Các nguyên nhân gây giảm Natri máu

Do thiếu hụt	Mất qua thận	Lợi tiểu Suy giảm aldosterol: tiên phát, thứ phát, bệnh Addison
---------------------	---------------------	---

	Mất không qua thận	Bệnh đường tiêu hóa: nôn, tiêu chảy Da: bỏng nặng, chấn thương
Pha loãng	Hội chứng bài tiết ADH không thích đáng	
	Phù toàn thân	Suy tim, sung huyết Xơ gan Hội chứng thận hư
	Tăng glucose máu	
Giả tạo		Tăng lipid máu Tăng protein máu

2.3. Tăng Natri máu (hypernatremia)

Tăng Na^+ máu xảy ra khi nồng độ Na^+ huyết tương $> 145 \text{ mmol/L}$. Tăng Na^+ máu có thể do mất nước hoặc thừa Na.

Tăng natri máu thường hay gặp do mất nước nhiều hơn mất natri do nôn, tiêu chảy, ra mồ hôi nhiều trong sốt hay luyện tập thể thao.

Trong đái tháo nhạt, thiếu hụt ADH tuyệt đối hay tương đối đều dẫn đến không thể tái hấp thu nước tại thận một cách thích đáng, gây đái nhiều, vì mất nước, ALTT huyết tương tăng, kích thích trung tâm khát gây uống nước. Tuy lượng thích đáng được bổ nhưng vẫn tăng ALTT và tăng natri máu. Đái tháo nhạt có thể do tổn thương vùng dưới đồi hay tổn thương thận. Tổn thương vùng dưới đồi do tổn thương receptor cảm áp gây giảm giải phóng ADH, còn đái tháo nhạt do thận là do tổn thương thận, sự đáp ứng của thận với ADH không thích đáng.

Tăng natri máu do đưa vào quá nhiều có thể gặp khi ăn hay truyền các dung dịch ưu trương như NaCl hay NaHCO_3 .

Chứng cường aldosteron tiên phát (hội chứng Cohn) gây tăng sản xuất aldosteron, làm tăng tái hấp thu natri và bài tiết kali.

Bảng 2. Các nguyên nhân gây tăng Natri máu

Mất nước	Qua đường tiêu hóa	Nôn, tiêu chảy
	Ra mồ hôi nhiều	Sốt, thể thao
	Đái tháo nhạt	Tổn thương vùng dưới đồi Tổn thương thận
Thừa natri	Ăn nhiều, tiêm tuyền	
	Cường aldosteron	Tiên phát (hội chứng)

		Cohn) Thứ phát
--	--	-------------------

Các triệu chứng của tăng Na^* máu chủ yếu là các rối loạn thần kinh do sự di chuyển của nước từ tế bào ra huyết tương. Các triệu chứng có thể là ngủ lịm, yếu cơ hay trầm trọng hơn là hôn mê, tử vong. Mức độ trầm trọng của bệnh tùy thuộc vào tốc độ và mức độ tăng Na và ALTT của huyết tương.

3. KALI (POTASSIUM)

Kali là cation chủ yếu trong tế bào. 98% lượng kali của cơ thể ở trong tế bào, còn 2% ở dịch ngoại bào, Nồng độ K^- ngoại bào là 3,5-5 mmol/L, trong khi trong tế bào là 150 mmol/L. Bơm $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ATPase thực hiện bơm Na^* ra ngoài và K^+ vào trong tế bào để duy trì sự chênh lệch nồng độ này.

Kali có hai chức năng sinh lý chính. Kali đóng vai trò qua trọng trong chuyển hóa tế bào bằng cách tham gia điều hòa nhiều quá trình của tế bào. Khi mất cân bằng kali xảy ra, nhiều chức năng của tế bào bị ảnh hưởng. Kali còn đóng vai trò quan trọng trong sự kích thích thần kinh cơ. Tỷ lệ K^+ trong và ngoài tế bào là yếu tố chính để xác định điện thế nghỉ của màng. Điện thế nghỉ của màng cho phép sự sinh điện thế hoạt động cần thiết cho việc dẫn truyền thần kinh và chức năng bình thường của cơ.

3.1. Điều hòa

Cân bằng Kali được duy trì chính bởi thận. Bình thường lượng Kali trong thức ăn nước uống là 80-90 mmol/ngày. Kali được hấp thụ ở ruột non, được lọc qua cầu thận. Lượng kali được lọc qua cầu thận hầu hết được tái hấp thu ở ống lượn gần. Như đã nói ở trên, sự tái hấp thu Na^- ở ống lượn gần phải cân bằng với sự bài tiết một cation khác là K^+ hoặc H^+ . Vì vậy, lượng Kali bài tiết trong nước tiểu một phần phụ thuộc vào lượng natri được tái hấp thu và nồng độ aldosteron trong máu. Khả năng giữ Kali của thận kém hiệu quả hơn Natri. Ngay cả khi thiếu hụt kali, thận vẫn tiếp tục bài tiết một lượng nhỏ Kali. Nồng độ kali máu cao có thể kích thích trực tiếp sự sản xuất Aldosteron không qua hệ thống renin-angiotensin. Tác dụng của Aldosteron là tăng bài tiết kali niệu để duy trì nồng độ Kali máu bình thường.

3.2. Giảm kali máu (Hypokalemia)

Khi nồng độ kali máu $<3,5$ mmol/L là giảm kali máu. Các nguyên nhân của giảm kali máu được trình bày ở bảng dưới đây.

Bảng 3. Các nguyên nhân gây giảm kali máu

Tăng hấp thu kali vào trong tế bào	Thừa insulin
------------------------------------	--------------

	Nhiễm kiềm
Mất kali qua thận	Cường aldosteron (tiên phát, thứ phát) Lợi tiểu Dùng cam thảo nhiều, thường xuyên
Mất kali qua tiêu hóa	Nôn Tiêu chảy Lạm dụng thuốc nhuận tràng

Sự chuyển kali vào trong tế bào cơ xương và gan một phần phụ thuộc insulin. Sự bài tiết quá mức insulin có thể xảy ra với chế độ ăn giàu carbohydrat, đặc biệt khi dinh dưỡng theo đường tĩnh mạch, gây giảm kali máu tạm thời. Trong nhiễm kiềm, H⁺ di chuyển từ trong ra ngoài tế bào còn kali di chuyển từ ngoài vào trong tế bào để duy trì cân bằng cation, dẫn đến giảm kali máu. Người ta ước tính nồng độ kali máu giảm 0,6 mmol/L đối với mỗi sự tăng 0,1 đơn vị pH trong nhiễm kiềm.

Cường aldosteron tiên phát (hội chứng Cohn) thường do khối u của tuyến thượng thận, làm tăng sản xuất aldosteron quá mức. aldosteron làm tăng bài tiết kali ở thận gây giảm kali máu.

Các trạng thái phù trong xơ gan và thận hư là do giảm thể tích huyết tương, gây kích thích tổ chức cạnh cầu thận tiết renin-angiotensin dẫn đến cường aldosteron thứ phát.

Các thuốc lợi tiểu tác động lên ống lượn gần làm tăng dòng chảy qua ống thận bằng cách ức chế tái hấp thu NaCl. Sự bài tiết kali tăng cường bởi sự tăng tốc độ của dòng chảy này.

Cam thảo chứa glycyrrhizic, có tác động lên ống thận tương tự như aldosteron.

Giảm kali máu thường gặp ở các bệnh nhân bị nôn hay hút dạ dày do mất kali qua chất nôn. Tiêu chảy hay lạm dụng thuốc nhuận tràng làm tăng 1 mất kali qua phân.

Các triệu chứng của giảm kali máu là do tác động của giảm kali trên cơ, chức năng dẫn truyền cơ tim. Kali giảm gây tăng điện thế nghỉ của màng, làm giảm kích thích của cơ gây yếu cơ và liệt. Các triệu chứng của yếu cơ như chuột rút, liệt nhẹ, co cứng cơ thường xuất hiện khi kali huyết tương dưới 2,5 mmol/L. Tuy nhiên, sự xuất hiện các triệu chứng còn phụ thuộc vào các yếu tố như nồng độ calci, pH và tốc độ giảm kali máu. Trong trường hợp nặng có thể dẫn đến tử vong do suy hô hấp, giảm kali máu còn làm đảo lộn chức năng của thận, gây đa niệu.

3.3. Tăng kali máu (Hyperkalemia)

Tăng kali máu xảy ra khi nồng độ K⁺ huyết tương trên 5 mmol/L.

Bảng 4. Các nguyên nhân gây tăng kali máu

Chế độ ăn nhiều kali	Hiếm khi gây tăng kali máu trừ khi có suy thận kèm theo
Tăng phá hủy tế bào	Tổn thương mô do chấn thương, phẫu thuật
Giảm hấp thu kali vào tế bào	Nhiễm acid Thiếu hụt insulin
Giảm bài tiết ở thận	Suy thận Giảm tiết aldosteron
Tăng kali máu giả tạo	Chứng tăng bạch cầu Chứng tăng tiểu cầu Huyết tán

Trong nhiễm acid, H^+ di chuyển vào trong tế bào để làm tăng pH máu, đổi lại K^+ sẽ đi ra, cứ giảm 0,1 đơn vị pH sẽ gây tăng 0,6 mmol/L K^+ . Insulin làm tăng vận chuyển kali vào cơ và gan nên thiếu hụt insulin làm tăng kali máu.

Suy thận cấp là nguyên nhân chính gây tăng K^* máu vì con đường đào thải kali có ý nghĩa nhất là thận. Suy thận mạn hiếm khi gây tăng kali máu có ý nghĩa trừ khi mức lọc cầu thận nhỏ hơn 10-20 ml/phút. Trong suy thận mạn, cơ thể tìm cách thích ứng bằng cơ chế ngoài thận để ngăn ngừa tăng kali máu.

Bình thường kali huyết thanh cao hơn kali huyết tương từ 0,2-0,3 mmol/L do quá trình đông máu bình thường. Khi sự khác biệt lớn hơn là tăng kali máu giả tạo, kali máu tăng giả tạo do sự giải phóng kali từ hồng cầu, bạch cầu hay tiểu cầu trong quá trình đông máu hoặc do huyết tán; thường gặp khi bạch cầu $> 100.000/mm^3$.

Triệu chứng của tăng Kali máu là yếu cơ, bất thường dẫn truyền ở tim do kai tăng gây giảm điện thế nghỉ ở màng tế bào. Kali máu tăng trên 7,0 mmol/L là cấp cứu y khoa. Kali máu tăng tác động trầm trọng trên chức năng tim, có thể gây ngừng tim.

4. CLO (CHLORIDE)

Clo là anion chủ yếu ở ngoài tế bào. Nồng độ Cl^- bình thường từ 99-109 mmol/L. Trừ một số ngoại lệ, chuyển hóa bình thường của Cl^- liên quan chặt chẽ với Na^* . Vì liên quan với natri, chức năng chính của Cl^- là duy trì cân bằng thể dịch và ALTT của thể dịch. Cl^- thường thay đổi tỷ lệ thuận với natri cho mỗi sự thay đổi hàm lượng nước của cơ thể. Sự thay đổi hàm lượng của Cl^- không cân xứng với Na thường do rối loạn chức năng thăng bằng acid-base của cơ thể. Cl^- còn đóng vai trò quan trọng trong cân bằng cation-anion bình thường (xem phần dịch chuyển của Cl^- trong chương vận chuyển khí).

Lượng Clo trung bình trong chế độ ăn khoảng 70-200 mmol/ngày dưới dạng muối natri hoặc kali. Clo được hấp thu ở ruột non. Sự điều hòa nồng độ clo có liên quan với sự tái hấp thu Na^+ ở ống lượn gần và quai Henle.

4.1. Giảm clo máu (Hypochloremia)

Khi nồng độ Cl^- huyết tương $< 99 \text{ mmol/L}$ gọi là giảm clo máu.

Bảng 5. Các nguyên nhân gây giảm clo máu

Mất qua đường tiêu hóa	Nôn kéo dài Hút dịch dạ dày
Mất qua da	Bông
Mất qua thận	Lợi tiểu Nhiễm kiềm chuyển hóa

Bình thường, sự mất clo qua đường dạ dày ruột không đáng kể. Tuy nhiên nôn nhiều kéo dài và hút dạ dày có thể gây giảm clo máu vì dịch dạ dày chứa HCl. Sử dụng thuốc lợi tiểu làm tăng bài tiết natri sẽ kèm theo tăng bài tiết clo. Trong nhiễm kiềm chuyển hóa, HCO_3^- tăng cao, để bù lại sự tích lũy điện tích âm do gia tăng bicarbonat, thận tăng bài tiết clo gây giảm clo máu.

4.2. Tăng clo máu (Hyperchloremia)

Khi nồng độ Cl^- huyết tương $> 109 \text{ mmol/L}$ gọi là tăng clo máu.

Bảng 6. Nguyên nhân gây tăng clo máu

Mất nước	
Nhiễm acid ống thận	
Nhiễm acid chuyển hóa	Tiêu chảy kéo dài Nhiễm độc salisilat

Thường thì những trạng thái gây tăng natri máu cũng thường kéo theo tăng clo máu. Tuy nhiên, trong nhiễm acid chuyển hóa, do nồng độ bicarbonat giảm, để duy trì nồng độ anion bình thường Cl^- được giữ lại dẫn đến tăng cho máu trong khi natri máu bình thường.

4.3. Nhận định và giải thích kết quả

Nồng độ Clo trong máu bình thường ở mức 90 - 110 mmol/l. Clo là một tồn tại chủ yếu ở dịch ngoại bào, cùng với Natri duy trì tình trạng trung hòa về điện tích của tế bào.

Nồng độ Clo trong máu tăng trong các trường hợp toan chuyển hóa kết hợp với ỉa chảy kéo dài gây mất natri bicarbonat, bệnh lý ống thận, kiềm hô hấp, hội chứng Cushing, suy tim, suy thận cấp, thiếu máu, đái tháo nhạt, ỉa chảy, mất nước nặng,... Clo trong máu giảm trong trường hợp nôn, bông, mất nhiều mồ hôi, hút dịch dạ

dày, đái tháo đường, nhiễm khuẩn cấp, suy thận mạn, dùng thuốc lợi niệu, bệnh Addison, suy vỏ thượng thận,...

5. KHOẢNG TRỐNG ANION (ANION GAP)

Trong cơ thể, các chất điện giải luôn ở trạng thái trung hòa về điện. Có nghĩa là tổng điện tích các cation bằng với tổng điện tích các anion. Tuy nhiên, sự định lượng các chất điện giải thường làm chủ yếu là Na^+ , K^+ , Cl^- , HCO_3^- . Sự khác biệt giữa các cation và anion được gọi là khoảng trống anion. Có hai công thức tính khoảng trống anion:

$$\text{Na}^+ - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-) = 8-16 \text{ mmol/L}$$

$$(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Cl}^- + \text{HCO}_3^-) = 12-20 \text{ mmol/L}$$

Vì kali là cation chủ yếu trong tế bào, nồng độ của kali ngoài tế bào nhỏ nên công thức thứ hai dùng ít hơn. Giá trị 8-16 mmol/L là do sự đóng góp của các anion không được xác định như protein, sulfat, phosphat và acid hữu cơ. Trừ trường hợp sai số do xét nghiệm, sự thay đổi khoảng trống anion phản ánh sự thay đổi các anion hay cation không được đo lường. Sự tính toán khoảng trống anion còn là một cách thức hữu ích mà không tốn kém trong kiểm tra chất lượng xét nghiệm, thường được nhiều máy tự động phân tích điện giải tính toán.

Giảm khoảng trống anion không có nghĩa nhiều như tăng khoảng trống anion. Sự tăng kali máu, tăng calci máu hay tăng magie máu gây giảm khoảng trống anion hiếm khi gặp vì sự tăng các anion này đến mức độ cao như vậy là giới hạn nguy hiểm cho sự sống.

Giảm khoảng trống anion do giảm albumin máu là nguyên nhân hay gặp nhất. Sự giảm anion protein phải được bù lại bằng cách tăng các anion được đo lường.

Bảng 7. Các nguyên nhân gây tăng khoảng trống anion

Giảm các cation không được định lượng (Ca^{++} , Mg^{++} , K^+)	Hiếm gặp trên lâm sàng vì nồng độ cation này thấp hơn nhiều so với Na^+
Tăng các anion không được định lượng	Tăng ure máu (phosphat, sulfat) Nhiễm acid lactic Nhiễm thể ceton Ngộ độc: salicylate, methanol, ethylenglycol Kháng sinh liều cao
Sai số xét nghiệm	Tăng natri Giảm clo hoặc bicarbonat

Bảng 8. Các nguyên nhân gây giảm khoảng trống anion

Tăng các cation không được đo lường	Ca ⁺⁺ , Mg ⁺⁺ , K ⁺ Paraprotein
Giảm các anion không được đo lường	Giảm albumin máu
Sai số xét nghiệm	Giảm natri Tăng clo hoặc bicarbonat

Điện giải niệu

Việc đo lường các chất điện giải trong nước tiểu ít có giá trị chẩn đoán vì rất nhiều yếu tố ảnh hưởng đến sự bài tiết điện giải niệu. Các biến thiên như chế độ ăn, tình trạng nước, huyết động học, tư thế đứng, cân bằng acid-base, các thuốc, tình trạng bệnh lý đều là các yếu tố ảnh hưởng đến nồng độ các chất điện giải trong nước tiểu.

6. MAGIE

Magie là ion dương (cation) phổ biến thứ hai trong tế bào. Khoảng 31% magie của toàn cơ thể ở khu vực trong tế bào, 67% ở xương, chỉ khoảng 1-2% có trong huyết tương với nồng độ từ 1,5-2,5 mEq/L (0,75-0,96 mmol/L). Khoảng 35% magie huyết thanh gắn với protein, phần còn lại ở dạng tự do hoặc tạo phức với các phân tử trọng lượng thấp. Magie có nhiều chức năng trong cơ thể. Magie trong tế bào đóng vai trò quan trọng trong các hoạt động sinh lý tế bào, là chất cộng tác của nhiều enzym liên quan đến vận chuyển, dự trữ và sử dụng năng lượng. Các phản ứng có sự tham gia của ATP được hoạt hóa bởi magie. Magie còn đóng vai trò quan trọng trong chuyển hóa carbohydrat, chất béo, acid nucleic, protein.

Chế độ ăn bình thường hằng ngày cung cấp khoảng 25 mEq magie, cao hơn một chút so với nhu cầu hằng ngày. Nhiều yếu tố điều hòa chuyển hóa magie vẫn chưa được biết. Thận giữ lại magie khi thiếu hụt magie. Bài tiết magie qua thận được cho là do aldosteron kiểm soát theo cơ chế tương tự như với kali.

6.1. Giảm magie máu

Giảm magie máu khi nồng độ magie dưới 0,75 mmol/L. Triệu chứng của giảm magie máu thường chỉ xuất hiện khi magie máu dưới 0,5 mmol/L.

Bảng 9. Các nguyên nhân gây giảm magie máu

Giảm trong chế độ ăn hoặc hấp thu ở ruột	Suy dinh dưỡng Hội chứng kém hấp thu Tiêu chảy Nghiện rượu
Mất qua thận quá mức	Lợi tiểu

	Cường aldosteron Cường cận giáp tiên phát
--	--

Rất khó có thể gây giảm magie máu bởi hạn chế một mình magie trong chế độ ăn. Tuy nhiên kém dinh dưỡng kéo dài hoặc truyền dịch tĩnh mạch không có magie có thể dẫn tới giảm magie máu. Thiếu hụt magie tương đối hay gặp ở bệnh nhân nằm viện. Trong hội chứng kém hấp thu, magie được bài tiết trong phân dưới dạng muối xà phòng. Tiêu chảy có thể gây mất magie qua đường ruột. Nghiện rượu là một nguyên nhân hay gặp khác gây giảm magie máu do thường xuyên tiêu thụ thức ăn không đủ magie.

Lợi tiểu làm mất hàng loạt magie qua thận. Mất magie qua thận còn xảy ra do kết quả của sản xuất quá nhiều aldosteron hoặc trong cường cận giáp sự tăng tiết PTH ức chế hấp thu magie ở ống thận.

Các triệu chứng của giảm magie máu bao gồm các biểu hiện tâm thần và thần kinh như trầm cảm, lú lẫn, ảo giác, co giật, yếu cơ với dấu hiệu tetany. Các biểu hiện tim mạch của thiếu hụt magie rất quan trọng về lâm sàng vì nhịp tim không đều trầm trọng có thể xảy ra. Thiếu hụt magie mạn tính trầm trọng có thể liên quan đến vữa xơ động mạch và rối loạn lipid máu. Các bằng chứng còn gợi ý rằng thiếu hụt magie liên quan đến các bất thường mạch khác như thiếu máu tạm thời cơ tim hay nhồi máu cơ tim. Tầm quan trọng của magie trong dự phòng và điều trị các bệnh tim mạch càng ngày càng tăng, do đó nhu cầu định lượng magie trong phòng xét nghiệm cũng tăng cao. Điều trị bao gồm chỉ định muối magie như magie sulfat. Giảm magie có thể ngăn ngừa tác dụng của PTH trên xương, gây ra giảm đồng thời cả calci máu. Nếu cả calci máu giảm, cần bổ sung cả calci để điều trị.

6.2. Tăng magie máu

Tăng magie máu xảy ra khi nồng độ magie huyết thanh trên 1,25 mmol/L mặc dù các triệu chứng thường chỉ xuất hiện khi magie máu trên 2 mmol/L.

Bảng 10. Các nguyên nhân gây tăng magie máu.

Suy thận	
Nhiễm độc magie	Kháng acid Sữa có magie

Nguyên nhân hay gặp nhất của magie máu tăng là suy thận. Nhiễm độc magie có thể xảy ra do tiêu hóa một trong nhiều sản phẩm kháng acid thương mại chứa muối magie hoặc tiêu thụ sữa có nhiều magie, thuốc tây.

Các triệu chứng của tăng magie máu do tác dụng độc của magie trên hệ thần kinh trung ương và chức năng tim mạch. Nồng độ magie từ 2,5-3,5 mmol/L gây ngủ gà ngủ gật, ức chế trung tâm hô hấp và hôn mê có thể xảy ra ở nồng độ cao 5-

7,5 mmol/L. Ngừng tim xảy ra khi nồng độ magie từ 7,5-10 mmol/L. Tăng nồng độ magie ức chế giải phóng acetylcholin và ức chế dẫn truyền thần kinh ở bản vận động thần kinh cơ. Ngộ độc magie có thể điều trị bằng lợi tiểu và cải thiện chức năng thận.

LUỢNG GIÁ

1. Trình bày phân bố, chức năng sinh lý chính, cơ chế điều hòa hằng định nội môi của các chất điện giải Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} ?
2. Trình bày các nguyên nhân, biểu hiện lâm sàng của các rối loạn điện giải?

BÀI 2. MỘT SỐ DẤU ẤN CHỈ ĐIỂM UNG THƯ

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được nguyên lý của các dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư
2. Trình bày được nguồn gốc, vai trò của các dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư thường gặp

* Kỹ năng

3. Thực hiện được quy trình kỹ thuật định lượng các dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư thường gặp

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

4. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Lịch sử phát hiện các dấu ấn ung thư

Dấu ấn ung thư đầu tiên là protein Bence Jones (1846) được phát hiện bằng cách kết tủa protein trong nước tiểu bằng cách đun sôi trong môi trường acid. Protein Bence Jones được dùng để chẩn đoán đa u tủy. Hơn 100 năm sau, Porter, Edelman và Poulik đã nhận giải Nobel nhờ công trình xác định protein Bence Jones là chuỗi nhẹ của kháng thể đơn dòng được bài tiết bởi tương bào. Protein này thường xuất hiện với vết sắc, gọn ở vùng globulin khi điện di protein huyết thanh. Việc chẩn đoán đa u tủy thường căn cứ vào kết quả phân tích này cùng với sự tăng nồng độ kháng thể đơn dòng trong huyết thanh. Bảng 2 đã tóm tắt lịch sử phát triển các dấu ấn ung thư trong đó protein Bence Jones được cho là điểm mốc quan trọng của giai đoạn phát triển đầu tiên. Giai đoạn thứ 2 được tính từ 1928-1963 với việc phát hiện ra hormon, enzym, isoenzym và các protein khác ứng dụng trong chẩn đoán ung thư, khởi đầu việc ứng dụng phân tích nhiễm sắc thể của tế bào khối u. Trong một số trường hợp, các dấu ấn đó được sử dụng một cách hiệu quả trong việc chẩn đoán các khối u riêng biệt. Song ứng dụng các dấu ấn ung thư trong việc theo dõi bệnh nhân chỉ được bắt đầu khi bước sang giai đoạn thứ 3 với việc phát hiện ra alpha fetoprotein (AFP) năm 1963 và carcinoembryonic antigen (CEA) năm 1965, Việc biểu hiện những dấu ấn ung thư trên trong quá trình phát triển của bào thai và khối u đã tạo nên một thuật ngữ khoa học là dấu ấn phát triển ung thư (oncodevelopmental markers). Giai đoạn thứ 4 bắt đầu từ 1975 với sự phát hiện ra kháng thể đơn dòng và ứng dụng để phát hiện các kháng nguyên ung thư bào thai

và các kháng nguyên nguồn gốc từ các dòng tế bào ung thư. Các kháng nguyên có bản chất là carbohydrat như CA 125, CA 15-3 và CA 27.29. Các tiến bộ về di truyền phân tử sử dụng các đầu dò phân tử và kháng thể đơn dòng, kể cả các thành tựu nghiên cứu trong lĩnh vực gen ung thư, gen áp chế và các quan gen liên sửa chữa DNA đã mở ra một kỷ nguyên mới, ứng dụng các dấu ấn ung thư ở mức độ phân đến quá trình tử. Các dấu ấn này là công cụ chẩn đoán hữu hiệu ở mức độ tế bào. Ví dụ: gen ras đột biến có thể được phát hiện ở các mẫu DNA của tế bào niêm mạc ruột bong ra ở trong phân ứng dụng trong chẩn đoán ung thư đại trực tràng. Việc phát hiện ra các gen nhạy cảm trong ung thư ví như BRCA 1 và BRCA 2 đã mở ra triển vọng sàng lọc các thể ung thư ví có tính chất gia đình trong các cá thể có nguy cơ cao.

Ngay từ đầu thế kỷ 21, các kỹ thuật và công nghệ mới đã được áp dụng để phát hiện và ứng dụng các dấu ấn ung thư mới. Trong số những công nghệ đó phải kể đến công nghệ genomics và proteomics với các kỹ thuật hiện đại như kỹ thuật phân tích cDNA, microarray, tissue microarray, sắc ký phối phổ... đã tạo nên những công cụ hữu hiệu phục vụ nghiên cứu và chẩn đoán. Thêm vào đó, việc phát triển ứng dụng công nghệ tin y sinh đã tạo nên một bước đột phá quan trọng trong việc phân tích các số liệu thu được phục vụ chẩn đoán, tiên lượng, phòng bệnh và điều trị.

2. Ứng dụng lâm sàng của các dấu ấn ung thư

Sự xuất hiện hoặc sự thay đổi nồng độ các dấu ấn ung thư trong máu hoặc các dịch sinh học của cơ thể phụ thuộc vào các yếu tố sau:

- Số lượng tế bào ung thư sản xuất dấu ấn ung thư có nghĩa là phụ thuộc khối ung thư, di căn và giai đoạn ung thư.
- Tốc độ tổng hợp dấu ấn ung thư.
- Tốc độ giải phóng dấu ấn ung thư từ tế bào vào các dịch.
- Mức độ cung cấp máu (tuần hoàn) ở khối u, nếu mức độ tuần hoàn ở khối u kém thì khả năng vào máu của dấu ấn ung thư sẽ chậm.
- Mức độ hủy hoại mô, tế bào của ung thư.

Tốc độ thoái hóa, phân hủy của dấu ấn ung thư (gặp khi có rối loạn đào thải dấu ấn ung thư như suy thận, suy gan... sẽ làm tăng nồng độ dấu ấn ung thư).

2.1. Phát hiện sớm ung thư ở đối tượng có nguy cơ cao (sàng lọc ung thư)

Ở những người có yếu tố ung thư gia đình hoặc người có nguy cơ ung thư cao cần được làm các dấu ấn ung thư định kỳ để phát hiện sớm, ví dụ:

- Xét nghiệm AFP ở bệnh nhân viêm gan B, xơ gan để sớm phát hiện ung thư gan.
- Xét nghiệm PSA ở nam giới >50 tuổi để phát hiện sớm ung thư tuyến tiền liệt.
- Xét nghiệm CEA, CA 15-3 ở nữ giới >55 tuổi để phát hiện sớm ung thư vú.
- Xét nghiệm Calcitonin ở người có yếu tố gia đình để phát hiện sớm ung thư tuyến giáp thể tủy.

2.2. Góp phần chẩn đoán ung thư

Cũng giống như hầu hết các xét nghiệm hóa sinh khác, các dấu ấn ung thư chỉ góp phần vào chẩn đoán ung thư. Các bác sĩ lâm sàng cần căn cứ vào nhiều yếu tố như: triệu chứng lâm sàng, các kết quả về chẩn đoán hình ảnh, giải phẫu bệnh,... và dấu ấn ung thư để chẩn đoán.

2.3. Tiên lượng ung thư

Một số loại ung thư có liên quan giữa nồng độ các dấu ấn ung thư và sự tiến triển của bệnh. Nói chung khi nồng độ dấu ấn ung thư rất cao thường là ung thư tiến triển và tiên lượng xấu và ngược lại khi nồng độ dấu ấn ung thư tăng nhẹ thì tiên lượng bệnh tốt hơn và khả năng sống của bệnh nhân dài hơn.

2.4. Theo dõi điều trị

Nếu dấu ấn ung thư của loại ung thư nào đó có nồng độ trong máu trước khi phẫu thuật rất cao và giảm mạnh xuống mức bình thường sau phẫu thuật là một chỉ số quan trọng đánh giá hiệu quả của phẫu thuật thành công. Nếu nồng độ dấu ấn ung thư giảm không đáng kể chứng tỏ phẫu thuật chưa triệt để hoặc đã có di căn ung thư.

Nếu dấu ấn ung thư không giảm về mức bình thường sau điều trị hóa chất chứng tỏ liệu pháp điều trị đó không hiệu quả.

Thời gian xét nghiệm dấu ấn ung thư trong theo dõi điều trị rất quan trọng và phụ thuộc vào thời gian bán hủy sinh học của các dấu ấn ung thư. Ví dụ, dựa vào nồng độ dấu ấn ung thư trước một đợt điều trị và thời gian bán hủy của nó mà xác định thời gian xét nghiệm tiếp theo để đánh giá hiệu quả điều trị. Nếu thời gian xét nghiệm dấu ấn ung thư sau phẫu thuật quá ngắn sẽ dễ nhầm với phẫu thuật ung thư không triệt để. Nếu thời gian xét nghiệm dấu ấn ung thư quá muộn dễ nhầm giữa điều trị không hiệu quả hoặc tái phát ung thư mới. Ví dụ, thời gian bán hủy của CEA là 3 ngày, nồng độ CEA trước phẫu thuật là 100 ng/mL và tới ngày thứ 20 sau phẫu thuật vẫn chưa xét nghiệm CEA là quá chậm. Bởi vì để trở về mức CEA bình thường là 10ng/mL nên xét nghiệm ở ngày thứ 6 sau phẫu thuật.

2.5. Phát hiện sớm tái phát

Sau phẫu thuật thì xét nghiệm dấu ấn ung thư là một kỹ thuật không xâm lấn trọng trong theo dõi tái phát ung thư. Mặc dù dấu ấn ung thư thường kém đặc hiệu

nhưng rất có giá trị trong theo dõi tái phát ung thư. Các phương pháp chẩn đoán hình ảnh, đặc biệt xét nghiệm giải phẫu bệnh có tính đặc hiệu cao hơn vì là những bằng chứng trực tiếp nhưng sẽ chậm hơn nhiều (vì các phương pháp này chỉ có giá trị khi có khối ung thư hình thành) so với dùng xét nghiệm dấu ấn ung thư.

Nếu phương pháp xác định dấu ấn ung thư chính xác và theo dõi động học dấu ấn ung thư có thể giúp phát hiện sớm tái phát ung thư trước 10 tháng hoặc lâu hơn so với các phương pháp phát hiện ung thư khác. Trong một số ung thư, dấu ấn ung thư chỉ tăng ít ở giai đoạn khối u lớn hoặc di căn xa thì sử dụng dấu ấn ung thư trong những trường hợp này ít giá trị. Ngược lại, với khối u nhỏ, dấu ấn ung thư âm tính thì việc sử dụng dấu ấn ung thư trong ung thư rất có hiệu quả nếu khối u tiến triển. Tần suất xét nghiệm dấu ấn theo dõi tái phát tùy thuộc đặc tính ung thư, và mức độ thay đổi dấu ấn ung thư. Để theo dõi điều trị và giám sát tái phát ung thư thường sử dụng phối hợp vài dấu ấn ung thư. Tuy nhiên, sử dụng nhiều dấu ấn ung thư sẽ tăng độ nhạy lâm sàng nhưng sẽ giảm độ đặc hiệu.

Tóm lại, dấu ấn ung thư có thể sử dụng với nhiều mục đích khác nhau: sàng lọc, chẩn đoán, tiên lượng, theo dõi, điều trị, giám sát tái phát.

3. Hiệu quả và hướng dẫn lâm sàng

Để có thể đánh giá hiệu quả ứng dụng lâm sàng của các dấu ấn ung thư cần thiết phải thiết lập các giá trị tham chiếu, giá trị tiên lượng, đánh giá sự phân bố của kết quả phân tích dấu ấn cũng như xác định mức độ trị số của các dấu ấn trong quản lý bệnh tật.

Việc chẩn đoán và xác định giai đoạn ung thư liên quan đến nhiều công cụ chẩn đoán như: thăm khám lâm sàng, các kỹ thuật chẩn đoán hình ảnh và các xét nghiệm. Các công cụ này cùng với nhiều dấu ấn ung thư được dùng để sàng lọc, chẩn đoán, phân giải đoạn, tiên lượng cũng như định hướng điều trị. Tuy nhiên, không phải tất cả dấu ấn ung thư đều phù hợp đối với tất cả các ứng dụng, cũng như không phải tất cả các thể ung thư đều có các dấu ấn ung thư đặc hiệu. Chính vì vậy, mỗi thể loại ung thư và mỗi dấu ấn ung thư phải được nghiên cứu ứng dụng thích hợp. Các bác sĩ lâm sàng phải được đào tạo kỹ lưỡng để có thể đưa ra chỉ định chính xác cho mỗi dấu ấn ung thư cũng như đối với mỗi thể loại ung thư nhất định.

Nhiều tổ chức quốc tế đã ban hành hướng dẫn đối với việc sử dụng dấu ấn trên lâm sàng.

4. Nguyên tắc sử dụng dấu ấn ung thư trong lâm sàng

4.1. Nồng độ dấu ấn ung thư trong huyết thanh và phối hợp các chỉ điểm

Nồng độ các dấu ấn ung thư trong huyết thanh nói chung thấp ở người bình thường (không mắc ung thư). Nồng độ các dấu ấn ung thư tăng lên gặp ở các bệnh

nhân có ung thư tương ứng với dấu ấn ung thư đó. Ví dụ, NSE thấp <40 ng/mL có thể gặp ở một số bệnh nhân lành tính nhưng nếu tăng trên mức này là dấu hiệu của ung thư hoặc tan máu. Tương tự như nồng độ chất CA 125 hoặc CA 19-9 khi vượt quá 1000 ug/mL hoặc CEA>25 ng/mL là dấu hiệu ung thư tới 95%.

Vì các dấu ấn ung thư nói chung không đặc hiệu, vì vậy nên phối hợp các dấu ấn thư trong chẩn đoán một loại ung thư nào đó

4.2. Loại trừ các yếu tố nhiễu (bệnh lành tính)

Khi có một dấu ấn ung thư tăng lên, chúng ta phải luôn nghĩ đến và loại trừ khả năng một bệnh lành tính nào đó gây ra sự tăng này. Điều này rất khác nhau tùy thuộc loại dấu ấn thư và có thể xếp vào hai nhóm chính:

- Thay đổi cấu trúc hoặc chuyển hóa mô (lành tính) tạo ra và vì vậy làm tăng dấu ấn ung thư. Ví dụ, PSA trong viêm tuyến tiền liệt hoặc phì đại lành tính tuyến tiền liệt, CEA trong viêm loét đại tràng. Cũng có trường hợp dương tính giả như CA 19-9 trong bệnh gan- mật hoặc do kích ứng của các loại thuốc khác nhau như CA 72-4.
- Tổn thương mô (lành tính) có thể tạo ra và làm tăng dấu ấn ung thư trong huyết thanh, ví dụ CEA tăng ở người hút thuốc lá do khói thuốc lá kích thích niêm mạc phế quản sản xuất CEA; CA 125 tăng trong tràn dịch ở các màng. Hầu hết các dấu ấn ung thư được chuyển hóa ở gan và đào thải ở thận. Sự suy giảm chức năng hai cơ quan này sẽ làm giảm chuyển hóa hoặc giảm đào thải các dấu ấn ung thư và gián tiếp làm tăng nồng độ các chỉ điểm này trong huyết thanh so với bình thường. Hầu hết sự tăng của dấu ấn ung thư ở mức độ vừa phải (2-4 lần so với bình thường) ở bệnh nhân xơ gan hoặc suy thận; CEA, CA 125, Pro-GRP, Cyfra 21-1,... Ở bệnh nhân suy thận, một vài dấu ấn ung thư, ví dụ: SCCA hoặc HE4 có thể tăng cao như ở bệnh nhân ung thư và vì vậy khó có thể sử dụng các dấu ấn ung thư này ở bệnh nhân suy thận.

4.3. Phân tích động học các dấu ấn ung thư

Việc tăng cao đơn độc của một dấu ấn ung thư nào cũng có những hạn chế do tính không đặc hiệu của nó. Khi kết quả nồng độ dấu ấn ung thư nào đó trong huyết thanh tăng nhưng khó có thể kết luận thì nên xét nghiệm lại 2-3 lần và khoảng cách giữa các lần xét nghiệm khoảng 2-3 tuần (vượt quá thời gian bán hủy của hầu hết các dấu ấn ung thư chủ yếu). Nếu dấu ấn ung thư trên giới hạn bình thường và tăng liên tục ở các lần xét nghiệm (tăng hơn 25% so với lần xét nghiệm trước) thì có thể kết luận có khối u ác tính và chúng phản ánh sự phát triển của khối ung thư. Ngược lại, nếu nồng độ dấu ấn ung thư không thay đổi hoặc có xu hướng giảm đi, chúng ta có thể kết luận không có khối u ác tính.

5. Phân tích kết quả xét nghiệm dấu ấn ung thư

5.1. Nồng độ dấu ấn ung thư ở mức bình thường

Cần lưu ý rằng kết quả xét nghiệm dấu ấn ung thư ở mức bình thường không khẳng định được người đó không mắc ung thư.

5.2. Nồng độ dấu ấn ung thư tăng ở mức vừa phải

- *Nhóm có thể giải thích được sự tăng của dấu ấn ung thư:*

Việc tăng vừa phải nồng độ dấu ấn ung thư này có thể lý giải được ở bệnh nhân với bệnh lành tính. Ví dụ, một bệnh nhân có nồng độ CEA là 7 ng/mL nhưng bị suy thận. Thực tế trên 50% bệnh nhân suy thận có nồng độ CEA tương tự hoặc cao hơn.

- *Nhóm nghi ngờ:*

Có sự tăng nồng độ dấu ấn ung thư mà không lý giải được với một bệnh lý lành tính nào đó. Ví dụ, ở một người có nồng độ CEA 7ng/mL mà không có bệnh lành tính nào có thể gây tăng như vậy. Chỉ khoảng 5% người hút thuốc có nồng độ tăng tương tự. Để xác định sự tăng nồng độ dấu ấn ung thư này bằng cách theo dõi và xét nghiệm lại như đã nói ở trên.

5.3. Nồng độ dấu ấn ung thư tăng cao

Nồng độ dấu ấn ung thư tăng trên 95% chỉ ra khả năng cao của các khối u ác tính. Ví dụ, bệnh nhân có mức CEA tăng 50ng/mL, theo nhiều tài liệu hầu hết là ung thư kể cả trong trường hợp bệnh nhân có suy thận và suy gan. CA 19-9 tăng trên 1000 ng/mL là khả năng ung thư rất cao kể cả trong trường hợp vàng da do tắc mật. Trên thế giới, đã có bệnh nhân bị sỏi cholesterol gây tắc mật, dấu ấn ung thư CA 19-9 huyết thanh trên 4000 ug/mL nhưng đây là trường hợp rất đặc biệt.

Một điều quan trọng để đảm bảo nhận định đúng kết quả xét nghiệm dấu ấn là có sự liên hệ tốt với bác sĩ lâm sàng và có thông tin cần thiết khác về bệnh nhân. Mặc dù ung thư vậy, nếu chỉ có tiêu chuẩn dấu ấn ung thư chúng ta có thể chẩn đoán nhiều trường hợp với các tiêu chuẩn ở trên. Hầu hết các trường hợp dương tính giả của dấu ấn ung thư gặp ở bệnh nhân suy thận hoặc bệnh gan. Trong trường hợp nghi ngờ, chúng ta có thể theo dõi và làm lại xét nghiệm để kết luận dù có hoặc không có thông tin về lâm sàng của bệnh nhân.

*** *Yếu tố nhiễu về kỹ thuật:***

Yếu tố kỹ thuật cũng cần lưu tâm trong xét nghiệm các dấu ấn ung thư. Hầu hết các dấu ấn ung thư được đo theo nguyên lý miễn dịch và thường không đặc hiệu (có phản ứng chéo với các phân tử khác). Một thực tế là các dấu ấn ung thư đo bằng phương pháp khác nhau sẽ không có kết quả giống nhau.

6. Các dấu ấn ung thư

Có nhiều kỹ thuật xác định và đo lường các dấu ấn ung thư như: sử dụng kỹ thuật enzym, miễn dịch, sắc ký, điện di, sắc ký phôi phổ kết hợp với sắc ký khí hay sắc ký lỏng và kỹ thuật microarray. Việc sử dụng kỹ thuật nào phụ thuộc vào bản chất, nguồn gốc và mẫu sử dụng để xét nghiệm dấu ấn ung thư đó.

6.1. Dấu ấn ung thư bản chất enzyme

Các dấu ấn ung thư bản chất là enzym là nhóm đầu tiên được phát hiện. Sự tăng hoạt độ các enzym này chính là dấu hiệu xác định sự tồn tại của khối u. Việc xác định các dấu ấn ung thư bản chất enzym thường đơn giản và kỹ thuật thường dùng là kỹ thuật quang phổ để xác định hoạt độ enzym. Kỹ thuật miễn dịch phóng xạ (RIA) được ứng dụng từ những năm 50 của thế kỷ trước. Việc xác định khối lượng phân tử enzym cũng được ứng dụng tiếp sau đó song ý nghĩa lâm sàng không nhiều.

Trong một số trường hợp, sự thay đổi hoạt độ hoặc trọng lượng phân tử của enzym và isozym không đủ đặc hiệu và độ nhạy để chẩn đoán ung thư. Ví dụ trường hợp ngoại lệ này là PSA. PSA có hoạt tính protease nhẹ và trình tự acid amin thuộc nhóm serin protease của gia đình kallikrein. PSA được biểu hiện ở các mô bình thường, phì đại lành tính và mô ung thư tuyến tiền liệt. Ngoài ra PSA còn được biểu hiện với mức độ thấp ở một số mô khác. Sự bất thường của các enzym được coi là dấu ấn ung thư thể hiện qua mức độ biểu hiện các enzym (isozym) này ở dạng bào thai hoặc biểu hiện lạc chỗ các enzym này.

Các enzym tồn tại ở nồng độ cao trong tế bào. Các enzym được giải phóng vào hệ tuần hoàn do sự hủy hoại tế bào hoặc do thay đổi tính thấm của các tế bào ung thư. Trong thời gian enzym được giải phóng vào hệ tuần hoàn thì sự di căn của tế bào cũng có thể xuất hiện. Đa số các enzym đều không đặc hiệu cho một cơ quan nhất định nào do vậy các enzym này thường chỉ là các dấu ấn ung thư không đặc hiệu. Sự tăng nồng độ enzym có thể là tín hiệu của ung thư di căn.

6.1.1. Alkaline phosphatase

Enzym này trong huyết thanh có nguồn gốc từ gan hoặc đường mật. Alkaline phosphatase tăng trong ung thư gan nguyên phát hoặc thứ phát. Nồng độ enzym này tăng cao trong huyết thanh còn có tác dụng gợi ý tới tình trạng di căn xương hoặc gan. Trong trường hợp ung thư di căn gan, nồng độ alkaline phosphatase huyết thanh thường song hành với các kết quả xét nghiệm đánh giá chức năng gan khác. Để chẩn đoán xác định nguồn gốc của enzym này, người ta tiến hành xét nghiệm các enzym khác của gan như 5-nucleotidase hay γ -glutamyltransferase. Việc xác định các isoenzym của alkaline phosphatase cũng giúp ích thêm việc xác

định nguồn gốc của enzym này. Isoenzym alkaline phosphatase nguồn gốc từ gan bền với nhiệt hơn so với isoenzym nguồn gốc từ xương. Một số loại ung thư khác như ung thư lympho, ung thư xương, ung thư bạch cầu cũng gây tăng nồng độ alkaline phosphatase huyết tương.

Placental alkaline phosphate (PALP) được sản xuất bởi tế bào nuôi (trophoblast) tăng trong huyết thanh ở phụ nữ có thai. PALP tăng trong nhiều loại ung thư như ung thư buồng trứng, phổi, dạ dày ruột, Hodgkin, ...

6.1.2. Creatin kinase (CK)

Xúc tác phản ứng phosphoryl hóa creatin bởi adenosin triphosphat. CK có cấu trúc dimer gồm 2 tiểu đơn vị: M (cơ) và B (não). Có 3 dạng isozym là CK1 (BB), CK2 (MB) và CK3 (MM). CK1 tồn tại ở não, tuyến tiền liệt, đường tiêu hóa, phổi, bàng quang, tử cung, rau thai. Cơ tim có nồng độ CK2 cao nhất (khoảng 20%). CK3 có ở cơ xương và cơ tim.

CK1 tăng trong ung thư tuyến tiền liệt và ung thư phổi tế bào nhỏ. Tuy nhiên, CK1 cũng tăng trong một số bệnh ác tính như ung thư vùi, đại trực tràng, buồng trứng và dạ dày do vậy việc ứng dụng lâm sàng của dấu ấn ung thư CK1 cần kết hợp với các xét nghiệm thăm dò khác thì mới đem lại hiệu quả cao.

6.1.3. Lactat dehydrogenase (LD)

Là enzym của con đường chuyển hóa glucose, được giải phóng ra ngoài khi tế bào bị phá hủy. Tăng LD không đặc hiệu đối với các khối u ác tính. LD tăng trong nhiều bệnh ung thư như ung thư gan, ung thư lympho không Hodgkin, ung thư bạch cầu cấp, ung thư đường tiêu hóa và ung thư phổi. Nồng độ LD huyết thanh song hành với kích thước khối u và là một trong những dấu ấn có giá trị tiên lượng về tiến triển bệnh. Giá trị theo dõi hiệu quả điều trị của LD hạn chế. Việc xét nghiệm các isozym chỉ có giá trị trong việc xác định tính đặc hiệu tổ chức của khối u. Ví dụ LD5 tăng cao trong ung thư gan di căn. Sự tăng cao LD5 trong dịch não tủy là dấu hiệu sớm cho sự di căn đến hệ thần kinh trung ương.

6.1.4. Enolase đặc hiệu thần kinh (Neuron-specific enolase: NSE)

Enolase còn có tên gọi là phosphopyruvat hydratase là một enzym của quá trình đường phân, xúc tác chuyển 2-phosphoglycerat thành phosphoenolpyruvat. Có 5 isoenzym enolase do 3 tiểu đơn vị hình thành: alpha, beta, gamma. Thành phần cấu tạo NSE có chứa hai tiểu đơn vị gamma và một tiểu đơn vị alpha. NSE là một dạng của enolase được tìm thấy trong mô thần kinh và các tế bào của hệ nội tiết như: ung thư phổi tế bào nhỏ (SCLC), ung thư thần kinh (neuroblastoma), ung thư hạch, ung thư tụy, ung thư tuyến giáp và ung tụy nội tiết... NSE huyết thanh được định lượng bằng kỹ thuật RIA. Giới hạn trên của NSE là 12,5 ng/mL. Bệnh nhân

SCLC có độ nhạy tới 80% và độ đặc hiệu trong khoảng 80-90%. Dấu ấn NSE song hành với giai đoạn phát triển của khối u nên có giá trị tiên lượng và đánh giá hiệu quả điều trị bằng hóa chất. Kỹ thuật nhuộm miễn dịch NSE có giá trị chẩn đoán phân biệt giữa SCLC và các thể ung thư khác.

Trên 90% trẻ em bị ung thư thần kinh có tăng NSE huyết thanh. NSE càng cao thì tiên lượng càng kém và chỉ số này song hành với mức độ phát triển của khối u.

Tế bào hồng cầu cũng có chứa nhiều NSE, vì vậy không tiến hành phân tích NSE khi lấy máu để tránh dương tính giả. Tan máu có thể làm tăng NSE tới 20 lần bình thường. máu vỡ hồng cầu và cần tách huyết thanh khỏi hồng cầu, tiểu cầu trong vòng 4 giờ sau khi NSE là một trong những dấu ấn ung thư đặc hiệu nhất, theo tác giả Molina chỉ 3,6% bệnh nhân không ung thư có NSE < 25 ng/mL. Dương tính giả gặp chủ yếu ở bệnh nhân bệnh gan và suy thận (mức tăng không quá 2 lần mức bình thường), bệnh phổi, đặc biệt là lao phổi và bệnh tự miễn. NSE có nồng độ cao ở tổ chức thần kinh (não và thần kinh ngoại biên), vì vậy, trong một số bệnh có tổn thương não, NSE tăng 4-5 lần so với bình thường. Giá trị tham chiếu: 15,7 – 25,0 ng/mL trong huyết thanh (khác nhau tùy phương pháp đo).

Chỉ định:

- Ung thư phổi tế bào nhỏ: độ nhạy > 70% (50%: giai đoạn khu trú, và 78% giai đoạn tiến xa).

Không bền, thời gian bán hủy ngắn (<60 phút).

Tăng trong ung thư khác:

- Ung thư thần kinh – nội tiết (Neuroblastoma).
- Ung thư tuyến giáp thể tủy.
- Buóu carcinoid.
- Ung thư tụy nội tiết.
- Ung thư sắc tố (Melanoma).

6.1.5. Prostatic acid phosphatase (PAP)

Acid phosphatase bao gồm tất cả các phosphatase thủy phân phosphat este ở pH tối ưu dưới 7. Các enzym này có ở lysozym của tế bào biểu mô chế tiết. Mặc dù acid phosphatase được sản xuất bởi tuyến tiền liệt song nó cũng được tìm thấy ở hồng cầu, tiểu cầu, bạch cầu, tủy xương, xương, gan, tụy, thận và ruột.

PAP có pH tối ưu trong khoảng từ 5-6, không bền ở pH lớn hơn 7 và ở nhiệt độ trên 37°C. Enzym này có thể phân biệt được với các acid phosphatase khác bằng tartrate, một chất ức chế mạnh PAP có nguồn gốc từ tuyến tiền liệt. Enzym này được sử dụng như một dấu ấn ung thư từ 1938 bởi Gutman và cộng sự. Dấu ấn này

được sử dụng để sàng lọc và phân giai đoạn phát triển của ung thư tuyến tiền liệt. Ngoài ra dấu ấn này còn có giá trị trong tiên lượng và theo dõi hiệu quả điều trị. Tăng cao PAP trong những trường hợp ung ác tính, đa u tủy xương và ung thư xương di căn và một số thể Tuy nhiên, PAP cũng tăng trong một số trường hợp phì đại lành tính như BPH, bướu giáp, Việc ứng dụng lâm sàng PAP đã được thay thế bởi PSA. PAP không nhạy bằng PSA trong sàng lọc sớm ung thư. PAP chỉ được sử dụng để chẩn đoán xác định ung thư tuyến tiền liệt di căn và phân giai đoạn của thể

6.1.6. Prostate-specific antigen (PSA)

PSA là một enzym kallikrein (glycoprotein protease) có trọng lượng phân tử 33.000 Da được sản xuất ở tuyến tiền liệt và được bài tiết vào tinh dịch. Trong điều kiện bình thường PSA được tổng hợp dưới dạng tiền chất proPSA trong tế bào biểu mô tuyến tiền liệt. Sau khi cắt bỏ 17 acid amin proPSA được bài tiết vào ống dẫn tinh.

PSA trong huyết thanh tồn tại dưới một số dạng phân tử:

- PSA tự do (free PSA: fPSA) chiếm khoảng 10 – 40% tổng số. Đây là dạng PSA bị mất hoạt tính khi loại bỏ hai gốc lysin và không thể tạo phức hợp với cơ chất và được coi là dạng PSA tự do.

- PSA dạng kết hợp với chất ức chế đặc hiệu, có tên enzym serine protease (PSA-ai- antichymotrypsin hay PSA-ACT), dạng này chiếm khoảng 60 – 90%.

PSA còn ở dạng kết hợp với α 1-antitrypsin và dạng kết hợp với chất ức chế inter-a-trypsin và chiếm tỷ lệ rất thấp. Cuối cùng, dạng PSA kết hợp với az-macroglobulin (PSA- MG), hiện nay chưa phát hiện được bằng phản ứng miễn dịch.

- PSA toàn phần (total PSA: (PSA) bao gồm mọi dạng phân tử PSA trong huyết thanh phát hiện được bằng phản ứng miễn dịch. Thời gian bán hủy trong máu của PSA khoảng 2,5 – 3,0 ngày và biến mất sau khoảng 2 tuần nếu không bổ

PSA theo tiếng anh là một kháng nguyên đặc hiệu tuyến tiền liệt, mặc dù vậy PSA là một dấu ấn ung thư không đặc hiệu của ung thư tuyến tiền liệt. Nó là một dấu ấn ung thư nhạy hơn ACP trong ung thư tuyến tiền liệt nhưng không nhạy để chẩn đoán sớm ung thư vì nồng độ tăng lên thường chỉ xuất hiện khi bệnh tiến triển. Ở tuyến tiền liệt bình thường PSA có với lượng nhỏ và nó cũng tăng lên trong phì đại tuyến tiền liệt lành tính. PSA là một dấu ấn ung thư không có tương quan tốt với thể tích khối ung thư

Với sự phát triển của miễn dịch học, các nghiên cứu đã chỉ ra tỷ số fPSA/tPSA giảm thấp trong ung thư tuyến tiền liệt. Sau khi đo được nồng độ PSA (PSA) và fPSA huyết thanh, tỷ lệ % fPSA được tính:

$$\% fPSA = fPSA \times 100\% tPSA$$

Chỉ số fPSA đã được nhiều nghiên cứu chứng minh là có tác dụng tăng độ nhạy của PSA khi ở mức bình thường và tăng độ đặc hiệu PSA khi ở “khoảng giới hạn”, nhằm tách Gân đây, một số nghiên cứu đưa ra thêm một chỉ số là chỉ số Phi (xét nghiệm dạng V PSA) tuy nhiên ứng dụng P2PSA trong ung thư tuyến tiền liệt của chỉ số này chưa được phổ biến.

*** Theo dõi điều trị và giám sát tái phát.**

PSA được chỉ định để kiểm tra hiệu quả điều trị và theo dõi ung thư tuyến tiền liệt

- Sau phẫu thuật sau 6 tuần nếu không phát hiện được PSA huyết thanh là tốt.
- Định kỳ xét nghiệm 3 tháng/lần, nếu PSA tăng có khả năng tái phát hoặc di căn. Tăng không do ung thư:

Viêm tụy cấp, u lành tuyến tiền liệt, ngay sau thăm khám hoặc phẫu thuật tuyến tiền liệt

6.2. Dấu ấn ung thư bản chất là hormon

Hormon được sử dụng như dấu ấn ung thư từ hơn 50 năm trước đây. Việc ứng dụng kỹ thuật RIA để định lượng một hormon đặc hiệu cho phép theo dõi hiệu quả điều trị bệnh nhân ung thư. Hiện nay việc áp dụng kháng thể đơn dòng trong định lượng hormon cho phép thu được kết quả chính xác hơn và ít độc hại hơn so với RIA. Sự sản xuất hormon ở bệnh nhân ung thư liên quan đến 2 con đường riêng biệt: (1) mô nội tiết sản xuất một lượng dư thừa hormon; (2) hormon được sản xuất bởi mô không phải của tuyến nội tiết (hội chứng lạc chỗ), ví dụ ACTH có thể được sản xuất bởi tế bào nhỏ của phổi. Chính vì vậy, việc một hormon nào đó tăng cao không đưa ra một chẩn đoán riêng biệt nào vì hormon có thể được sản xuất bởi nhiều loại tế bào khác nhau.

6.2.1. Adrenocorticotropic hormon

ACTH là một chuỗi polypeptid có 39 acid amin, trọng lượng phân tử 4500 được bài tiết bởi thùy sau tuyến yên. Tăng ACTH huyết thanh có thể do tuyến yên tăng cường sản xuất hoặc do hormon này được tế bào lạc chỗ sản xuất (tế bào nhỏ của phổi). Nồng độ ACTH trên 200 ng/L gợi ý cho sự sản xuất lạc chỗ. Giả thiết này có thể được chứng minh bằng cách ức chế sản xuất ACTH do dexamethasone. Nếu ACTH tăng cao do sản xuất lạc chỗ thì dexamethasone không có khả năng ức chế sản xuất. Khoảng 50% trường hợp ACTH tăng cao do sản xuất lạc chỗ là do ung thư tế bào nhỏ của phổi. Một số trường hợp khác có thể do ung thư tụy, vú, dạ dày và ung thư đại tràng, hoặc một số trường hợp khác như: béo phì, trầm cảm, tăng huyết áp...

6.2.2. Calcitonin

Là một polypeptid có 32 acid amin trọng lượng phân tử khoảng 3400 được sản xuất bởi tế bào C của tuyến giáp trạng. Nửa cuộc đời của calcitonin trong huyết thanh là 12 phút. Nồng độ hormon này ở người khỏe mạnh là 0,1 ug/L và tăng trong ung thư tuyến giáp thể tủy. Chỉ số nồng độ calcitonin có giá trị trong việc đánh giá thể tích khối u, sự di căn và theo dõi hiệu quả điều trị. Calcitonin còn tăng trong bệnh nhân ung thư hạch, phổi, vú, thận và ung thư gan. Tuy nhiên, calcitonin còn tăng trong một số trường hợp bệnh không ác tính như viêm phổi, viêm tụy, bứu giáp, bệnh Paget của xương, thai nghén.

6.2.3. Human chorionic gonadotropin (hCG)

Tăng trong thai kỳ, bệnh lý nguyên bào nuôi và u tế bào mầm. hCG là dấu ấn ung thư có giá trị trong ung thư tử cung (u nguyên bào nuôi), ung thư tinh hoàn.

hCG gồm có 2 tiểu đơn vị khác hẳn nhau là a và B. Tiểu đơn vị a chung cho một số hormon khác như LH, FSH, TSH còn tiểu đơn vị B là đặc trưng cho hCG. Sự tổng hợp các tiểu đơn vị của hCG theo 2 cơ chế điều hòa gen riêng biệt. Trong giai đoạn đầu của thai kỳ tiểu đơn vị B tự do được tổng hợp cùng với phân tử hCG toàn vẹn. Ở giai đoạn cuối của thai kỳ tiểu đơn vị a chiếm ưu thế. Sự khác biệt sự tổng hợp các tiểu đơn vị cũng được quan sát thấy ở các bệnh nhân ung thư. Đa số các bệnh nhân ung thư tổng hợp tiểu đơn vị B tự do và phân tử hCG toàn vẹn.

hCG tăng cao ở hầu hết các bệnh nhân u nguyên bào nuôi (trên 1 triệu IU/L). Một số trường hợp ung thư da, vú, phổi, buồng trứng, ung thư đường tiêu hóa và một số trường hợp phì đại, quá sản cũng có hiện tượng tăng hCG như xơ gan, polip đại trực tràng... Cùng với AFP, hCG có giá trị chẩn đoán bệnh nhân u nguyên bào nuôi. Nồng độ hCG tương ứng với thể tích khối u và có giá trị tiên lượng bệnh. hCG không vượt qua hàng rào máu não nên bình thường tỷ lệ hCG dịch não tủy/huyết thanh là 1/60. hCG tăng trong dịch não tủy là dấu hiệu có di căn não và chỉ số này có giá trị theo dõi hiệu quả điều trị đối với những bệnh nhân có di căn não.

hCG là dấu ấn quan trọng được sử dụng để theo dõi hiệu quả điều trị, quá trình tiến triển của bệnh nguyên bào nuôi. Nồng độ hCG tương ứng với thể tích khối u. Bệnh nhân có nồng độ hCG ban đầu lớn hơn 400.000 IU/L được coi là nguy cơ cao thất bại trong điều trị. Phẫu thuật loại bỏ khối u, hCG sẽ giảm. Nửa đời sống của hCG trong huyết thanh là 12-20 giờ. hCG giảm chậm hoặc duy trì một nồng độ hằng định trong máu là dấu hiệu bệnh vẫn còn tồn tại. Trong quá trình điều trị hóa chất, nên theo dõi nồng độ hCG.

Kỹ thuật xác định nồng độ hCG sử dụng kháng thể kháng tiểu đơn vị B (để tránh phản ứng chéo đối với các hormon khác có bản chất glycoprotein như LH,

FSH, TSH). Định lượng nồng độ phân tử hCG toàn vẹn sử dụng kết hợp kháng thể kháng tiểu đơn vị B và a. Song kỹ thuật này không cho phép xác định nồng độ tiểu đơn vị B và a tự do. Xét nghiệm B-hCG thường được sử dụng vì các bệnh nhân ung thư sản xuất một lượng đáng kể tiểu đơn vị này.

6.3. Dấu ấn ung thư là kháng nguyên bào thai

Đây là những kháng nguyên bào thai được sản xuất trong quá trình phát triển của thai nhi. Những protein này tồn tại ở nồng độ cao trong huyết thanh thai nhi nhưng giảm dần và mất hẳn sau khi sinh. Ở những bệnh nhân ung thư thì những protein này lại tái xuất hiện do một số gen lại được hoạt hóa trở lại do sự chuyển dạng ác tính của tế bào.

6.3.1. Alpha fetoprotein (AFP)

Là dấu ấn ung thư gan và ung thư tế bào mầm. AFP là một glycoprotein (69.000 Da) gồm 591 acid amin chứa 4% carbohydrat. Thành phần protein giống albumin, chỉ khác đoạn N-tận. AFP đôi khi được gọi là Foetal albumin. Giống như albumin chức năng AFP liên đến vận chuyển các cơ chất khác nhau như acid béo, hormon steroid, các ion (kẽm, đồng, bilirubin, ...). AFP được sản xuất đầu tiên chủ yếu bởi các tế bào gan của bào thai và noãn hoàng. AFP giảm nhanh ở cuối thai kỳ và chỉ tồn tại dưới dạng vết ở thời điểm 18 tháng sau khi sinh. Nồng độ AFP huyết thanh trong thời kỳ mang thai rất cao, gấp 25- 30 lần giá trị bình thường ở người trưởng thành. Nồng độ AFP cũng cao ở trẻ sơ sinh (AFP ở máu cuống rốn có thể cao hơn 4,000 lần so với mức bình thường ở người trưởng thành) và giảm dần cho đến khi trẻ khoảng 18 tháng tuổi thì AFP huyết thanh giống ở người trưởng thành.

AFP có liên quan đến các ung thư của tế bào mầm và tế bào gan. Ở các bệnh nhân bị các u noãn hoàng, AFP có liên quan thuận với mức độ bệnh. Cùng với hCG, AFP được sử dụng để phân loại các ung thư tế bào mầm và bệnh lá nuôi thời kỳ có thai. Ung thư tế bào mầm có thể là ung thư của 1 dòng hay nhiều dòng tế bào. AFP tăng trong u noãn hoàng trong khi hCG tăng trong ung thư tử cung và cả hai đều tăng trong ung thư bào thai. AFP có giá trị để phát hiện bệnh, phân giai đoạn và theo dõi điều trị bệnh.

AFP thường tăng nhẹ < 100 ng/mL.

6.3.2. Carcinoembryonic antigen (CEA)

Là dấu ấn ung thư đại trực tràng, dạ dày ruột, phổi và vú. CEA là một glycoprotein trọng lượng phân tử 150-300 kDa, có 45-55% carbohydrat, được phát hiện bởi Gold và CEA được coi là chỉ điểm đặc hiệu cho ung thư đại tràng. Tuy nhiên, CEA còn thấy tăng trong ung thư vú, đường tiêu hóa, phổi, buồng trứng, tụy

và tuyến tiền liệt. Hơn nữa, nó cũng tăng lên ở người nghiện rượu, viêm ruột, xơ hóa bàng quang (cystic fibrosis) và ở những người hút thuốc lá nặng.

Mặc dù CEA không đặc hiệu cho chẩn đoán ung thư nhưng có giá trị tiên lượng và theo dõi điều trị. CEA được đo ở các dịch cơ thể khác huyết thanh: dịch ổ trướng (ascetic), dịch nang bàng quang (cysx), nước tiểu, dịch rửa từ bất kỳ khoang nào của cơ thể.

Giá trị tham chiếu: <5 mg/mL.

Chỉ định:

* Chẩn đoán:

- Ung thư đại tràng (giá trị nhiều hơn trong theo dõi điều trị), ung thư đường tiêu hóa thường kết hợp với CA 19-9.
- Ung thư trực tràng: độ nhạy tùy giai đoạn và mức độ biệt hóa từ 25% tới 80%.
- Ung thư tụy, ruột non, dạ dày: nồng độ trong huyết thanh liên quan tới giai đoạn và biệt hóa ung thư.
- Ung thư phổi không tế bào nhỏ (NSLC).

Nồng độ CEA còn tăng trong ung thư vú (40%), ung thư tụy (55%), ung thư buồng trứng (25%), và ung thư tử cung (40%).

* Theo dõi điều trị.

- Ung thư đại trực tràng, sau phẫu thuật thành công, nồng độ CEA giảm.
- + 6 tuần sau mổ nếu CEA bình thường là tiên lượng tốt.
- + Sau đó định kỳ 3 tháng xét nghiệm 1 lần: Nếu CEA > 50% bình thường là dấu hiệu tái phát (trước khi có dấu hiệu lâm sàng).

CEA cũng hữu ích trong việc giám sát ung thư vú, phổi, dạ dày và ung thư tuyến tụy. Đối với ung thư vú, CEA là hữu ích nhất trong việc theo dõi di căn trong khi điều trị và trong việc phát hiện các di căn xương hoặc di căn phổi. Trong quá trình điều trị nếu CEA huyết thanh tăng phản ánh: thất bại điều trị.

Tăng không do ung thư:

Thường tăng gấp hai bình thường và dưới 15 ng/mL, gặp trong các trường hợp:

- Hút thuốc: CEA dương tính ở 5 — 10% các trường hợp.
- Giai đoạn đầu viêm ruột, xơ gan, viêm gan mạn.
- Giai đoạn bệnh COPD (emphysema).
- Suy thận mạn.
- Viêm phổi, lao.
- Bệnh lành tính đường tiêu hóa (viêm loét dạ dày, ruột, bệnh Crohn's, viêm tụy).
- Buồng trứng đa nang, cường giáp.

Cần lưu ý rằng không có bệnh nhân suy thận hoặc suy gan nào mà CEA huyết thanh >25 ng/mL. Cũng cần phải nêu lại, khi có nghi ngờ về ung thư cần làm xét nghiệm theo dõi động học CEA thì có giá trị hơn.

6.4. Dấu ấn ung thư là cytokeratin

Cytokeratin có thể được chia thành 2 nhóm: typ 1 bao gồm những protein acid, nhỏ hơn và typ 2 gồm những protein trung tính hoặc kiềm, lớn hơn. Protein thuộc nhóm cytokeratin được sử dụng trên lâm sàng là tissue polypeptid antigen (TPA), tissue polypeptid-specific antigen (TPS) và cytokeratin 19 fragments (CYFRA 21-1). **6.4.1. Cytokeratin 19 fragment (CYFRA 21-1)**

Cyfra 21-1 là một protein có TLPT thấp (3.000 Da) có nhiều ở phổi, có độ đặc hiệu cao nhất trong ung thư phổi (dương tính giả thấp nhất) nên được ứng dụng chủ yếu trên lâm sàng.

Giá trị tham chiếu: < 3,3 ng/mL.

- Cyfra 21-1 tăng trong tất cả các loại ung thư phổi, mặc dù nó là nhạy cảm nhất đối với bệnh ung thư phổi không phải tế bào nhỏ, chủ yếu ung thư phổi tế bào vảy và biểu mô tuyến: độ nhạy và độ đặc hiệu từ 46 – 68% với giá trị ngưỡng của Cyfra 21-1 từ 3,3 – 3,6 ng/mL.

- Có vai trò tiên lượng tỷ lệ sống sót đối với bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ được chỉ định mổ ở giai đoạn sớm.

- Cyfra 21-1 tăng trong ung thư khác: bàng quang, buồng trứng, cổ tử cung.

Tăng không do ung thư:

- Nhiễm trùng cấp tính (viêm phổi, lao, nhiễm trùng huyết).

- Nhiễm trùng mạn tính (viêm gan, suy thận) có thể tăng >20 ng/mL.

Nồng độ Cyfra 21-1 trong máu không bị ảnh hưởng bởi tình trạng hút thuốc của người

6.4.2. Squamous cell carcinoma antigen (SCCA)

Còn được gọi là kháng nguyên ung thư tế bào vảy có tác dụng theo dõi ung thư tế bào vảy. SCCA là glycoprotein có TLPT khoảng 42.000-48.000 Da thuộc về dòng họ các chất ức chế protease. SCCA có nhiều ở mô vảy âm đạo, tử cung, phổi, vòm họng và da. Nồng độ SCCA tăng lên khi ung thư của các mô này. SCCA có hai đồng phân là SCCA1 (dạng trung tính) và SCCA2 dạng acid và giống nhau tới 92% về thành phần acid amin. Các tế bào vảy bình thường và ung thư đều có dạng trung tính trong khi dạng acid chỉ có ở các tế bào ác tính. Các kỹ thuật định lượng hiện nay thường xác định cả hai dạng isoenzym của SCCA.

Giá trị tham chiếu: <2,5 ng/mL.

Chỉ định:

- Chẩn đoán và theo dõi điều trị ung thư tế bào vảy có nguồn gốc khác nhau: ung thư cổ tử cung, ung thư phổi, ung thư vòm họng. SCCA không có giá trị trong sàng lọc ung thư vì ở giai đoạn đầu, dấu ấn này thường tăng không nhiều. Trước khi điều trị, SCCA tăng cao đồng nghĩa với tiên lượng xấu.

- SCCA cũng tăng trong ung thư tế bào tuyến của phổi và tụy.

Tăng không do ung thư:

- Suy thận (có thể tăng tới 30 lần mức bình thường), bệnh da hệ thống (mụn nước, vảy nến hoặc eczema).

- Tăng nhẹ trong bệnh gan, lao, tan máu.

6.4.3. Thyroglobulin (Tg) en geurs 13, 14

Thyroglobulin là một glycoprotein dimer, TLPT mỗi một tiểu đơn vị là 330.000 Da có trong tế bào tuyến giáp và là tiền chất trong quá trình tổng hợp của hormon tuyến giáp.

Bình thường Tg có lượng nhỏ trong huyết thanh.

Giá trị tham chiếu: <25 ng/mL.

Chỉ định:

Chẩn đoán: Ung thư tuyến giáp thể biệt hóa.

- Theo dõi điều trị:

+ Theo dõi sau phẫu thuật: nếu Tg huyết thanh giảm thấp hoặc không định lượng được là tốt, nếu Tg còn là phẫu thuật chưa hết hoặc ung thư đã di căn.

+ Sau điều trị, xét nghiệm 1 tháng/ 1 lần trong 6 tháng đầu, sau đó 3 tháng xét nghiệm 1 lần. Nếu Tg tăng >5 ng/mL cần theo dõi chặt chẽ tái phát hoặc di căn.

Tăng không do ung thư:

- Viêm tuyến giáp.

- Bướu lành tính tuyến giáp.

6.5. Dấu ấn ung thư bản chất là carbohydrat

Các dấu ấn ung thư bản chất là carbohydrat là: (1) kháng nguyên bề mặt tế bào hoặc bề mặt khối u; (2) sản phẩm bài tiết bởi các tế bào khối u. Kháng thể đơn dòng đã được tạo ra để phát hiện các dấu ấn này. Các dấu ấn ung thư thuộc nhóm này thường đặc hiệu hơn các dấu ấn bản chất là enzym hay hormon. Các dấu ấn ung thư bản chất là carbohydrat có thể là chất nhày mucin có trọng lượng phân tử cao hoặc kháng nguyên nhóm máu.

CA 15-3, CA 549 và CA 27.29 là glycoprotein mucin có trọng lượng phân tử cao, được biểu hiện ở các tế bào biểu mô động vật gọi là episialin. Kháng nguyên episialin lưu hành là phân tử không đồng nhất. Kỹ thuật xác định CA 15-3, CA 549

và CA 27.29 là kỹ thuật phát hiện các vị trí nhận biết kháng nguyên khác nhau trên phân tử episialin. Các dấu ấn này được sử dụng đối với ung thư vú.

6.5.1. Carbohydrat antigen 15-3 (CA 15-3)

CA 15-3 là một glycoprotein và là dấu ấn ung thư lựa chọn đầu tiên của ung thư vú nhưng không đặc hiệu.

Giá trị tham chiếu: < 30 U/mL.

Chỉ định:

- Chẩn đoán:

+ Ung thư vú: CA 15-3 là dấu ấn ung thư đặc hiệu nhất, kết hợp CA 15-3 và CEA tăng độ nhạy chẩn đoán lên 10%.

Khi CA 15-3 > 50 U/mL là nghi ngờ có di căn.

+ Ung thư khác: ung thư buồng trứng, ung thư phổi tế bào nhỏ, ung thư dạ dày, ung thư tụy.

- Theo dõi điều trị:

Sau mổ 6 tuần nên làm xét nghiệm CA 15-3. Sau điều trị theo dõi định kỳ xét nghiệm 6 tháng/ lần trong 3 năm. Khi CA 15-3 tăng > 50% bình thường có khả năng tái phát hoặc di căn ung thư.

Khi điều trị hóa chất, định kỳ xét nghiệm hàng tháng để đánh giá khả năng đáp ứng

điều trị hoặc theo dõi di căn.

Tăng không do ung thư:

CA 15-3 tăng trong xơ gan, viêm gan cấp, viêm gan mạn, suy thận, u nang buồng trứng, bệnh tự miễn, ... và thường <100 U/mL. Tuy nhiên, trong bệnh thiếu máu hồng cầu khổng lồ, CA 15-3 có thể tăng tới 10 lần bình thường.

6.5.2. Carbohydrat antigen 125 (CA 125)

CA 125 là một glycoprotein trọng lượng phân tử cao (200.000 Da) được báo cáo lần đầu tiên năm 1981 và là một dấu ấn ung thư tốt cho ung thư buồng trứng. CA 125 được sử dụng phối hợp với CEA để xác định tính chất của các ung thư buồng trứng. CA 125 còn thấy tăng trong các tình trạng không ác tính như quá trình có thai, bệnh lạc nội mạc tử cung (endometriosis), bệnh u xơ (fibromatosis), bệnh viêm khung chậu (pelvic), viêm tụy và viêm màng bụng (peritonitic). CA 125 tăng cao nhất trong ung thư buồng trứng nhưng CA 125 còn tăng lên trong các bệnh ác tính khác. Nó có ích nhất trong theo dõi ở những bệnh nhân ung thư tế bào biểu mô buồng trứng.

Giá trị tham chiếu: <35U/mL.

Chỉ định:

* Chẩn đoán:

- Ung thư buồng trứng (ovarian cancer):

+ Phụ nữ còn kinh nguyệt:

CA 125 > 200 U/mL ở phụ nữ có tiền sử gia đình bị ung thư vú và ung thư buồng

+ Phụ nữ mãn kinh:

CA 125 > 35 U/mL ở phụ nữ có tiền sử gia đình bị ung thư vú và ung thư buồng trứng, có khối u vùng hố chậu.

Chẩn đoán có độ nhạy cao khi kết hợp CA 125 với CEA và CA 72-4.

- Ung thư tụy: là dấu ấn ung thư lựa chọn sau CA 125, HE4.

- CA 125 còn tăng trong ung thư nội mạc tử cung, hoặc ung thư phổi.

Trong chẩn đoán ung thư buồng trứng cần kết hợp CA 125 với HE4 với chỉ số ROMA

để tăng độ nhạy và độ đặc hiệu của chẩn đoán.

* Theo dõi điều trị:

- Sau phẫu thuật: CA 125 tăng có giá trị tái phát và di căn.

- Chẩn đoán sớm trước dấu hiệu lâm sàng khi mức CA 125 tăng trên 50%.

Cũng như các dấu ấn ung thư khác, CA 125 tăng trong suy thận, bệnh gan và thường tăng < 350 U/mL (gấp 10 lần giá trị tham chiếu).

CA 125 tăng trong xơ gan kèm cổ trướng, tràn dịch màng phổi, viêm phúc mạc, có thai tháng thứ 3, ...

6.6. Dấu ấn ung thư là kháng nguyên nhóm máu

Kháng nguyên nhóm máu bản chất là carbohydrat được nhận biết bởi kháng thể đơn dòng được sử dụng làm dấu ấn ung thư trong đó có CA 19-9 (sialylated Lexa), CA 50 (sialylated Lex-1, afucosyl form), CA 72-4 (sialyl Tn), và CA 242 (sialylated carbohydrat coexpressed with CA 50).

6.6.1. Carbohydrat antigen 19-9 (CA 19-9)

CA 19-9 là một oligosaccharid giống mucin, trọng lượng phân tử 36.000 Da, được phát hiện lần đầu năm 1979. CA 19-9 sử dụng trong lâm sàng để chẩn đoán, theo dõi điều trị và giám sát tái phát chủ yếu bệnh ung thư tụy, đại trực tràng, dạ dày, gan,... CA 19-9 cũng có thể tăng lên trong các bệnh có liên quan đến sự tắc mật và trong xơ hóa bàng quang. CA 19-5 và CA-50 là các chỉ điểm được xác định bởi kháng thể khác có thể có độ đặc hiệu và độ nhạy tương tự đối với ung thư tụy.

Giá trị tham chiếu: <37 U/mL.

Chỉ định:

* Ung thư đường tiêu hóa:

- CA 19-9 là chỉ điểm được chọn ưu tiên trong chẩn đoán và theo dõi điều trị ung thư

tụy, ống mật.

- Nồng độ CA 19-9 tương quan với giai đoạn ung thư.

CA 19-9

Chưa di căn Di căn hạch

Di căn gan

Giai đoạn

< 1.000 U/mL

> 1.000 U/mL

> 10.000 U/mL

Ung thư tụy ở giai đoạn sớm ít có dấu hiệu cảnh báo. Khi bệnh nhân có triệu chứng và nồng độ CA 19-9 cao thì ung thư tụy thường ở giai đoạn tiến triển rồi.

- Ung thư trực tràng, độ nhạy CA 19-9 kém hơn CEA vì CA 19-9 thường chỉ tăng ở giai đoạn cuối của ung thư. Tuy nhiên, độ đặc hiệu của CA 19-9 tốt hơn CEA nên xét nghiệm CA 19-9 cần thiết để phân biệt ung thư trực tràng với rối loạn tiêu hóa lành tính. - Ung thư dạ dày CA 19-9 là dấu ấn ung thư kết hợp với CA 72-4, CEA.

* Theo dõi điều trị:

- Xét nghiệm một tháng/ lần trong năm đầu điều trị và 2 tháng/ lần trong năm thứ 2 và sau đó 6 tháng/ lần.

- Khi có di căn tái phát CA 19-9 sẽ tăng > 1000 U/mL.

- CA 19-9 cũng tăng trong ung thư buồng trứng, ung thư phế quản, đặc biệt ung thư biểu mô tuyến và ung thư phổi không tế bào nhỏ chưa biệt hóa.

Tăng không do ung thư:

Nguyên nhân chủ yếu gây dương tính giả CA 19-9 là bệnh gan (viêm gan mạn, viêm gan nhiễm độc, xơ gan, ...), đặc biệt tắc mật và viêm tụy (có thể tới 500 U/mL). Tuy nhiên, đa số các tác giả chọn ngưỡng CA 19-9 là 200 U/mL để chẩn đoán ung thư tụy với độ đặc hiệu 91%.-

Suy thận cũng gây tăng nhẹ CA 19-9 nhưng thường <150 U/mL.

6.6.2. Carbohydrat antigen 72-4 (CA 72-4)

CA 72-4 là một chất nhầy (mucin) trọng lượng phân tử cao (>106.000 Da) và là dấu ấn thư đôi với ung thư dạ dày. Kháng nguyên polypeptid mô (TPA) là một protein của ung thư bào thai tương tự như CA 72-4 và sự tăng lên không đặc hiệu trong bệnh ung Giá trị tham chiếu: <6,9 ug/mL.

Chỉ định:

- Ung thư dạ dày với độ đặc hiệu cao, thường phối hợp với CEA và CA 19-9. - CA 72-4 cũng tăng trong ung thư vú, ung thư buồng trứng và ung thư phổi.

Tăng nhẹ gặp ở bệnh nhân có bệnh gan, suy thận mạn, viêm tụy.

- Một số rối loạn lành tính đường tiêu hóa (thường dưới 18 ng/mL).

- CA 72-4 tăng cao (có thể > 80 ng/mL) gặp ở bệnh nhân dùng thuốc omeprazole, corticosteroid, hoặc các thuốc kháng viêm không steroid (nonsteroidal Antiinflammatory drugs, NSAIDs).

6.7. Dấu ấn ung thư là các protein

Các protein này không phải enzym, không phải hormon và không có hàm lượng cao carbohydrat.

- B2-microglobulin

- C-peptid

- Ferritin

- Immunoglobulin

- Melanoma-associated antigen....

6.8. Dấu ấn ung thư là các thụ thể và một số loại khác

Các dấu ấn ung thư khác bao gồm catecholamine, polyamine, acid sialic liên quan với lipid và các thụ thể được sử dụng trên lâm sàng với mức độ giá trị khác nhau.

6.9. Dấu ấn ung thư là gen

Sự phát triển của khối u là hậu quả của sự biến đổi gen trong tế bào. Sự biến đổi gen này làm thay đổi sự chuyển dạng của tế bào, biến một tế bào lành thành tế bào ác tính. Chính vì vậy, việc đánh giá sự thay đổi về nhiễm sắc thể trong ung thư là một định hướng mới, một cách nhìn nhận mới về dấu ấn ung thư, khác với hướng tiếp cận về các dấu ấn ung thư trong huyết thanh mà chúng ta đang làm.

Có 2 nhóm gen có vai trò trong việc phát sinh và phát triển ung thư: gen ung thư (oncogene) là gen hoạt hóa tế bào và gen áp chế ung thư (suppressor genes). Các gen được hoạt hóa bởi các đột biến (đột biến điểm, đột biến thêm/xóa đoạn gen, đột biến chuyển đoạn hoặc đảo đoạn). Đa số các oncogene mã hóa các protein có vai trò trong một số giai đoạn hoạt hóa quá trình phân bào dẫn đến sự phân chia của tế bào. Đa số các oncogene liên quan đến các bệnh máu ác tính, ít liên quan đến các khối u đặc. Trong khi đó thì các gen áp chế ung thư thì lại liên quan nhiều đến các khối u đặc. Trong các khối u, các gen áp chế khối u thường bị mất hoặc bất hoạt, thay vì bị hoạt hóa như là các oncogene. Gen áp chế ung thư được biết đến nhiều là p53, là gen có chức năng sửa chữa các thương tổn của DNA bằng quá trình chết theo chương trình. Gen này mất chức năng khi bị đột biến hoặc mất hoàn toàn

(không được biểu hiện) làm cho quá trình sửa chữa DNA không thực hiện được dẫn đến ung thư hóa.

Her-2/neu thuộc gia đình EGF của thụ thể tyrosine kinase. Gia đình GF gồm 4 thành viên: thụ thể EGF (EGFR: còn được gọi là ErbB1/Her-1), ErbB2/Her-2/neu, ErbB3/Her-3 và ErbB4/Her-4. Her-2/neu tăng trong ung thư vú, buồng trứng và dạ dày ruột. Đối với thư vú, dấu ấn này có giá trị tiên lượng về mức độ sống thêm như kích thước khối u hoặc mức độ biểu hiện ER và PR song không có giá trị bằng số lượng hạch lympho liên quan đến quá trình di căn. Tăng nồng độ kháng nguyên Her-2/neu huyết thanh tương ứng với giảm đáp ứng với liệu pháp điều trị hormon đối với ung thư vú. 3 oncogen Her-2/neu, ras và c-myc có giá trị trong tiên lượng ung thư vú. Nồng độ p105 huyết thanh là chỉ số trọng nhất đối với bệnh nhân ung thư vú và ung thư buồng trứng. Trong ung thư vú nồng độ p105 tương ứng với tiên lượng xấu và thời gian sống thêm ngắn. Tăng Her-2/neu tương ứng với kích thước khối u, tình trạng hạch dương tính và điểm xếp hạng cao. Her-2/neu huyết thanh không chỉ có giá trị trong tiên lượng mà còn có tác dụng định hướng điều trị. Tăng Her-2/neu ở bệnh nhân có ER dương tính thì hiệu quả điều trị của liệu pháp hormon sẽ rất hạn chế. Ở bệnh nhân có Her-2/neu huyết thanh tăng thì sử dụng liệu pháp điều trị với chất ức chế aromatase hiệu quả hơn. Nồng độ Her-2/neu huyết thanh còn có tác dụng theo dõi hiệu quả điều trị. Herceptin chỉ được dùng đối với bệnh nhân ung thư vú có Her-2/neu tăng cao. Trong ung thư buồng trứng, tăng p105 tương ứng với tăng độ ác tính của khối u, giai đoạn tiến triển trên lâm sàng và tiên lượng xấu. Her-2/neu không có giá trị giúp chẩn đoán phân biệt ung thư buồng trứng với các khối u lành tính, song có thể giúp xác định nhóm bệnh nhân có nguy cơ cao. Protein Her-2/neu ở mô ung thư được xác định bằng kỹ thuật hóa mô miễn dịch. Mức độ sao chép gen Her-2/neu được xác định bằng FISH. ECD của Her-2/neu (p105) ở huyết thanh được xác định bằng ELISA và máy miễn dịch tự động.

6.9.2. BRCA1 và BRCA2

BRCA1 nằm ở nhiễm sắc thể 17q còn BRCA2 ở 13q12-13. BRCA1 mã hóa protein có 186 acid amin, đóng vai trò như một yếu tố sao chép. Việc phát hiện đột biến gen BRCA1 và BRCA2 cho phép xác định những cá thể mang gen đột biến của bệnh ung thư vú có tính chất gia đình. Ở Hoa Kỳ có khoảng 1/200 phụ nữ có đột biến gen BRCA1 ở tế bào mầm. Người mang gen BRCA1 đột biến có nguy cơ ung thư vú tới 85%, ung thư buồng trứng 45% vào tuổi 85. Tuy nhiên, các đột biến này cho đến nay vẫn chưa được sử dụng như một dấu ấn ung thư phục vụ cho chẩn đoán mà chỉ có tác dụng tư vấn và định hướng trên lâm sàng.

6.10. Các dấu ấn hỗn hợp khác

6.10.1. Dấu ấn tăng sinh mạch

Tăng sinh mạch là quá trình hình thành các mạch máu, được điều hòa và kiểm soát một cách chặt chẽ. Tuy nhiên, trong các mô khối u quá trình tăng sinh mạch bị rối loạn. Sự phát sinh và phát triển khối u liên quan đến các gen áp chế khối u và/hoặc sự hoạt hóa mất kiểm soát các gen gây ung thư. Giai đoạn tiếp theo của quá trình này là sự ác tính hóa và được gọi là “bước chuyển tăng sinh mạch” (angiogenic switch). Giai đoạn đầu của quá trình phát triển khối u là giai đoạn không có sự tăng sinh mạch với kích thước khối khoảng 1-2 mm. Giai đoạn tiếp theo là giai đoạn tăng sinh mạch với sự tăng sinh hệ thống mạch máu nhanh, ngoài khả năng kiểm soát. Kiến trúc của hệ thống mạch mới này của mô khối u hoàn toàn khác biệt với hệ thống mạch ở mô bình thường. Ở mô bình thường, có sự cân bằng giữa các tín hiệu tăng sinh mạch (VEGF, FGF, PDGFB, EGF, Ets-1 và LPA) và các tín hiệu kháng tăng sinh mạch (thrombospondin-1, angiotatin, endostatin, canstatin và tumstatin). Trong khối u, các tín hiệu tăng sinh mạch được tăng cường rất mạnh nên việc đo lường sự thay đổi này cung cấp những thông tin giá trị để đánh giá tiên lượng bệnh cũng như tình trạng khối u. Tăng VEGF (vascular endothelial growth factor) và sTie2 hòa tan (soluble Tie-2 receptor) trong máu tương ứng với sự phát triển và di căn của khối đó VEGF là dấu ấn quan trọng đánh giá tiên lượng. Ets-1 là một yếu tố sao chép có khả năng hoạt hóa nhiều gen tăng sinh mạch do vậy là một dấu ấn có giá trị tiên lượng của ung thư cổ tử cung. TSP-1 (thrombospondin-1) là dấu ấn tăng sinh mạch có giá trị trong tiên lượng ung thư đường dẫn sữa của vú. Nhiều dấu ấn tăng sinh mạch hiện đang được nghiên cứu để ứng dụng trong tiên lượng các loại hình ung thư.

6.10.2. Acid nucleic trong hệ tuần hoàn

DNA và RNA lưu hành tự do trong hệ tuần hoàn đã được phát hiện từ những năm 70 của thế kỷ trước nhưng phải đợi đến cuối những năm 80 thì các đặc tính của DNA nguồn gốc tế bào ung thư mới được ghi nhận. DNA và RNA lưu thông trong máu được đề nghị sử dụng như là dấu ấn cho một số loại hình ung thư. Điều quan trọng ở đây là làm thế nào để có thể phân biệt được DNA bình thường và DNA của tế bào ung thư. Các kỹ thuật phát hiện các đột biến ở DNA của tế bào ung thư lưu thông trong máu đã giải quyết được vấn đề then chốt này (ví dụ đột biến gen ras ở một số loại ung thư) như kỹ thuật phân tích microsatellite của DNA, kỹ thuật phát hiện chuyển đoạn nhiễm sắc thể, kỹ thuật xác định sự thay đổi yếu tố di truyền ngoài nhân (epigenetic) của DNA tự do này như thay đổi mức độ methyl hóa. Tuy nhiên, các kỹ thuật này đều là những kỹ thuật mới. Hy vọng trong thập kỷ

tới kỹ thuật xác định DNA của tế bào ung thư lưu thông tự do trong hệ tuần hoàn sẽ được đưa vào ứng dụng trên lâm sàng như những dấu ấn ung thư đặc hiệu.

6.10.3. Tế bào ung thư trong hệ tuần hoàn

Ám chỉ một cách gián tiếp sự tồn tại của ung thư trong cơ thể. Kỹ thuật phát hiện các tế bào này phục vụ cho chẩn đoán, tiên lượng và theo dõi điều trị. Đây là những kỹ thuật rất khó vì số lượng các tế bào ung thư trong hệ tuần hoàn rất nhỏ. Tuy nhiên, với tiến bộ của kỹ thuật PCR và các kỹ thuật nhận diện các gen có nguồn gốc từ tế bào bình thường hoặc tế bào ung thư cho phép phát hiện các tế bào ung thư lưu hành trong máu. Hướng tiếp cận khác sử dụng kỹ thuật phân tích dòng chảy dựa trên nguyên lý phân tách tế bào bằng từ tính cho phép phân lập các tế bào ung thư trong hệ tuần hoàn.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguyên lý của các dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư?
2. Trình bày nguồn gốc, vai trò của các dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư thường gặp?

BÀI 3. MỘT SỐ DẤU ÁN XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG NHIỄM KHUẨN

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được nguồn gốc, vai trò của các dấu ấn chỉ điểm nhiễm khuẩn
2. Trình bày được ứng dụng của xét nghiệm định lượng procalcitonin và CRP trên lâm sàng

*** Kỹ năng**

3. Trình bày được quy trình chẩn đoán các dấu ấn chỉ điểm nhiễm khuẩn

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

4. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập
5. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Procalcitonin

1.1. Nguồn gốc

Procalcitonin (PCT) là tiền chất của hormon calcitonin, được cấu tạo từ 116 acid amin. PCT thường được sản xuất bởi các tế bào C trong tuyến giáp và hiện diện trong máu với nồng độ thấp. Tuy nhiên, nó cũng có thể được sản xuất bởi các tế bào khác trong cơ thể như tế bào gan, phổi, monocyte... khi bị kích thích bởi một tổn thương nặng, đặc biệt trong nhiễm khuẩn toàn thân. Nội độc tố vi khuẩn, cytokin tiền viêm, IL-6 và TNF- α là những dẫn chất chính trong cơ chế tăng sinh PCT, nhưng nơi tổng hợp và giải phóng PCT chủ yếu vẫn là tại gan. Trong huyết tương, procalcitonin có thời gian bán hủy từ 19 đến 24 giờ. So với các marker khác, PCT có tính đặc hiệu cao khi đáp ứng với nhiễm khuẩn toàn thân nặng. Trong nhiễm khuẩn, nồng độ PCT sẽ gia tăng sau khoảng 2 giờ, trong khi đó CRP bắt đầu tăng sau khoảng 6 giờ. Với ưu điểm về động học như vậy nên PCT thích hợp được sử dụng để hướng dẫn điều trị và đánh giá tiên lượng bệnh. Khi tình trạng nhiễm khuẩn được hồi phục, PCT sẽ quay trở lại giá trị bình thường trong vài ngày.

1.2. Vai trò

PCT là dấu hiệu tiềm năng để đánh giá sự hiện diện, thanh thải và loại trừ nhiễm trùng do tác nhân vi khuẩn hay tác nhân khác. Việc thiếu cảm ứng PCT trong nhiễm virus liên quan đến sản xuất (IFN -g) trong các tế bào bị nhiễm vi rút, ức chế sản xuất PCT. Các nghiên cứu chỉ ra rằng PCT là dấu hiệu hữu ích trong việc loại trừ nhiễm khuẩn máu và dự đoán nhiễm khuẩn máu nặng. Dự đoán tỉ lệ tử vong, hướng dẫn quản lý kháng sinh.

PCT có thể được phát hiện từ 3 đến 4 giờ sau khi bị nhiễm trùng, sau khi giải phóng TNF- α ở 90 phút và IL-6 ở 3 giờ. Nó đạt cực đại từ 6 đến 12 giờ và có chu kỳ bán rã khoảng 24 giờ. Cấu hình động học thuận lợi này, cùng với tính đặc hiệu và độ nhạy của nó đối với nhiễm vi khuẩn làm cho nó phù hợp để chẩn đoán và theo dõi tiến triển của bệnh

1.3. Ứng dụng lâm sàng

Procalcitonin (PCT) là một xét nghiệm được sử dụng để chẩn đoán và theo dõi tình trạng viêm do nhiễm khuẩn được chỉ định:

- Chẩn đoán phân biệt viêm do nhiễm khuẩn và viêm không do nhiễm khuẩn.
- Theo dõi các bệnh nhân có nguy cơ nhiễm khuẩn, phát hiện các nhiễm khuẩn ảnh hưởng hệ thống hoặc các biến chứng của nhiễm khuẩn, đặc biệt trong nhiễm khuẩn huyết.

- Đánh giá tiên lượng và diễn biến của các bệnh viêm nặng như viêm phúc mạc, nhiễm khuẩn, hội chứng đáp ứng viêm hệ thống và hội chứng suy đa tạng.
- Chỉ dẫn, đánh giá hiệu quả sử dụng kháng sinh trong điều trị nhiễm khuẩn.

Giá trị nồng độ PCT được khuyến cáo theo Hiệp hội nhiễm khuẩn Đức năm 2006 (xuất bản các hướng dẫn cho chẩn đoán và điều trị nhiễm khuẩn) như sau:

1. Giá trị bình thường: PCT < 0,05 ng/ml
2. PCT < 0,10ng/ml: Không chỉ định dùng kháng sinh
3. PCT < 0,25ng/ml: Không khuyến cáo dùng kháng sinh, nếu trị liệu giảm xuống mức này thì tiếp tục dùng cho hiệu quả.
4. PCT > 0,25ng/ml: Khuyến cáo và cân nhắc sử dụng kháng sinh.
5. PCT > 0,50 ng/ml: Chỉ định kháng sinh là bắt buộc.
6. PCT 0,50 - 2,0 (ng/ml): Nhiễm khuẩn do đáp ứng viêm hệ thống, nguyên nhân có thể là chấn thương, phẫu thuật sau chấn thương, sốc tim...
7. PCT 2,0 - 10 (ng/ml): Đáp ứng viêm hệ thống nghiêm trọng (SIRS), nguyên nhân bởi nhiễm trùng hệ thống và nhiễm khuẩn huyết, chưa có suy đa tạng.
8. PCT > 10 ng/ml: Đáp ứng viêm hệ thống sâu do nhiễm khuẩn huyết nghiêm trọng hoặc sốc nhiễm khuẩn.

1.4. Định lượng Procalcitonin

* Nguyên lý:

procalcitonin được định lượng bằng phương pháp Miễn dịch điện hóa phát quang ECLIA (electrochemiluminescence immunoassay) trên các máy phân tích miễn dịch hoàn toàn tự động của Roche.

* Các yếu tố ảnh hưởng và hạn chế đến xét nghiệm PCT trong máu

- Xét nghiệm không bị ảnh hưởng bởi vàng da (billirubin < 428 μ mol/L hoặc < 25 mg/dL), tán huyết (Hb <0.559 mmol/L hoặc <0.900 g/dL), lipid huyết (Intralipid< 1500 mg/dL) và biotin (<123 nmol/L hoặc <30 ng/mL).
- Tiêu chuẩn: Độ phục hồi trong khoảng $\pm 15\%$ giá trị ban đầu.
- Ở bệnh nhân dùng liều cao biotin (nghĩa là >5 mg/ngày), không nên lấy mẫu cho đến ít nhất 8 giờ sau khi dùng liều biotin cuối.
- Kết quả xét nghiệm không bị nhiễu bởi các yếu tố thấp khớp với nồng độ lên đến 1500 IU/mL.
- Hiệu ứng mẫu phẩm có nồng độ cao không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm với nồng độ PCT lên đến 1000 ng/mL.
- Thử nghiệm in vitro được tiến hành trên 18 loại dược phẩm thường sử dụng và 10 loại dược phẩm đặc trị. Không có hiện tượng nhiễu tới xét nghiệm.
- Trong một số hiếm trường hợp, nhiễu có thể xảy ra do nồng độ kháng thể kháng kháng thể đặc hiệu kháng chất phân tích, kháng streptavidin hay ruthenium quá cao của mẫu phẩm phân tích. Xét nghiệm đã được thiết kế phù hợp để giảm thiểu các hiệu ứng này.

2. CRP

2.1. Nguồn gốc

CRP là một glycoprotein được gan sản xuất có đặc điểm là kết hợp với polysaccharide C của phế cầu, bình thường không thấy protein này trong máu. Tình trạng viêm cấp với phá hủy mô trong cơ thể sẽ kích thích sản xuất protein này và gây tăng nhanh nồng độ protein phản ứng C trong huyết thanh. Xét nghiệm CRP là xét nghiệm định lượng Protein phản ứng C (C – reactive protein [CRP]).

Có hai loại protein phản ứng C có thể định lượng được trong máu:

- Protein phản ứng C chuẩn (standard CRP): đánh giá tình trạng viêm tiến triển.
- Protein phản ứng C siêu nhạy (high – sensitivity CRP [hs – CRP]) : chất này được coi như chất chỉ điểm đối với tình trạng viêm mạch

2.2. Vai trò

CRP điển hình sẽ tăng lên trong vòng 6 giờ kể từ khi có tình trạng viêm.

Định lượng các loại protein phản ứng C có thể cung cấp các thông tin hữu ích.

+Protein phản ứng C chuẩn (standard CRP) được sử dụng để:

- Đánh giá mức độ tiến triển của phản ứng viêm nhất là đối với bệnh lý mãn tính như bệnh lý ruột do viêm, viêm khớp và các bệnh tự miễn.
- Đánh giá một nhiễm trùng mới như trong viêm ruột thừa và các tình trạng sau mổ.
- Theo dõi đáp ứng với điều trị của các tình trạng bệnh lý nhiễm trùng (nhất là nhiễm trùng do vi khuẩn) và viêm.

+ Protein phản ứng C siêu nhạy (hs – CRP) là một yếu tố chính gây tình trạng xuất hiện và đứt rách mỏng ở mạch.

- Tăng nồng độ hs –CRP dự báo bệnh nhân có nguy cơ tăng các sự cố. Vì vậy xét nghiệm này được dùng để đánh giá các nguy cơ bị các sự cố tim mạch khi nó được làm đồng thời với các xét nghiệm đánh giá nguy cơ mạch vành khác như định lượng nồng độ cholesterol máu.

2.3. Ứng dụng lâm sàng

*** Chỉ định xét nghiệm CRP**

- Kiểm tra tình trạng nhiễm trùng hậu phẫu: Nồng độ CRP thường tăng trong khoảng 2 - 6 giờ sau phẫu thuật và sẽ giảm xuống vào ngày thứ 3 sau mổ. Nếu nồng độ CRP tăng kéo dài hơn 3 ngày sau phẫu thuật, tình trạng nhiễm trùng mới có thể đã xuất hiện.

- Xác định, phát hiện nhiễm trùng và các bệnh lý gây viêm như: ung thư hạch bạch huyết, bệnh của hệ thống miễn dịch (lupus), viêm và xuất huyết ruột, viêm khớp dạng thấp, nhiễm trùng xương (viêm tủy xương).

- Đánh giá khả năng đáp ứng điều trị, đặc biệt là điều trị ung thư hay điều trị nhiễm trùng. Nồng độ CRP sẽ tăng lên nhanh và giảm xuống bình thường nhanh nếu bệnh nhân đáp ứng tốt với việc điều trị.

*** Giá trị bình thường**

- CRP để đánh giá tình trạng viêm: 0 -10 mg/dl hay <10mg/l

- Hs –CRP: để đánh giá nguy cơ bệnh tim mạch:

+ < 1.0 mg/l: nguy cơ thấp

+ 1,0-3,0 mg/l: nguy cơ trung bình

+ >3.0 mg/l: nguy cơ cao nhất

2.4. Định lượng CRP

*** Phương pháp xét nghiệm**

- Miễn dịch điện hóa phát quang.

- Elisa.

- Phương pháp miễn dịch đo độ đục.

*** Cách lấy bệnh phẩm**

- Bệnh phẩm có thể là huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng Heparin, EDTA.

- Không có khuyến cáo nhịn ăn trước khi lấy mẫu làm xét nghiệm.

- Mẫu được bảo quản ở nhiệt độ phòng trong vòng 24h.

* Các yếu tố ảnh hưởng đến kết quả

- Nồng độ CRP cao thường gặp ở bệnh nhân huyết áp cao, chỉ số khối cơ thể (BMI) cao, mắc hội chứng chuyển hóa chất/đái tháo đường, nhiễm trùng mạn tính (viêm phế quản, viêm lợi), viêm mãn tính (như viêm khớp dạng thấp) và nồng độ HDL thấp, triglyceride cao.

Chỉ số CRP thấp hoặc cao có thể do sự tác động của nhiều yếu tố khác nhau:

- Nồng độ CRP có thể tăng khi phụ nữ bước sang giai đoạn sau của thai kỳ, sử dụng thuốc tránh thai hoặc liệu pháp hormone.

- Nồng độ CRP cao ở người béo phì.

- Hút thuốc lá có thể làm tăng nồng độ CRP.

- Nồng độ CRP thấp có thể do uống bia rượu vừa phải, sụt cân và hoạt động nhiều, tập thể dục lâu dài.

- Thuốc bổ sung estrogen và progesterone có thể làm tăng nồng độ CRP.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguồn gốc, vai trò của các dấu ấn chỉ điểm nhiễm khuẩn?

2. Trình bày ứng dụng của xét nghiệm định lượng procalcitonin và CRP trên lâm sàng?

BÀI 4. KHÍ MÁU VÀ THĂNG BẰNG ACID - BASE

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được định nghĩa, nguyên nhân, cơ chế bù trừ của các rối loạn thăng bằng acid base: nhiễm acid chuyển hóa, nhiễm kiềm chuyển hóa, nhiều acid hô hấp, nhiễm kiềm hô hấp
2. Trình bày được quy trình thu thập mẫu bệnh phẩm và vận chuyển, bảo quản mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm khí máu

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

3. Chủ động tìm kiếm tài liệu, trang bị kiến thức trước giờ học
4. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

NỘI DUNG

1. Các rối loạn thăng bằng acid - base

Sự rối loạn thăng bằng acid-base trong cơ thể có thể ảnh hưởng tới mọi quá trình chuyển hoá. Do vậy việc phát hiện sớm và điều trị kịp thời cho người bệnh là một vấn đề quan trọng trong hồi sức cấp cứu.

1.1. Nhiễm acid chuyển hóa

Nhiễm acid chuyển hóa được định nghĩa là sự giảm pH máu do giảm bicarbonat. Nguyên nhân có thể do tăng tạo acid nội sinh hoặc nhiễm acid ngoại sinh, hoặc mất bicarbonat.

Các nguyên nhân của nhiễm acid chuyển hóa là thay đổi nhưng nhìn chung chia làm 2 loại:

- Nhóm clo máu bình thường: khoảng trống anion tăng và clo máu bình thường. gặp trong các tình trạng bệnh lý tăng các acid hữu cơ làm tăng khoảng trống anion như: suy thận, nhiễm toan ceton, nhiễm độc salicylat, nhiễm toan acid lactic.

- Nhóm clo máu tăng: khoảng trống anion bình thường và clo máu tăng. Nguyên nhân thường do mất bicarbonat trực tiếp hoặc tăng thêm các acid như HCl. Mất bicarbonat có thể qua đường tiêu hóa do tiêu chảy hoặc qua thận trong nhiễm toan ống thận.

* Các nguyên nhân của nhiễm acid chuyển hóa

Bệnh toan acid lactic

Ngộ độc salicylat

Suy thận

Nhiễm toan ống thận

Nhiễm toan ceton trong ĐTĐ

Thiếu oxy mô

Ngộ độc methanol và ethylene glycol

Thuốc ức chế carbonic anhydrase

Tiêu chảy

Viêm đại tràng

Uống clorua amon

Giảm tiết aldosteron

Uống acid

Suy thận mạn Cường cận giáp

Cường giáp

* Phản ứng bù trong nhiễm toan chuyển hóa: phản ứng bù do hoạt động của cơ quan hô hấp và thận. Phổi tăng thông khí để đào thải CO₂ làm pCO₂ giảm và vì vậy acid carbonic làm giảm tỷ số HCO₃⁻ /HCO₃ gần về bình thường và vì vậy làm pH tăng. Việc bù bởi phổi sẽ bắt đầu khi pH thấp kích thích receptor hóa học và hoàn toàn trong vòng 12-24h. Thận hoạt động bù hiệu quả hơn khi nhiễm toan chuyển hóa không phải do bệnh thận. Thận tăng bài tiết acid và tăng tái hấp thu bicarbonat. Hoạt động này cần 2-4 ngày để đạt mức tối đa.

* Các biến đổi về xét nghiệm: nồng độ bicarbonat giảm, pCO₂ giảm khi phổi có hoạt động bù, nước tiểu acid khi có hoạt động bù của thận. pH máu giảm trước khi có bù, trở về bình thường hoặc giảm nhẹ sau bù. CO₂ toàn phần giảm do bicarbonat và/hoặc pCO₂ giảm. Clo có thể tăng nếu nhiễm acid do mất bicarbonat (vd trong tiêu chảy), Kali có thể giảm trong nhiễm toan ống thận hoặc trong tiêu chảy hay trong nhiễm toan ceton do đái tháo đường.

1.2. Nhiễm kiềm chuyển hóa

Nhiễm kiềm chuyển hóa là sự tăng pH do dư thừa bicarbonat. Nhiễm kiềm chuyển hóa do dùng nhiều chất kiềm, mất H⁺ hoặc mất K⁺. Nhiễm kiềm cấp có thể do nôn nhiều hoặc dùng chất kiềm hay chất kháng acid. Nhiễm kiềm mạn do điều trị steroid, bệnh Cushing, cường aldosterol, dùng cam thảo nhiều dài ngày.

*** Các nguyên nhân gây nhiễm kiềm chuyển hóa**

Uống nhiều bicarbonat

Truyền máu

Hội chứng sữa-kiềm

Nôn

Đặt ống thông mũi-dạ dày

Lạm dụng cam thảo

Hội chứng Cushing Cường tiết aldosteron Điều trị steroid

Lợi tiêu

Hoạt động bù: trong nhiễm kiềm chuyển hóa, tỷ số bicarbonat/acid carbonic lớn hơn 20/1. Thận tăng bài tiết bicarbonat hoặc phổi giữ lại CO₂ để thiết lập lại tỷ số này đưa pH về gần 7,4.

Khi pH cao sẽ ức chế trung tâm hô hấp, làm giảm thông khí gây tăng pCO₂ và vì vậy sẽ làm pH giảm xuống. Cơ chế bù bởi phổi trong nhiễm kiềm chuyển hóa kém hiệu quả hơn cơ chế bù của phổi trong rối loạn acid - base tiên phát khác. Giảm thông khí cũng gây giảm pCO₂.

Thận sẽ tăng đào thải bicarbonat, giữ lại H⁺. Cơ chế bù của thận sẽ bị ức chế nếu nhiễm kiềm do các corticoid chuyển hóa muối nước. Cơ chế bù bởi thận hiệu quả khi nhiễm kiềm do giảm lượng K⁺ đưa vào, nôn.

* Các xét nghiệm: nồng độ bicarbonat giảm, pCO₂ máu động mạch bình thường hoặc tăng nhẹ nếu có hoạt động bù của phổi xảy ra, thực tế hiếm khi pCO₂ trên 60 mmHg, pH máu tăng khi chưa có bù hoặc bù một phần, pH trở về bình thường khi bù hoàn tất, K⁺ và Cl⁻ giảm.

pH niệu thường kiềm do giảm bài tiết H⁺ và tăng bài tiết bicarbonat. Tuy nhiên, trong trường hợp thiếu K⁺, pH niệu có thể acid vì H⁺ là ion trao đổi với Na⁺ khi không có đủ K⁺.

Nhiễm kiềm chuyển hóa có thể phân thành các tạp khác nhau dựa trên Cl⁻ niệu. Cl⁻ niệu < 20 mmol/L chỉ điểm cho mất Cl⁻ do nôn hay đặt ống thông dạ dày hoặc chế độ ăn không đủ Cl⁻. Cl⁻ niệu > 20 mmol/L thường do dư thừa corticoid chuyển hóa muối nước.

1.3. Nhiễm acid hô hấp

Nhiễm acid hô hấp là sự giảm pH máu do ứ đọng CO₂ (pCO₂ tăng). Nhiễm acid hô hấp là hậu quả của thông khí kém, có thể cấp hoặc mạn tính.

Nhiễm acid hô hấp cấp tính do ức chế receptor hô hấp, rối loạn hệ thần kinh cơ, phù phổi cấp. Nhiễm acid hô hấp mạn gặp trong các rối loạn ảnh hưởng đến khả năng đào thải CO₂ của phổi: hen, viêm phổi, ngừng thở, tim nhanh, phù phổi, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, tắc nghẽn đường dẫn khí.

Phù phổi

* **Các nguyên nhân của nhiễm acid hô hấp**

Bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính

Viêm phổi

Tràn khí màng phổi

Phù phổi
Chấn thương thần kinh trung ương
Chất gây nghiện
Gây mê toàn thân
Hội chứng Guillain-Barre
Nhược cơ
Hít lại thở khí ra
Tăng carboxy hemoglobin
Hội chứng suy hô hấp

* Hoạt động bù: hoạt động bù chủ yếu là bù bởi thận bằng cách giữ lại bicarbonat mặc dù cũng có hoạt động bù bởi phổi. Nếu nguyên nhân tiên phát không phải do tổn thương trung tâm hô hấp, tăng CO₂ máu kích thích phổi tăng thải CO₂ qua tăng thông khí. Tăng thông khí làm giảm pCO₂, làm cho pH trở về gần bình thường.

Thận bù trừ bằng tăng trao đổi Na* và H* làm tăng bài xuất H* và giữ Na*, giữ lại bicarbonat, tăng tạo amon. Clo máu giảm do clo trao đổi với bicarbonat và bài xuất cùng H⁺ và NH₄⁺. Bù bởi phổi có hiệu quả sau 6-12h và đạt tác dụng tối ưu sau 2-3 ngày, tối đa sau 5 ngày. Trong nhiễm toan hô hấp mạn tính, sự bù bởi thận sẽ không thể đưa pH về bình thường hiệu quả như trong nhiễm acid hô hấp cấp tính..

* Các xét nghiệm: các xét nghiệm ban đầu cho thấy pH giảm, pCO₂ tăng và tăng bicarbonat khi có bù mặc dù sự tăng bicarbonat là rất nhỏ so với sự tăng pCO₂. pH máu hiếm khi dưới 7,3 và pH dưới 7,2 là chỉ điểm cho nhiễm acid hỗn hợp chuyển hóa và hô hấp.

Các xét nghiệm đánh giá chức năng phổi, điện giải huyết thanh, khí máu giúp cho chẩn đoán. Mức bão hòa oxy và pO₂ giảm, đặc biệt trong nhiễm toan hô hấp mạn tính. Giảm oxy mô do mức bão hòa oxy và pO₂ thấp cũng có thể gây nhiễm toan acid lactic, làm giảm thêm pH máu và hức tạp thêm các xét nghiệm chẩn đoán. Cl máu giảm khi bicarbonat tăng. Kali máu có thể tăng nếu K⁺ nội bào trao đổi với H⁺ ngoại bào, nhưng điều này không đoán trước được.

1.4. Nhiễm kiềm hô hấp

Nhiễm kiềm hô hấp được định nghĩa là sự giảm CO₂ tiên phát làm tăng pH máu. Nhiễm kiềm hô hấp thường do kích thích receptor hóa học trung gian hô hấp gây tăng thông khí. Nguyên nhân có thể do tâm thần như lo lắng, hốt hoảng, hysteria, căng thẳng hoặc thiếu oxy hay tổn thương trung tâm kiểm soát hô hấp của hệ thần kinh trung ương. Thiếu oxy có thể do viêm phổi, hen, nghẽn mạch phổi, tràn khí màng phổi. Tổn thương hệ thần kinh trung ương gây kích thích receptor hóa học có thể gặp trong viêm màng não, tai biến mạch não. Vì vậy, một vài bệnh

phổi có thể gây hoặc nhiễm acid hô hấp nếu tăng CO₂, do giảm thông khí, hoặc nhiễm kiềm hô hấp nếu bệnh nhân tăng thông khí để tăng lượng oxy.

*** Các nguyên nhân gây nhiễm kiềm hô hấp**

Lo lắng, căng thẳng hoặc hysteria

Thiếu oxy

Suy giảm kiểm soát hô hấp của thần kinh trung ương Viêm phổi

Hen

Nghẽn mạch phổi

Tràn khí màng phổi...

Tăng thông khí và nhiễm kiềm hô hấp có thể do khóc nhiều, có thai, các biện pháp hô hấp cơ học hỗ trợ quá mức. Các trạng thái tăng chuyển hóa (như niêm độc giáp, sốt, thể dục, nhiễm khuẩn huyết do VK gram âm) gây tăng thông khí cũng có thể gây nhiễm kiềm chuyển hóa. Ngộ độc rượu cấp hoặc mê sảng cũng có thể gây tăng thông khí.

Epinephrin kích thích receptor hóa học và tăng thông khí, đôi khi cũng gây nhiễm kiềm hô hấp. Ngộ độc salicylat (quá liều aspirin) mới đầu cũng gây nhiễm kiềm hô hấp do kích thích receptor hóa học, sau đó gây nhiễm acid chuyển hóa do salicylat tích lũy trong cơ thể. Như vậy ngộ độc salicylat gây nhiễm kiềm hô hấp và nhiễm toan chuyển hóa, xét nghiệm pCO₂ thấp với pH bình thường.

Những người sống ở vùng cao có tăng thông khí mạn do thiếu oxy, kích thích receptor hóa học và gây nhiễm kiềm hô hấp mạn tính có bù. Nhiễm kiềm hô hấp còn gặp trong bệnh gan mạn, tổn thương trung tâm hô hấp, thiếu máu, suy tim sung huyết – các nguyên nhân dẫn đến suy tim sung huyết.

* Hoạt động bù: vì nguyên nhân của nhiễm kiềm hô hấp chủ yếu là tăng thông khí. Nếu receptor hóa học không đáp ứng với pO₂ cao và pCO₂ thấp khi nhiễm kiềm hô hấp thì thành acid carbonic nhờ các hệ đệm Hb, protein, phosphat cung cấp H⁺. Nhờ vậy làm giảm sẽ bù bởi cơ chế chuyển hóa theo hai giai đoạn. Trong giai đoạn thứ nhất, bicarbonat chuyển pH. Khi nhiễm kiềm hô hấp kéo dài, giai đoạn thứ hai là bù bởi thận giảm bài tiết H⁺ và ăng bài xuất bicarbonat như trong nhiễm kiềm chuyển hóa. Cơ chế bù này rất hiệu quả làm pH trở về bình thường.

H⁺ trong tế bào cung cấp cho việc đệm sẽ được thay thế bởi K⁺ làm giảm K⁺ máu. Vì bicarbonat được bài tiết nhiều hơn, lượng K⁺ và H⁺ để bài tiết trao đổi với NaHCO₃ giảm, nhiều Cl⁻ được tái hấp thu.

* Các xét nghiệm: pCO₂ giảm, pH tăng và bicarbonat giảm khi có bù. CO₂ toàn phần giảm vì pCO₂ và/hoặc bicarbonat giảm. pH máu kiềm khi trên 7,6. Nước tiểu kiềm hóa do bicarbonat tăng.

Điện giải đồ cho thấy tăng Cl và giảm nhẹ K⁺ máu. Có sự tăng nhẹ anion gap do tăng đường phân và tạo acid lactic do thiếu oxy và giảm dòng máu tới gan. Sự giảm bicarbonat và tăng Cl giống như nhiễm toan chuyển hóa tăng Cl máu, tuy nhiên pH và pCO₂ giúp phân biệt hai rối loạn này (pH máu tăng trong nhiễm kiềm và giảm trong nhiễm toan, pCO₂ sẽ bình thường hoặc giảm trong nhiễm acid chuyển hóa, pCO₂ giảm trong nhiễm kiềm chuyển hóa).

Trong nhiễm kiềm kéo dài, thể ceton sẽ tăng vì giảm sử dụng carbohydrat. Phosphat có thể giảm, calci tăng.

Khí máu động mạch sẽ góp phần chẩn đoán nhiễm kiềm. Với pH máu tăng, pCO₂ giảm, kèm theo pO₂ thấp chỉ điểm cho thiếu oxy là nguyên nhân. pO₂ bình thường thì nhiễm kiềm hô hấp là do các nguyên nhân khác gây tăng thông khí.

2. Thu thập và vận chuyển mẫu bệnh phẩm

Mẫu bệnh phẩm dùng phân tích các rối loạn acid-base có thể là máu động mạch hoặc tĩnh mạch. Vì việc thu thập và vận chuyển mẫu bệnh phẩm ảnh hưởng rất nhiều tới chất lượng xét nghiệm khí máu, do vậy thu thập và vận chuyển mẫu bệnh phẩm cần rất cẩn thận. Phân tích khí máu thường bao gồm các chỉ số sau: pH, pCO₂, pO₂, độ bão hòa oxy, nhưng để phân tích đầy đủ các rối loạn khí máu, việc định lượng các chất điện giải và CO₂ rất cần thiết. Bệnh nhân cần phải bình tĩnh khi lấy máu vì sự lo lắng và sợ hãi, đau đớn làm tăng thông khí, có thể dẫn đến nhiễm kiềm hô hấp, làm sai lệch kết quả khí máu của bệnh nhân.

2.1. Máu động mạch

Vì việc lấy máu động mạch có thể nguy hiểm cho bệnh nhân, chỉ những người có kinh nghiệm được huấn luyện đầy đủ mới nên lấy máu động mạch. Máu được lấy hút đầy bơm tiêm nhựa hoặc thủy tinh bởi áp lực động mạch, không tạo ra áp lực âm hoặc dùng ống chân không. Áp lực âm không chỉ làm giảm lượng khí trong máu gây pO₂ và pCO₂ giảm mà nó còn tạo ra một khoảng không làm các khí trong máu có thể thoát vào đó.

Chất chống đông được lựa chọn là heparin dạng lỏng. Tuy nhiên, vì lượng lớn chất chống đông có thể làm máu bị loãng và gây tăng pCO₂, tốt nhất là tráng bơm tiêm bằng heparin trước khi lấy máu hoặc dùng bơm tiêm tráng heparin.

Ngay sau khi lấy máu, đẩy tất cả các bọt khí ra và rút kim tiêm, bơm tiêm được nút kín lại. Lắc kỹ bơm bằng cách xoay tròn nhẹ trong lòng bàn tay vài giây. Kim cần phải bỏ đi và chỉ gửi bơm tiêm được nút kín lại đến phòng xét nghiệm.

Bơm tiêm thủy tinh không thuận lợi vì giá thành cao và không an toàn nhưng lại ít bọt khí được tạo trong thành bơm và ít ma sát khi rút bơm. Tuy nhiên, bơm

nhựa không thấm khí và rẻ tiền hơn, dùng một lần rồi bỏ đi nên ít nguy cơ truyền bệnh truyền nhiễm.

Nếu bệnh nhân cần làm khí máu nhiều lần, tốt nhất nên đặt cathete động mạch để thuận lợi cho quá trình lấy máu, không gây phiền hà cho bệnh nhân.

2.2. Máu tĩnh mạch

Máu tĩnh mạch có thể dùng để phân tích khí máu. Vì khoảng tham chiếu của máu động mạch và máu tĩnh mạch là khác nhau, cần phải ghi rõ máu động mạch hay tĩnh mạch trên tờ chỉ định xét nghiệm. Mặc dù ống đựng bệnh phẩm có chứa heparin có thể chấp nhận đựng máu tĩnh mạch để phân tích khí máu, áp lực âm của ống chân không này có thể làm thoát khí khỏi khí máu, vì vậy nên dùng bơm kim tiêm lấy máu để kết quả chính xác hơn. và làm các sản phẩm chuyển hóa acid tích tụ lại gây giảm pH máu. Máu cần được rút ra Không nên garo lâu vì ứ máu làm giảm áp lực Oz máu tĩnh mạch, tăng pCO₂ máu tĩnh mạch sau vài giây garo càng sớm càng tốt khi máu bắt đầu chảy. Hơn nữa, vận cơ làm giảm pO₂ và pH, bệnh nhân không nên nắm chặt tay lại. Trong trường hợp cần lấy nhiều ống máu, ống chân không heparin cần được lấy đầu tiên.

2.3. Máu mao mạch

Ở trẻ máu toàn phần có thể lấy bằng máu mao mạch ở bàn chân. Cần làm ấm vị trí chọc trước khi lấy máu bằng khăn ấm, ẩm. Vết chọc phải đủ sâu để tạo ra dòng máu mao mạch chảy tự do. Giọt đầu tiên chứa dịch mô và cần phải bỏ đi. Máu cần thu thập thật nhanh vào ống mao quản chứa heparin, trong có chứa một thanh sắt bé để dễ dàng trộn đều bằng nam châm. Cần thận trọng khi lấy máu trực tiếp từ vị trí chọc vì máu lan rộng ra xung quanh vị trí chọc làm tăng trao đổi oxy và carbonic với không khí xung quanh. Sau khi đã lấy đủ máu, ống mao quản cần được nút chặt 2 đầu lại, cần chuyển nhanh đến phòng xét nghiệm và phân tích ngay lập tức.

2.4. Thận trọng khi thu thập và vận chuyển mẫu bệnh phẩm phân tích khí máu

Vận chuyển và phân tích mẫu máu làm xét nghiệm khí máu cần tiến hành nhanh chóng, máu cần được bảo quan trong môi trường kỵ khí. Máu để tiếp xúc với không khí gây tăng pO₂ và giảm pCO₂, tăng pH. Sự thay đổi này là do sự khác nhau giữa áp lực khí trong máu và khí quyển. Ví dụ, pCO₂ trong không khí thấp, CO₂ trong máu sẽ khuếch tán từ nơi có áp lực cao hơn đến nơi có áp lực thấp hơn. Oxy sẽ khuếch tán từ không khí vào máu, vì máu tĩnh mạch có nồng độ oxy thấp nên máu tĩnh mạch khi để tiếp xúc với không khí sẽ bị tăng oxy nhiều hơn máu động mạch. Ngay cả trong môi trường yếm khí, hô hấp tế bào làm giảm pO₂, đặc biệt ở

hiệt độ cao, vì vậy mẫu máu cần được vận chuyển và phân tích càng nhanh càng tốt.

Nhiệt độ càng cao, các thay đổi về khí máu càng nhiều. Do vậy, máu cần được vận chuyển ở 4°C, tốt nhất là trong đá vụn vì đá vụn sẽ đảm bảo nhiệt độ 4°C tốt hơn nước lạnh và đá viên. Huyết tương kiềm hơn máu toàn phần, vì vậy cần trộn kỹ mẫu máu trước khi phân tích.

*** Các nguyên nhân gây sai số khi phân tích khí máu:**

- Không khí trong mẫu
- Chậm làm xét nghiệm
- Tác động của heparin
- Đau và lo lắng gây tăng thông khí
- Lỗi kỹ thuật
- Nhiệt độ
- Mẫu không được trộn
- Hút máu bằng chân không

Bicarbonat

Vì ít nhất 90% khí carbonic dưới dạng bicarbonat, việc đo lường bicarbonat xấp xỉ như CO₂ toàn phần. Phần còn lại là CO₂ hòa tan và acid carbonic, các nhóm carbamin. Định lượng bicarbonat có thể tiến hành trên huyết thanh hoặc huyết tương. Ống chống đông bằng heparin là thích hợp nhất, ống đựng bệnh phẩm phải được nút kín và để ở 4°C sau khi lấy máu vì CO₂ mất đi trong không khí và bicarbonat chuyển thành acid carbonic, acid carbonic sau đó phân ly thành nước và CO₂. Vì vậy, mẫu không đậy nắp, đặc biệt để ở nhiệt độ phòng, sẽ giảm CO₂ giả tạo vì pCO₂ giảm.

Tác dụng của độ cao

Ở độ cao như Denver, Colorado, người dân thường có pO₂ máu là 65-75 mmHg và mức bão hòa oxy từ 92-94%, thấp hơn so với những người sống ở vùng biển. Sự thay đổi này do pO₂ trong khí quyển thấp khi lên cao. Sự tăng thông khí sẽ bù cho pO₂ thấp và đồng thời giảm pCO₂ (34-38 mmHg). Mức carbonic và pH về cơ bản là tương tự như người sống ở vùng thấp.

3. Kỹ thuật phân tích khí máu

3.1. Phương pháp điện thế

Khí máu được đo bằng phương pháp điện thế. Phương pháp dựa trên sự chênh lệch điện thế giữa hai điện cực nhúng trong các dung dịch muối dưới điều kiện dòng điện bằng 0 và phân cách bởi màng. Dung dịch muối cùng với hai điện cực – điện cực chỉ thị và điện cực tham chiếu – được gọi là tế bào điện hóa.

Điện cực chỉ thị có màng nhạy cảm với ion đo lường một cách chọn lọc. Khi có sự thay đổi nồng độ các ion ở một phía của màng như khi đặt điện cực chỉ thị vào mẫu bệnh phẩm, điện thế qua màng được tạo ra. Điện thế sinh ra liên quan tới cả thành phần của màng và nồng độ ion ở các phía của màng. Điện thế sinh ra được so sánh với điện thế không đổi của điện cực chuẩn. Màng đo nồng độ H^+ , pH, làm bằng thủy tinh nhạy cảm với H^+ .

Thiết bị điện cực chọn lọc ion đo nhiều chất điện giải khác nhau sử dụng các màng khác nhau. Màng đo Na^+ là lithium aluminum hoặc thể mang ion sodium. Màng đo K^+ chứa kháng sinh valinomycin. Màng trạng thái cứng là các tinh thể đơn hoặc tinh thể mịn cố định trong chất trơ.

Điện cực tham chiếu bao gồm kim loại và muối tiếp xúc với dung dịch có chứa anion tương tự điện cực chỉ thị. Điện cực này tạo ra điện thế không đổi. Điện cực hay sử dụng nhất để đo pH là calomel, là hỗn hợp $HgCl_2$ và KCl . Điện cực $Ag/AgCl$ cũng thường được dùng trong một số máy. Câu muối trong điện cực tham chiếu giúp hoàn thành một dòng điện giữa điện cực và dung dịch mẫu bệnh phẩm và cho phép đo lường điện thế bằng vôn kế

Lực điện động sinh ra bởi ion H^+ ở màng điện cực chỉ thị được mô tả bởi phương trình Nernst:

$$E_s = A = \frac{RT}{F} \ln(a_{H^+ \text{ ext}}/a_{H^+ \text{ int}}) \text{ hoặc } A_{pH} \times 0,05916$$

Trong đó: E_s là sự khác biệt về điện thế qua màng thủy tinh (sự khác biệt về điện thế của hai pha phân cách bởi màng)

-R: hằng số khí

F: hằng số Faraday

T: nhiệt độ tuyệt đối tính bằng độ Kelvin

$a_{H^+ \text{ ext}}$: độ hoạt động của H^+ ở bên ngoài màng

$a_{H^+ \text{ int}}$: độ hoạt động của H^+ ở bên trong màng

A_{pH} : thay đổi đơn vị của pH

V: điện thế đo được đối chứng với điện cực tham chiếu.

Sự thay đổi pH tỷ lệ thuận trực tiếp với sự khác biệt điện thế qua màng thủy tinh và do vậy nồng độ H^+ thay đổi tỷ lệ nghịch với pH, càng nhiều H^+ càng ít thay đổi điện thế qua màng điện cực chỉ thị.

Các điện cực đặc biệt nhạy cảm với các phản ứng oxy hóa khử sinh ra H^+ cũng có thể được sử dụng. Đó là các điện cực vàng, bạch kim và quinhydrone.

Các chất điện giải, kể cả carbonic cũng có thể đo được bằng sử dụng công nghệ khô (dry slide technology)

3.2. Đo pCO_2

Phương pháp điện thế có thể áp dụng đo pCO₂ bằng cách sử dụng màng mỏng thấp khí nhạy cảm với CO₂ trong điện cực chỉ thị. Khi CO₂ qua màng này, chúng được hydrat hóa thành acid carbonic và phân ly thành bicarbonat và H⁺. Càng nhiều CO₂ qua màng, càng nhiều H⁺ được sinh ra và pH càng thấp. Do vậy, việc định lượng pCO₂ được thực hiện bằng một điện cực pH đặc biệt, gọi là điện cực Severinghaus.

3.3. Đo pO₂

pO₂ máu được đo bằng phương pháp ampe (amperometry). Phương pháp này đo dòng điện đi qua tế bào điện hóa có điện thế hằng định trên các cực. Điện cực pO₂ có cực âm là bạch kim, cực dương là Ag/AgCl trong đệm phosphat có cho thêm KCl. Điện cực bạch kim phân cách với mẫu thử bằng màng thấm với oxy. Khi có oxy trong mẫu thử (máu, huyết tương...) dòng điện sinh ra do khử oxy tại cực âm, dòng điện này tỷ lệ thuận với pO₂ trong mẫu thử.

3.4. Đo qua da

Việc đo pO₂ và pCO₂, có thể tiến hành bằng đặt trực tiếp các điện cực trên da. Tuy nhiên, độ dày của da và sự tưới máu mô ảnh hưởng nhiều đến kết quả.

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày định nghĩa, nguyên nhân các rối loạn thăng bằng acid base: nhiễm acid chuyển hóa, nhiễm kiềm chuyển hóa, nhiều acid hô hấp, nhiễm kiềm hô hấp?
2. Trình bày cơ chế bù trừ của các rối loạn thăng bằng acid base: nhiễm acid chuyển hóa, nhiễm kiềm chuyển hóa, nhiều acid hô hấp, nhiễm kiềm hô hấp?
3. Trình bày quy trình thu thập mẫu bệnh phẩm và vận chuyển, bảo quản mẫu bệnh phẩm cho xét nghiệm khí máu?

PHẦN THỰC HÀNH

BÀI 5. THỰC HÀNH KỸ THUẬT PHÂN TÍCH CÁC CHẤT ĐIỆN GIẢI

MỤC TIÊU

* Kiến thức

1. Trình bày được nguyên lý kỹ thuật phân tích các chất điện giải Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+}

* Kỹ năng

2. Thực hiện được quy trình kỹ thuật phân tích các chất điện giải Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+}

* Năng lực tự chủ và trách nhiệm

3. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

4. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Nguyên lý

Các chất điện giải liên quan đến rất nhiều các chuyển hóa quan trọng trong cơ thể. Na^+ , K^+ , Cl^- là các ion quan trọng nhất và được sử dụng nhiều nhất. Chúng được cung cấp qua chế độ ăn, hấp thu ở dạ dày, ruột và được đào thải qua thận.

Các chất điện giải máu được định lượng theo phương pháp điện cực chọn lọc gián tiếp.

2. Chuẩn bị

2.1. Dụng cụ

- *Máy móc*: Hệ thống máy sinh hóa.

- *Vật tư tiêu hao*: Ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

2.2. Hóa chất

- *Thuốc thử*: Sẵn sàng sử dụng. ISE reference, ISE Diluent, ISE Internal Standard.

Bảo quản ở 2-8°C đến khi hết hạn sử dụng, 8 tuần khi để trên máy phân tích. Các loại dung dịch hệ thống khác.

- *Bệnh phẩm*

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn. Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chống đông bằng heparin (không dùng chất chống đông là EDTA, oxalate xitrat). Bảo quản ở 2-8°C trong vòng 14 ngày (Cl^- được 7 ngày). Rã đông một lần.

Đề bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-25°C) và lắc đều trước khi tiến hành XN.

3. Tiến hành

3.1. Khởi động thiết bị

- Trước khi vận hành máy, kiểm tra:
- + Nguồn điện vào máy, bình chứa nước thải trong máy.
- + Không có rò rỉ ở các ống dẫn, dây dẫn điện.
- Ấn nút ON phía bên trái máy, máy sẽ tự động khởi động.

3.2. Kiểm tra hóa chất

- + Kiểm tra và bổ sung hóa chất Standard A và Standard B trong thân máy nếu cần thiết.

3.3. Chạy bệnh phẩm

- Màn hình xuất hiện: Main menu Analyze QC Setup Service
- Tại cửa sổ Analyze ta nhấn Yes để thực hiện thao tác chạy bệnh phẩm, khi đó màn hình xuất hiện Analyze Blood Analyze Urine Analyze Chọn Yes, Blood Analyze, dùng phím để thay đổi ID cho bệnh nhân, Chọn Yes. màn hình xuất hiện: Please open prob 87 - Kéo phần kim hút ra trước mặt, đưa bệnh phẩm vào đồng thời chọn Yes, sau tiếng bíp thì dùng bông lau sạch kim và đóng phần kim hút vào, đợi kết quả in ra
- Sau khi đo mẫu đầu xong, nếu tiếp tục đo mẫu tiếp theo chọn Yes để đo tiếp
- Khi máy đang ở màn hình chờ, trước khi chạy chọn phím Cal để máy chạy calibrator lại.

3.4. Bảo dưỡng máy

- Sử dụng gạc thấm cồn lau đầu kim hút hóa chất, kim hút BP, que khuấy
- Vệ sinh bề mặt máy
- Chọn Service sau đó chọn Maintain, sau đó chọn Cleaning và đưa lọ rửa vào chạy (đợi 200s/ mỗi lần rửa).

3.5. Tắt máy

- Nên để nguồn liên tục, tránh hỏng điện cực

3.6. Nhận định kết quả

Bình thường:

- + Na: 133 – 147 mmol/l
- + K: 3.4 – 4.5 mmol/l
- + Clo: 94 – 111 mmol/l
- Kali máu tăng trong:
- + Suy thận. thiếu niệu, vô niệu...
- + Nhiễm acid, thiếu insulin (hôn mê tiểu đường)...
- + Dập cơ, bồng nặng, tắc ruột cấp, suy tim, NMCT..
- Kali máu giảm trong
- + Bệnh Westphal

- + Cường vỏ thượng thận
- + Nhiễm acid tiêu đường
- + Bỏng
- + Dùng thuốc lợi niệu.
- + Na máu tăng trong:
- + Tổn thương ống thận, suy thượng thận.
- + Dùng thuốc lợi niệu...
- Na máu giảm:
- + Viêm thận.
- + Suy tim.
- + Nhiễm trùng nặng có sốt.
- + Xơ gan..
- Clo máu máu tăng trong:
- + Ăn mặn, mất nước, tiêu chảy nặng, dò ruột...
- + Suy thận cấp, viêm thận.
- + Cường cận giáp
- + Nhiễm kiềm hô hấp, nhiễm acid chuyển hoá.
- Clo máu giảm trong:
- + Ăn nhạt.
- + Bỏng nặng.
- + Dùng thuốc lợi tiểu...

4. Các bước cần lưu ý

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống có chất chống đông EDT hoặc các loại chất chống đông khác có chứa Natri hoặc kali hoặc clo	Sai lệch kết quả	Không sử dụng các mẫu này
Bệnh phẩm huyết tán	Kết quả Kali sai tùy mức độ	Không sử dụng mẫu này

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguyên lý kỹ thuật phân tích các chất điện giải Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} ?
2. Trình bày cách nhận định kết quả phân tích các chất điện giải Na^+ , K^+ , Cl^- , Mg^{2+} ?

BÀI 6. THỰC HÀNH ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ DẤU ẤN CHỈ ĐIỂM UNG THƯ

MỤC TIÊU

*** Kiến thức**

1. Trình bày được nguyên lý kỹ thuật định lượng một số dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư thường gặp

*** Kỹ năng**

2. Thực hiện được quy trình kỹ thuật định lượng các dấu ấn chỉ điểm khối u và ung thư thường gặp

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

3. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

4. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. AFP

AFP là glycoprotein trọng lượng phân tử 70 000 Daltons, được sản xuất bởi túi noãn, tế bào gan chưa biệt hóa và đường tiêu hóa của bào thai. Xét nghiệm FP thường được chỉ định trong bệnh ung thư gan nguyên phát, xơ gan và theo dõi trong điều trị.

1.1. Nguyên tắc

AFP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. AFP có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AFP đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng AFP đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ AFP có trong mẫu thử.

1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

1.2.2. Hóa chất:

- Hóa chất xét nghiệm AFP, chất chuẩn AFP, chất kiểm tra chất lượng AFP.

1.3. Tiến hành

1.3.1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA và Natri Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.
- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.
- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C. Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

1.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm FP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm FP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm FP đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.
- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

1.3.3. Nhận định kết quả

- Trị số bình thường: < 7.0 ng/ml
- AFP máu tăng trong: Ung thư gan nguyên phát có mức tăng cao nhất, Ung thư gan thứ phát mức tăng ít hơn cả về tần suất và nồng độ, U nguyên bào phôi, Một số bệnh gan như viêm gan, xơ gan....., AFP cùng với β HCG và uE3 là bộ ba xét nghiệm dùng cho chẩn đoán trước sinh đối với bệnh Down và dị tật bệnh sinh như tật nứt đốt sống...

1.4. Các bước lưu ý

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:
 - + Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/Dl hay 1112 μ mol/L.
 - + Tán huyết: Hemoglobin < 2.2 g/dl.
 - + Biotin < 60 ng/ml trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.
 - + Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ FP tới 1 210 000 ng/MI
 - + RF < 1500UI/ml

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

2. CA 125

Kháng nguyên ung thư 125 (CA-125) là một protein hiện diện trên bề mặt của hầu hết các tế bào ung thư buồng trứng. Một lượng nhỏ CA-125 được sản xuất bởi các mô bình thường khắp cơ thể và một số bệnh ung thư khác. CA 125 có thể tăng cao ít mà không phải do ung thư như mang thai, kinh nguyệt và bệnh viêm vùng chậu. Xét nghiệm CA 125 thường được chỉ định trong ung thư buồng trứng.

2.1. Nguyên tắc

CA 125 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CA 125 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 125 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 125 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CA 125 có trong mẫu thử.

2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect...

2.2.2. Hóa chất

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CA 125, chất chuẩn CA 125, chất kiểm tra chất lượng CA 125.

2.3. Tiến hành

2.3.1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA và Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm phút tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương. 100 - Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2-8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

2.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CA 125. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CA 125.

Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C 125 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).
- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích
- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm
- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy
- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

* **Nhận định kết quả**

- Trị số bình thường: < 35 U/ml.
- C 125 máu tăng trong: CA 125 tăng cao trong ung thư buồng trứng, nội mạc tử cung, vú... và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư buồng trứng; CA 125 còn tăng trong một số bệnh lành tính như viêm nội mạc, viêm phần phụ, viêm tụy xơ gan.
- C 125 máu giảm trong: Sự giảm nồng độ C 125 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, sự tăng trở lại báo hiệu bệnh tái phát

2.4. Các bước cần lưu ý

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL

+ Tán huyết: Hemoglobin < 3.2 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglycerid < 2000 mg/dl

+ Biotin < 35 ng/ml trường hợp người bệnh sử dụng Biotin với liều > 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA125 tới 50 000 U/mL

+ RF < 1200UI/ml

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

3. CA 19-9

3.1. Nguyên tắc

Kháng nguyên ung thư 19-9 (CA 19-9) là một glycoprotein được sản xuất bởi các tế bào của khối u, tồn tại trên bề mặt của tế bào ung thư nhất định. Do đó, nó như dấu ấn khối u để theo dõi diễn tiến của ung thư. Xét nghiệm C 19-9 thường

được sử dụng trong chẩn đoán và theo dõi điều trị ung thư tụy, dạ dày, đường mật, đại tràng và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư tụy.

CA 19-9 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CA 19-9 có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 19-9 đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng CA 19-9 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CA 19-9 có trong mẫu thử.

3.2. Chuẩn bị

3.2.1. Dụng cụ

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect....

3.2.2. Hóa chất

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CA 19-9, chất chuẩn CA 19-9, chất kiểm tra chất lượng CA 19-9.

3.3. Tiến hành

3.3.1. Lấy bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na, NH₄-Heparin và K₃-EDTA. Không sử dụng chất chống đông Sodium Citrat cho xét nghiệm này. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 1 tháng ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

3.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm C 19-9. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm C 19-9. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm C 19-9 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

*** Nhận định kết quả**

- Trị số bình thường: < 39 U/ml

- CA 19-9 máu tăng trong: C 19-9 tăng cao trong ung thư tụy, dạ dày, đường mật, đại tràng và có giá trị nhất trong việc chẩn đoán ung thư tụy. C 19-9 phối hợp với CEA và CA 72-4 làm tăng giá trị khi chẩn đoán ung thư dạ dày. C 19-9 còn tăng nhất thời và không cao trong bệnh xơ gan, hoại tử tế bào gan, viêm đường mật, viêm tụy cấp và mạn

- CA 19-9 máu giảm trong: Sự giảm nồng độ C 19-9 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, khi được điều trị C 19-9 giảm nhanh hơn CE.

3.4. Các bước cần lưu ý

- Sử dụng nhằm chất chống đông (Không sử dụng chất chống đông Sodium Citrat cho xét nghiệm này). Khắc phục: Người lấy mẫu máu cần nắm rõ yêu cầu về bệnh phẩm trước khi lấy máu và lưu ý dùng đúng ống đựng mẫu. Khi nhận mẫu máu, người nhận cũng cần kiểm tra xem ống máu có đúng yêu cầu không.

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 66 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2000 mg/dl.

+ Biotin 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CA 19-9 tới 500 000 U/mL

+ RF < 1500 UI/ml

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

4. T3, T4

4.1. Nguyên tắc

4.1.1. T3

T3 là hormon tuyến giáp. Xét nghiệm T3 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp... T3 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Đầu tiên T3 trong mẫu thử được giải phóng khỏi protein gắn kết trong mẫu bởi NS.

T3 và kháng thể đặc hiệu kháng T3 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau. Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và T3 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ T3 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ T3 có trong mẫu thử.

4.1.2. T4

T4 là hormon tuyến giáp. Xét nghiệm T4 thường được chỉ định trong các bệnh của tuyến giáp như cường giáp, suy giáp... T4 được định lượng theo nguyên lý miễn dịch cạnh tranh sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Đầu tiên T4 trong mẫu thử được giải phóng khỏi protein gắn kết trong mẫu bởi NS. T4 và kháng thể đặc hiệu kháng T4 đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) được cho tiếp xúc với nhau. Sau khi thêm các vi hạt phủ streptavidin và T4 đánh dấu biotin, các vị trí chưa gắn kết trên kháng thể đánh dấu ruthenium bị chiếm giữ. Toàn bộ phức hợp trở nên gắn kết với pha rắn thông qua sự tương tác giữa biotin và streptavidin. Như vậy, nồng độ T4 trong mẫu thử càng cao thì phức hợp này càng thấp và do vậy tín hiệu ánh sáng phát ra tỷ lệ nghịch với nồng độ T4 có trong mẫu thử.

4.2. Chuẩn bị

4.2.1. Dụng cụ

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, rchitect....

4.2.1. Dụng cụ

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm T3, T4, chất chuẩn T3, T4, chất kiểm tra chất lượng T3, T4.

4.3. Tiến hành

4.3.1. Lấy mẫu bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li, Na-Heparin và K3-EDTA và Sodium Citrat (nếu dùng Sodium Citrat kết quả +10%). Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 7 ngày ở 2-8°C, 1 tháng ở -20°C. 414 - Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

4.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm T3, T4. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm T3, T4. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm T3, T4 đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy - Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

*** Nhận định kết quả**

- Trị số bình thường: T3: 1.3 - 3.1 nmol/l

T4: 66 – 181 nmol/l

- T3 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- T3 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

- T4 máu tăng trong: Cường giáp, Nhiễm độc giáp

- T4 máu giảm trong: Thiếu năng vùng dưới đồi yên, Suy giáp.

4.4. Các bước cần lưu ý

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 37 mg/dL.

+ Tán huyết: Hemoglobin < 2.3 g/dl.

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 2500 mg/dl.

+ Biotin 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ RF < 2400 IU/ml

Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

5. PSA

5.1. Nguyên tắc

PSA là một glycoprotein có trọng lượng phân tử khoảng 30.000 dalton. PSA được tiết bởi các tế bào biểu mô của tuyến tiền liệt. Xét nghiệm PS toàn phần thường được chỉ định trong ung thư tiền liệt tuyến.

PSA toàn phần được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. PSA có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng PSA đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ Ferritin có trong mẫu thử.

Để định lượng PS toàn phần, đệm phosphat pH=6.0 và hai loại kháng thể kháng PS được sử dụng. Khác với định lượng PS tự do, chỉ sử dụng một loại kháng thể kháng PS và đệm phosphat pH=7.4.

5.2. Chuẩn bị

5.2.1. Dụng cụ

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, Architect...

5.2.2. Hóa chất

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm PSA, chất chuẩn PSA, chất kiểm tra chất lượng PSA.

5.3. Tiến hành

5.3.1. Lấy mẫu bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDTA và Sodium Citrat. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương. 389

- Bệnh phẩm ổn định 5 ngày ở 2–8°C, 6 tháng ở -20°C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

5.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm PS. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm PS. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm PS đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

*** Nhận định kết quả**

- Trị số bình thường: < 4.0 ng/ml

- TPS máu tăng trong: Ung thư tiền liệt tuyến, Viêm hay phì đại lành tính tiền liệt tuyến.

Lưu ý: việc thăm khám tiền liệt tuyến qua thăm trực tràng cũng có thể làm tăng nồng độ TPSA.

5.4. Các bước cần lưu ý

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 65 mg/dL hay 1112 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ tPS tới 17 000 ng/mL.

+ RF < 1500 IU/ml

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

6. Cyfra 21-1

Cyfra 21-1 là các mảnh cytokeratin 19, là protein làm giá đỡ không tan của tế bào, nhưng các mảnh cytokeratin như cyfra 21-1 thì tan trong huyết thanh, trọng lượng phân tử 30.000 dalton. Xét nghiệm Cyfra 21-1 thường được chỉ định trong ung thư phổi tế bào không nhỏ, ung thư bàng quang, buồng trứng...

CYFRA 21-1 là một mảnh của cytokeratin 19, có trọng lượng phân tử khoảng 30 000 dalton. CYFRA 21-1 được chỉ định trong theo dõi điều trị, chẩn đoán ung thư phổi không tế bào nhỏ.

6.1. Nguyên tắc

CYFRA 21-1 được định lượng bằng phương pháp miễn dịch kiểu sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. CYFR 21-1 trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa 2 kháng thể: kháng thể đơn dòng kháng cytokeratin 19 từ chuột gắn biotin, kháng thể đơn dòng kháng cytokeratin 19 từ chuột được đánh dấu bằng ruthenium. Chất đánh dấu có khả năng phát quang. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ CYFR 21-1 có trong mẫu thử.

6.2. Chuẩn bị

6.2.1. Dụng cụ

- Máy móc: hệ thống máy miễn dịch
- Vật tư tiêu hao: ống lấy máu, kim tiêm, bông, cồn, găng tay ...

6.2.2. Hóa chất

- Thuốc thử: sẵn sàng sử dụng. Bảo quản ở 2-80C được 12 tuần sau khi mở nắp, 8 tuần khi để trên máy phân tích Các loại dung dịch hệ thống khác
- Chuẩn Control: ba mức

6.3. Tiến hành

6.3.1. Lấy mẫu bệnh phẩm

Bệnh phẩm phải được lấy đúng kỹ thuật vào ống tiêu chuẩn (3ml). Ly tâm trước khi tiến hành kỹ thuật. Có thể sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương 151 chống đông bằng heparin hoặc EDT. Bảo quản ở 2-80C trong vòng 4 tuần, ở - 200C được 6 tháng. Rã đông một lần. Để bệnh phẩm, chuẩn, control ở nhiệt độ phòng (20-250C) và lắc đều trước khi tiến hành XN. Để tránh những ảnh hưởng đến kết quả, bệnh phẩm, chuẩn cũng như control phải được phân tích ngay trong vòng 2 giờ

6.3.2. Tiến hành

- Máy móc, hóa chất đã được cài đặt và chuẩn trước khi thực hiện phân tích. Control nằm trong miền cho phép tùy thuộc vào kỹ thuật, thuốc thử của từng công ty. Thông thường chạy control 3 miền: thấp, bình thường và cao. Đối chiếu với luật về nội kiểm chất lượng nếu đạt thì tiến hành phân tích mẫu.
- Đưa bệnh phẩm vào phân tích theo protocol của máy. Khi có kết quả thì phân tích và đối chiếu với phiếu xét nghiệm và trả kết quả.

* Nhận định kết quả

Bình thường: < 3,3 ng/mL Tăng cao và có giá trị nhất trong ung thư phổi không phải tế bào nhỏ. Ngoài ra còn tăng cao trong ung thư bàng quang, buồng trứng, cổ tử cung. Sự giảm nồng độ Cyfra 21-1 cũng có giá trị theo dõi hiệu quả của phương pháp điều trị, khi được điều trị Cyfra 21-1 đang giảm lại tăng chứng tỏ có tái phát và sự tăng Cyfra 21-1 có thể sớm hơn 7 tháng so với dấu hiệu lâm sàng

6.4. Các bước cần lưu ý

Nguyên nhân	Sai sót	Xử trí
Bệnh phẩm lấy vào ống chống đông bằng sodium citrate	Kết quả + 10%	Không dùng ống chống đông này
Bệnh phẩm huyết tán, tăng bilirubin hoặc tăng	Kết quả có thể thay đổi tăng hoặc giảm 10%	Điều trị tình trạng bệnh lý hoặc ngừng dùng thuốc

lipid, đang sử dụng biotin		rồi định lượng lại
Nồng độ cyfra 21-1 > 2000 ng/mL	Hiệu ứng hook-effect	Pha loãng bệnh phẩm
Nồng độ cyfra 21-1 > dải đo (0,1 – 500 ng/mL)	Sai lệch kết quả	Pha loãng bệnh phẩm

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày được nguyên lý, các bước tiến hành, nhận định kết quả của kỹ thuật định lượng AFB?
2. Trình bày được nguyên lý, các bước tiến hành, nhận định kết quả của kỹ thuật định lượng CA125?
3. Trình bày được nguyên lý, các bước tiến hành, nhận định kết quả của kỹ thuật định lượng CA19-9?
4. Trình bày được nguyên lý, các bước tiến hành, nhận định kết quả của kỹ thuật định lượng T3, T4?
5. Trình bày được nguyên lý, các bước tiến hành, nhận định kết quả của kỹ thuật định lượng PSA?
6. Trình bày được nguyên lý, các bước tiến hành, nhận định kết quả của kỹ thuật định lượng Cyfra 21-1?

BÀI 7. THỰC HÀNH ĐỊNH LƯỢNG MỘT SỐ DẤU ẮN XÁC ĐỊNH TÌNH TRẠNG NHIỄM KHUẨN

MỤC TIÊU

*** Kỹ năng**

1. Trình bày được phương pháp lấy mẫu và định lượng procalcitonin và CRP

*** Năng lực tự chủ và trách nhiệm**

2. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

3. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Procalcitonin

Procalcitonin (PCT) là tiền nội tiết tố có 116 acid amin trọng lượng phân tử 127 kD. PCT được tiết bởi tế bào C tuyến giáp, phổi và tụy. Khi nhiễm trùng nồng độ PCT tăng cao trong máu. Xét nghiệm PCT thường được chỉ định trong các bệnh nhiễm trùng nặng như nhiễm khuẩn huyết, viêm tụy, viêm phổi do thở máy...

1.1. Nguyên tắc

Procalcitonin được định lượng bằng phương pháp miễn dịch sandwich sử dụng công nghệ hóa phát quang hay điện hóa phát quang. Procalcitonin có trong mẫu thử đóng vai trò kháng nguyên được kẹp giữa hai kháng thể, kháng thể thứ nhất là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng procalcitonin đánh dấu biotin, kháng thể thứ hai là kháng thể đơn dòng đặc hiệu kháng procalcitonin đánh dấu ruthenium (chất có khả năng phát quang) tạo thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Cường độ phát quang tỷ lệ thuận với nồng độ procalcitonin có trong mẫu thử.

1.2. Chuẩn bị

1.2.1. Dụng cụ

- Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas e411, e170, e601, rchitect....

1.2.2. Hóa chất

- Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm Procalcitonin, chất chuẩn Procalcitonin, chất kiểm tra chất lượng Procalcitonin.

1.3. Tiến hành

1.3.1. Lấy mẫu bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-Heparin và K3-EDT. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định 24 giờ ngày ở 2–8°C, 3 tháng ở -20°C

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 giờ.

1.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm procalcitonin. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm Procalcitonin. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm Procalcitonin đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

- Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Nạp mẫu bệnh phẩm vào máy phân tích

- Ra lệnh cho máy thực hiện phân tích mẫu bệnh phẩm

- Đợi máy phân tích mẫu theo protocol của máy.

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

*** Nhận định kết quả**

- Trị số bình thường: < 0,05 ng/ml

- Procalcitonin máu tăng trong: Nhiễm trùng huyết (có giá trị tiên lượng nhiễm trùng huyết), Viêm tụy cấp (có giá trị tiên lượng biến chứng trong VTC), Viêm phổi do thở máy hoặc viêm đường hô hấp mắc phải trong cộng đồng (có giá trị hướng dẫn sử dụng kháng sinh và theo dõi diễn biến bệnh).

- Các trường hợp tăng Procalcitonin không do nhiễm trùng: Soc tim kéo dài hay nghiêm trọng, Ung thư phổi tế bào nhỏ hay ung thư tế bào C của tuyến giáp, Sau chấn thương nặng, can thiệp phẫu thuật nặng, bỏng lớn, Trẻ sơ sinh (48h sau sinh).

1.4. Các bước cần lưu ý

- Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm. Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

+ Huyết thanh vàng: Bilirubin < 25 mg/dL hay 428 μ mol/L.

+ Tán huyết: Hemoglobin

+ Huyết thanh đục: Triglyceride < 1500 mg/dl.

+ Biotin < 30 ng/ml. Trường hợp người bệnh sử dụng với liều 5 mg/ngày cần lấy máu xét nghiệm ít nhất 8h sau khi sử dụng Biotin lần cuối.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ procalcitonin tới 1000 ng/mL

+ RF < 1500 IU/ml

- Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

2. CRP

C-reactive protein (CRP) là một protein pha cấp được gan sản xuất ra và phóng thích vào máu sau một vài giờ khi mô bị tổn thương, do bị nhiễm trùng, hoặc nguyên nhân khác gây ra viêm. Xét nghiệm CRP thường chỉ định trong các bệnh như các nhiễm trùng do vi khuẩn, nhồi máu cơ tim, bệnh tự miễn...

2.1. Nguyên tắc

CRP được định lượng bằng phương pháp miễn dịch đo độ đục. Kháng thể kháng CRP trong thuốc thử kết hợp với CRP trong mẫu thử tạo phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể khiến dung dịch phản ứng có độ đục. Nồng độ CRP có trong mẫu thử tỷ lệ thuận với độ đục do phức hợp miễn dịch kháng nguyên-kháng thể tạo ra.

2.2. Chuẩn bị

2.2.1. Dụng cụ

+ Phương tiện: Máy xét nghiệm như Cobas 501, AU 640....

2.2.2. Hóa chất

+ Hóa chất: Hóa chất xét nghiệm CRP, chất chuẩn CRP, chất kiểm tra chất lượng CRP.

2.3. Tiến hành

2.3.1. Lấy mẫu bệnh phẩm

- Lấy 3 ml máu tĩnh mạch vào ống không có chất chống đông hay ống có chất chống đông là Li-/Na-heparin, Na-/K3-EDTA, hay citrate. Máu không vỡ hồng cầu.

- Sau khi lấy máu, đem ly tâm tách lấy huyết thanh hoặc huyết tương.

- Bệnh phẩm ổn định: 11 ngày ở 15–25°C, 2 tháng ở 2–8°C, 3 năm ở (-15)–(-25) °C.

- Bệnh phẩm chỉ rã đông 1 lần và phải để bệnh phẩm đạt nhiệt độ phòng trước khi phân tích. Để tránh hiện tượng bay hơi, bệnh phẩm, chất chuẩn, chất kiểm tra chất lượng nên phân tích trong vòng 2 h.

2.3.2. Tiến hành

- Máy phân tích cần chuẩn bị sẵn sàng để thực hiện phân tích mẫu: Máy đã được cài đặt chương trình xét nghiệm CRP. Máy đã được chuẩn với xét nghiệm CRP. Kết quả kiểm tra chất lượng với xét nghiệm CRP đạt yêu cầu không nằm ngoài dải cho phép và không vi phạm luật kiểm tra chất lượng.

-Người thực hiện phân tích mẫu nhập dữ liệu về thông tin người bệnh và chỉ định xét nghiệm vào máy phân tích hoặc hệ thống mạng (nếu có).

- Thực hiện xét nghiệm theo protocol của máy

- Khi có kết quả cần xem xét đánh giá kết quả sau đó in báo cáo hoặc ghi kết quả vào phiếu xét nghiệm để trả cho người bệnh.

*** Nhận định kết quả**

+ Trị số bình thường: < 0.5 mg/dl.

+ CRP máu tăng trong: Thấp khớp dạng thấp, sốt thấp khớp, Nhồi máu cơ tim, Nhiễm khuẩn, Phế viêm do phế cầu...

2.4. Các bước cần lưu ý

Những yếu tố gây nhiễu cho kết quả xét nghiệm

+ Kết quả xét nghiệm không bị ảnh hưởng khi:

- Huyết thanh vàng: Bilirubin < 60 mg/dL hay 1026 μ mol/L.

- Tán huyết: Hemoglobin < 1000 mg/dL hay 621 μ mol/L.

- Huyết thanh đục: Triglyceride < 1200 IU/mL.

+ Không có hiệu ứng “high-dose hook” (Hiệu ứng mẫu bệnh phẩm có nồng độ cao) khi nồng độ CRP tới 1000 mg/L. Khắc phục: Có thể hòa loãng bệnh phẩm và thực hiện lại xét nghiệm sau đó nhân kết quả với độ hòa loãng (Trường hợp có hòa loãng tự động trên máy thì kết quả không cần nhân với độ hòa loãng do máy đã tự tính toán).

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày được phương pháp lấy mẫu và định lượng procalcitonin?

2. Trình bày được phương pháp lấy mẫu và định lượng CRP?

BÀI 8. THỰC HÀNH KỸ THUẬT PHÂN TÍCH KHÍ MÁU

MỤC TIÊU

* *Kỹ năng*

1. Trình bày được nguyên lý của kỹ thuật phân tích khí máu và thực hiện được kỹ thuật phân tích khí máu

* *Năng lực tự chủ và trách nhiệm*

2. Nghiêm túc, cẩn thận, sáng tạo trong việc vận dụng kiến thức được học để giải quyết vấn đề trong học tập

3. Chứng minh được khả năng làm việc độc lập, làm việc nhóm để giải quyết vấn đề trong quá trình học tập

NỘI DUNG

1. Nguyên tắc

Khí máu động mạch là một xét nghiệm rất giá trị trong chẩn đoán, tiên lượng và theo dõi trong quá trình điều trị tại các khoa cấp cứu, hồi sức tích cực..., có thể chẩn đoán suy hô hấp, phản ánh tình trạng oxy hoá máu và thăng bằng kiềm toan trong máu. Kết quả khí máu có thể sẽ gợi ý nguyên nhân hoặc hướng điều trị.

Theo nguyên lý điện cực chọn lọc

Gồm 1 điện cực chuẩn (reference electrode) và các điện cực: Điện cực pO₂, Điện cực pCO₂, Điện cực pH

- Điện cực đo pH: điện cực quy chiếu là điện cực calomel. Khi mẫu bệnh phẩm đi qua điện cực thì ở bề mặt giữa điện cực và bệnh phẩm phát sinh điện thế mà trị số phụ thuộc vào nồng độ ion H⁺.

- Điện cực đo áp suất riêng phần pCO₂: CO₂ thấm qua một màng silicol đặc hiệu để tiếp xúc với dung dịch bicarbonat và làm thay đổi pH của dung dịch này. Do thay đổi pH như một pH kế. Kết quả biểu thị ra pCO₂.

- Điện cực chọn lọc O₂: điện cực platin được âm cực hóa so với điện cực quy chiếu. O₂ thấm qua màng sẽ khử cực một phần bề mặt của catot và làm giảm điện trở của mạch điện. Cường độ dòng điện đo được tỷ lệ thuận với nồng độ O₂ của dung dịch.

Từ ba thông số được đo trực tiếp trên, máy đo khí máu tính toán ra các thông số khác như: HCO₃⁻, HCO₃⁻ chuẩn (SB), kiềm dư (BE), kiềm đệm (BB),... là những thông số cần thiết để đánh giá trạng thái toan-kiềm của người bệnh.

- Phân tích Hb có thể dựa theo phép đo quang

2. Chuẩn bị

2.1. Dụng cụ

- Máy phân tích khí máu: cobas b 221(Roche), máy Radiometer (Denmark); model gastat 1820 (Nhật bản) và một số máy khác
- Dụng cụ lấy máu: được tráng Li-heparin, cần lấy máu vào dụng cụ chuyên dụng (tạo thành chu trình khép kín tránh bội nhiễm không khí từ bên ngoài vào) mẫu sau khi lấy được đóng nắp kín và chuyển ngay xuống PXN để phân tích. Ví dụ microsample (Roche diagnostic)
- Kim lấy máu: dùng loại kim thích hợp
- Ống nghiệm; găng tay; Bông, cồn sát trùng, bơm tiêm hoặc kim lấy máu

2.2. Hóa chất

Ngoài các thông số khí máu, Nếu còn có thể phân tích thêm các thông số khác như: glucose, ure, lactat, natri, kali, thì cần thêm các bình hóa chất khác

S1: Rinse solution

S2: Fluid pack

S3: Fluid pack (khi đo các thông số glucose, lactat

Dung dịch deprotein

(Hóa chất theo công ty Roche)

3. Tiến hành

3.1. Lấy bệnh phẩm: mẫu máu động mạch

- Mẫu máu được lấy vào dụng cụ chuyên biệt dành cho lấy khí máu, có tráng heparin (microsample).
- Vị trí lấy máu động mạch: động mạch quay, động mạch cánh tay, động mạch bẹn, ...có thể lấy máu ở các buồng tim hoặc động mạch phổi khi đang phẫu thuật tim.
- Mẫu máu sau khi lấy cần được đóng nắp kín (cần bảo quản lạnh) và chuyển khẩn trương xuống phòng xét nghiệm để phân tích ngay

3.2. Tiến hành

- Máy cần được chuẩn tại 2 điểm
- Chạy QC ở 3 mức: 1, 2 và 3. Chỉ tiến hành phân tích mẫu khi QCV đạt yêu cầu
- Chọn mục phân tích mẫu máu, Thao tác theo protocol của máy.
- Tháo nắp dụng cụ lấy mẫu, đưa mẫu vào vị trí, ấn nút hút mẫu, khi nạp đủ máy sẽ báo và tháo dụng cụ đựng mẫu ra, máy sẽ tự phân tích mẫu

* Nhận định kết quả

Trị số tham khảo:

pH máu: 7.35 – 7.45

pCO₂: 35-45 mmHg

PO₂: 80 -100 mmHg

HCO₃ std: 22 -28 mEq/L

SaO₂: 94 – 100%

4. Các bước cần lưu ý

Sai sót	Xử trí
Lấy không đúng dụng cụ, mẫu máu bị đông	Cần dùng đúng dụng cụ, mẫu vừa đủ 2 cành
Lấy nhầm vào máu tĩnh mạch	Làm pH giảm và độ bão hòa oxy giảm
Mẫu máu bị nhiễm không khí	Khi lấy mẫu xong phải đóng nắp luôn

LƯỢNG GIÁ

1. Trình bày nguyên lý của kỹ thuật phân tích khí máu?
2. Trình bày các bước của kỹ thuật phân tích khí máu?

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Đỗ Đình Hồ và Cộng sự (2003), Hóa sinh y học, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
2. Nguyễn Nghiêm Luật và Cộng sự (2003), Thực tập hóa sinh, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
3. Nguyễn Nghiêm Luật và Cộng sự (2007), Hóa sinh, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.
4. Tạ Thành Văn và CS (2013). Hóa sinh lâm sàng, Nhà xuất bản Y học, Hà Nội.