

MỐI LIÊN QUAN GIỮA MỨC ĐỘ BIỂU HIỆN GEN ACE2, TMPRSS2 Ở NIÊM MẠC TỶ HẦU VÀ MỨC ĐỘ NẶNG CỦA BỆNH COVID-19

Hà Văn Đại¹, Nguyễn Thị Thanh Hải^{1,2,✉}, Vũ Phương Nhung³
Nguyễn Thị Thanh Tâm², Lê Thị Ngọc¹, Nguyễn Hải Hà³, Phạm Ngọc Thạch¹

¹Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương

²Trường Đại học Y Hà Nội

³Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam

ACE2 là một enzym thụ thể màng tế bào liên kết với protein gai (Spike-S) của virus SARS-CoV-2 và enzym TMPRSS2 phân cắt protein S tại các vị trí S1 / S2 và S'2, giúp dung hợp màng để virus xâm nhập vào tế bào. Do đó, mức độ biểu hiện của các protein tế bào này càng lớn có thể càng làm gia tăng sự xâm nhập của virus và tăng mức độ nặng của bệnh. Nghiên cứu này khảo sát diễn biến đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của 297 bệnh nhân COVID-19; và phân tích so sánh tương đối mức độ biểu hiện mRNA của ACE2 và TMPRSS2 bằng phương pháp realtime-PCR của 52 mẫu dịch tỵ hầu lấy lúc nhập viện được chọn ngẫu nhiên từ các bệnh nhân tiến triển nặng và nhẹ điển hình. Kết quả cho thấy mức độ biểu hiện TMPRSS2 ở niêm mạc tỵ hầu cùng một số chỉ số xét nghiệm như CRP, PCT, Ferritin, D-Dimer, LDH có thể là yếu tố tiên lượng diễn biến nặng của bệnh COVID-19 trong khi ACE2 thì không có sự khác biệt giữa hai nhóm và cần được nghiên cứu trên cỡ mẫu lớn hơn.

Từ khóa: COVID-19, ACE2, TMPRSS2, Biểu hiện gen.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

COVID-19 do virus SARS-CoV-2 gây ra hội chứng suy hô hấp cấp tính nghiêm trọng, ca bệnh đầu tiên xuất hiện từ ngày 17/11/2019 tại Vũ Hán, Trung Quốc, kể từ đó đến nay đã lan nhanh trên toàn thế giới. Tính đến tháng 6 năm 2022, đại dịch COVID-19 đã có hơn 500 triệu trường hợp được xác nhận dương tính với hơn 6,2 triệu trường hợp tử vong. Tại Việt Nam, tính đến tháng 6 năm 2022 số ca mắc đã vượt 10,5 triệu ca và có hơn 43 nghìn ca tử vong.¹ Nhiều biến chứng của SARS-CoV-2 có tốc độ lây lan nhanh, tỉ lệ tử vong cao, như biến chứng *Delta*, *Omicron*. Trong số những ca nhiễm bệnh phần lớn có triệu chứng nhẹ hoặc không có triệu chứng, một số ít bệnh nhân bị viêm phổi nặng, hội chứng suy hô hấp cấp, suy đa tạng, và thậm

chí tử vong. Người ta ước tính rằng khoảng 10 - 15% bệnh nhân COVID-19 nhẹ chuyển sang nặng và 15 - 20% trường hợp nặng tiến triển trở nên nguy kịch, với nhiều trường hợp cần được điều trị tại các đơn vị chăm sóc đặc biệt (ICU).² Mặc dù hiện nay, nhờ hiệu quả của vaccine mở rộng và miễn dịch cộng đồng đã được thiết lập, số lượng bệnh nhân mắc, chuyển nặng và tử vong giảm rõ rệt trên toàn thế giới, tuy nhiên vẫn cần phát triển các phương pháp giúp tiên lượng, điều trị bệnh COVID-19 vì có thể tương lai sẽ xuất hiện biến chủng mới nguy hiểm hơn, vượt qua được hàng rào miễn dịch đã có.³

Sự xâm nhập vào tế bào và nhân lên của virus là khởi nguồn cho cơ chế bệnh sinh, đáp ứng miễn dịch và biểu hiện lâm sàng của bệnh. Các báo cáo đã khẳng định virus SARS-CoV-2 cũng như SARS-CoV xâm nhập vào cơ thể người bệnh nhờ thụ thể ACE2.⁴ Tuy nhiên, sự xâm nhập của virus không chỉ đòi hỏi sự gắn kết protein gai (S) của virus với thụ thể

Tác giả liên hệ: Nguyễn Thị Thanh Hải

Bệnh viện Bệnh nhiệt đới Trung ương

Email: nguyenthanhhai@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 24/06/2022

Ngày được chấp nhận: 12/07/2022

ACE2 trên bề mặt tế bào mà còn cần có sự xúc tác của protein xuyên màng TMPRSS2 (*Transmembrane protease serine 2*) giúp phân cắt các protein S tại các vị trí S1/S2 và S'2 tạo điều kiện cho quá trình hợp nhất màng virus và vật chủ, để chúng xâm nhập vào tế bào.⁵ Trong nghiên cứu này chúng tôi đánh giá đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và khảo sát bước đầu mối tương quan giữa mức độ biểu hiện ACE2 và TMPRSS2 với mức độ nặng của bệnh COVID-19. Kết quả nghiên cứu có thể giúp mở ra hướng nghiên cứu mới về cơ chế bệnh sinh, tiên lượng, khoanh vùng những cá thể nhạy cảm nhằm hạn chế tỷ lệ tử vong, đồng thời có thể gợi ý hướng điều trị đích bằng việc sử dụng thuốc ức chế biểu hiện hoặc liên kết cạnh tranh với ACE2, TMPRSS2.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Bệnh nhân COVID-19 được chọn ngẫu nhiên điều trị tại Bệnh viện nhiệt đới Trung ương từ 10/2020 - 8/2021.

Tiêu chuẩn chọn mẫu

- Khảo sát đặc điểm chung

Các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng được thu thập ở ngày thứ nhất đến ngày thứ 3 nhập viện khi chưa có dấu hiệu lâm sàng nặng, được theo dõi đến khi ra viện để phân nhóm bệnh nhân:

+ Nhóm nặng và nguy kịch (107 bệnh nhân): Bệnh nhân sau nhập viện có diễn biến tiến triển viêm phổi nặng, suy hô hấp cấp tính: $S_{pO_2} \leq 93\%$ ở trạng thái nghỉ, suy hô hấp và cần thở máy, sốc hoặc suy các cơ quan khác cần chăm sóc ICU.

+ Nhóm nhẹ (190 bệnh nhân): không có triệu chứng hoặc có biểu hiện sốt và các triệu chứng hô hấp trên, chẳng hạn như ho khan, ngạt mũi, mệt mỏi, đau đầu, đau cơ trong suốt quá trình điều trị nội trú.

- Đánh giá mức độ biểu hiện gen ACE2, TMPRSS2

52 mẫu dịch tỵ hầu (29 mẫu nhóm nặng và 23 mẫu nhóm nhẹ) của bệnh nhân ở độ tuổi 30 - 65 lần đầu tiên được chẩn đoán dương tính với SARS-CoV-2 tại viện bằng phương pháp RT-PCR với nồng độ tách chiết RNA tổng số đạt tối thiểu $\geq 100ng$.

Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân từ chối tham gia nghiên cứu, không thu thập đủ dữ liệu lâm sàng, cận lâm sàng, tách chiết RNA không đạt đủ nồng độ.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Địa điểm nghiên cứu

- Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương.

- Viện Nghiên cứu gen - Viện Hàn Lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam.

Quy trình thực hiện

- Phân tích đặc điểm chung: thông qua hồ sơ bệnh án và phần mềm quản lý bệnh viện.

- Thu thập 2 ml dịch tỵ hầu được bảo quản trong ống vô trùng cất giữ ở $-80^{\circ}C$ đến khi phân tích.

- Quy trình tách RNA: RNA được tách chiết từ dịch tỵ hầu theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Monarch[®] Total RNA miniprep kit, New England BioLabs, USA).

- Quy trình tổng hợp cDNA bằng RT-PCR (Reverse transcription Polymerase chain reaction)

- Tổng hợp cDNA từ RNA bằng kit thương mại (ProtoScript[®]II First Strand cDNA Synthesis Kit, New England BioLabs, USA).

- Chu trình nhiệt phản ứng: $60^{\circ}C/30$ giây, $95^{\circ}C/10$ phút, 40 chu kỳ ($95^{\circ}C/15$ giây, $60^{\circ}C/1$ phút), $60^{\circ}C/30$ giây.

Kỹ thuật Real-time PCR xác định mức độ biểu hiện gen

- Khuếch đại gen *ACE2*, *TMPRSS2* từ cDNA bằng phương pháp Real time PCR với cặp mồi đặc hiệu:

TMPRSS2-F (5' – 3'):

AATCGGTGTG TTCGCCTCTAC

TMPRSS2-R (5' – 3'):

CGTAGTTCTTCGTTCCAGTCGT

ACE2-F (5' – 3'):

GGGATCAGAGATCGGAAGAAGAA

ACE2-R (5' – 3'):

AGGAGGTCTGAACATCATCAGTG

Cặp mồi gen tham chiếu GAPDH:

GAPDH-F (5' – 3'):

TGAAGGTCGGAGTCAACGGATTTGGT

GAPDH-R (5' – 3'):

CATGTGGCCATGAGGTCCACCAC

- Thành phần phản ứng: Master Mix (1X) 10l, Mồi xuôi (0.25 μ M) 0.8l, Mồi ngược (0.25 μ M) 0.8l, cDNA (\leq 100 ng), Nuclease-free Water thêm cho đủ 20 μ l. + Chu trình nhiệt phản ứng: biến tính 95°C/1 phút / 1 chu kỳ, 95°C/ 10 giây,

60°C/ 30 giây (40 chu kỳ), nhiệt độ chảy 60°C - 95°C/ 1 chu kỳ (Luna Universal qPCR Master Mix kit, New England Biolabs, USA).

+ Đánh giá mức độ biểu hiện gen *ACE2*, *TMPRSS2* dựa trên chu kỳ ngưỡng (Ct) trung bình và độ lệch chuẩn giữa 2 nhóm nghiên cứu theo phương pháp Livak định lượng tương đối, sử dụng gen GAPDH (gen giữ nhà) làm gen tham chiếu chuẩn theo công thức:

$2^{-\Delta\Delta Ct}$: $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct(C) - \Delta Ct(T)$; ΔCt của mỗi mẫu được tính bằng cách lấy Ct của gen thử trừ đi Ct gen tham chiếu. $\Delta\Delta Ct(T)$ của mỗi mẫu được tính bằng cách lấy $\Delta Ct(C)$ của một mẫu thử cố định làm mẫu nội chuẩn trừ đi $\Delta Ct(T)$. Kết quả biểu hiện gen được biểu thị dưới dạng giá trị trung bình của biểu thức $2^{-\Delta\Delta Ct} \pm$ độ lệch chuẩn (SD) giữa các nhóm nghiên cứu.

3. Xử lý số liệu

Số liệu được phân tích bằng phần mềm SPSS 20.0. Các chỉ số định tính được tính toán p và 95%CI. Các chỉ số định lượng được so sánh bằng thuật toán T-test độc lập.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu này được thông qua Hội đồng đạo đức của Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương.

III. KẾT QUẢ

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu tại thời điểm mới nhập viện chưa có dấu hiệu nặng trên lâm sàng

Đặc điểm	Nhóm Nhẹ (N = 190)	Nhóm Nặng, Nguy kịch (N = 107)	p [95% CI]
Nam (%)	100 (52,6)	64 (59,8)	0,000
Nữ (%)	90 (47,4)	43 (40,2)	
Tuổi (năm)	36,9 \pm 13,9	55,1 \pm 14,7	0,000
Sốt \geq 38,5°C (%)	30 (15,8)	39 (36,4)	0,000
Khó thở (%)	3 (1,6)	12 (11,2)	0,000
Viêm phổi (XQ) (%)	84 (44,2)	68 (63,6)	0,028

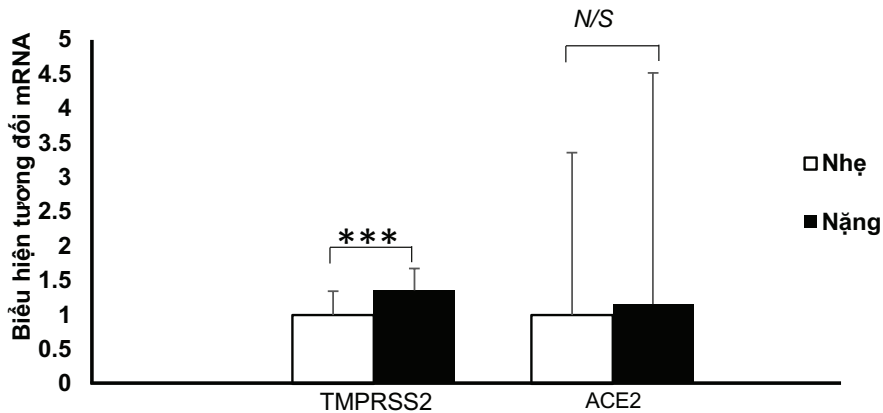
Đặc điểm	Nhóm Nhẹ (N = 190)	Nhóm Nặng, Nguy kịch (N = 107)	p [95% CI]
CRP (mg/L) N = 101	5,7 ± 8,6	24,1 ± 28,0	0,000 [-23,4 -10,9]
PCT (ng/mL) N = 69	0,06 ± 0,05	0,22 ± 0,27	0,000 [-0,19 -0,06]
FERRITIN(ng/mL) N = 57	397,1 ± 369,6	853,0 ± 580,2	0,000 [-562,2-258,2]
LDH (U/L) N = 83	205,3 ± 62,1	262,0 ± 139,4	0,005 [-155,8-29,2]
URE (mmol/L) N = 100	4,1 ± 1,2	5,0 ± 1,9	0,000 [-1,37-0,44]
CREATININ(umol/L) N=105	75,2 ± 16,4	87,9 ± 25,7	0,000 [-18,0-7,2]
AST (U/L) N=105	31,0 ± 17,8	51,7 ± 47,4	0,000 [-29,5-9,1]
ALT (U/L) N=105	28,0 ± 21,4	41,6 ± 48,0	0,031 [-22,1-0,63]
GGT (U/L) N=76	41,3 ± 48,4	107,6 ± 164,0	0,025 [-68,6-4,7]
RBC N=106	4,70 ± 0,50	4,36 ± 0,71	0,000 [0,13-0,46]
LYMPHO N=106	1,60 ± 0,70	1,28 ± 0,64	0,000 [0,20-0,58]
HBG N=106	139,2 ± 14,7	131,5 ± 20,6	0,003 [2,4-11,3]
HCT N=106	0,41 ± 0,04	0,39 ± 0,06	0,011 [0,00-0,03]
D-DIMER N=97	446,9 ± 309,2	946,7 ± 1247,9	0,001 [-853,5-244]

*CRP: C- Reactive Protein; PCT: Procalcitonin; ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase; GGT: gamma-glutamyltransferase; RBC: Red blood cell; HCT: Hematocrit; HBG: Hemoglobin; LDH: Lactate dehydrogenase

Trong toàn bộ đối tượng nghiên cứu, có 190 (64%) bệnh nhân COVID-19 thuộc nhóm nhẹ và 107 (36%) bệnh nhân COVID-19 thuộc nhóm nặng và nguy kịch. Trong nhóm nhẹ có 100 (52,6%) nam và 90 (47,4%) nữ với tuổi trung bình 36,9 ± 13,9, Sốt 30 (15,8), Khó thở 3 (1,6), Viêm phổi 84 (44,2). Tương tự, nhóm nặng và nguy kịch có 64 (59,8%) nam và 43 (40,2%) nữ với tuổi trung bình 55,1 ± 14,7, sốt 39 (36,4), khó thở 12 (11,2), Viêm phổi 68 (63,6). Tuổi trung bình và các dấu hiệu

lâm sàng giữa 2 nhóm có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$, nam giới có tỉ lệ nặng cao hơn nữ giới. Các chỉ số CRP, PCT, Ferritin, LDH, URE, Creatinin, AST, ALT, GGT, RBC, LYM, HBG, HCT, D-Dimer có sự khác biệt giữa 2 nhóm tại thời điểm mới nhập viện chưa có dấu hiệu lâm sàng nặng, có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$). (Bảng 1).

Kết quả phân tích biểu hiện gen ACE2, TMPRSS2 ở niêm mạc tự hầu bằng Realtime-PCR được thể hiện ở Hình 1:



Hình 1. Biểu hiện gen *TMPRSS2*, *ACE2* niêm mạc dịch tỵ hầu ở thời điểm nhập viện

Khảo sát biểu hiện gen *TMPRSS2* giữa các đối tượng nghiên cứu, có 23 (44,2%) bệnh nhân COVID-19 thuộc nhóm nhẹ và 29 (55,8%) thuộc nhóm nặng, nguy kịch. Trong nhóm nặng, nguy kịch có 17 (58,6%) nam và 12 (41,4%) nữ. Biểu hiện *TMPRSS2* ở nhóm nặng và nguy kịch cao

hơn gấp 1,36 lần nhóm nhẹ, có ý nghĩa thống kê ($p = 0,0004$, 95%CI = 0,09 - 0,3) (Hình 1). Biểu hiện mRNA của gen *ACE2* không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nhóm nặng và nhóm nhẹ ($p = 0,905$, 95%CI = -2,73 - 4,57).

IV. BÀN LUẬN

COVID-19 do virus SARS-CoV-2 gây ra hội chứng suy hô hấp cấp tính nghiêm trọng. Nhiều biến chứng của SARS-CoV-2 có tốc độ lây lan nhanh, tỉ lệ tử vong cao, như biến chứng *Án Độ*, biến chứng *Delta*, biến chứng *Omicron*. Các báo cáo đã khẳng định rằng virus SARS-CoV-2 xâm nhập vào cơ thể người nhờ thụ thể *ACE2* và enzyme protease serin 2 *TMPRSS2* xuyên màng.^{4,5} Theo nghiên cứu của *Hamming và cộng sự, 2004* cho rằng biểu hiện *ACE2* khiếm tốn ở đường hô hấp trên có thể hạn chế lây truyền SARS-CoV do đó cũng hạn chế SARS-CoV-2, tuy nhiên *ACE2* bảo vệ phổi khỏi bị tổn thương có thể thúc đẩy quá trình nhiễm bệnh.⁶ Do đó, sẽ rất thú vị xem liệu SARS-CoV-2 có can thiệp vào biểu hiện của *ACE2* tại đường hô hấp trên hay không. *TMPRSS2* là một enzyme protease tế bào vật chủ rất quan trọng giúp cho virus SAR-CoV-2 xâm nhập, ngoài ra

TMPRSS2 còn cần thiết cho sự phát triển và cân bằng nội môi và do đó trở thành một mục tiêu điều trị đích hấp dẫn.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã thực hiện phân tích các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của một số chỉ số sinh hóa, huyết học ở ngay ngày đầu tiên nhập viện chưa biểu hiện nặng của 297 đối tượng nghiên cứu bao gồm 2 nhóm là nhóm nhẹ và nhóm nặng, nguy kịch. Nhóm nặng, nguy kịch được theo dõi từ khi nhập viện chưa có triệu chứng nặng sau đó trong quá trình điều trị có diễn biến tiến triển nặng dần, cho thấy ở nhóm người tuổi trung niên mắc COVID-19 có tỉ lệ bệnh nặng và nguy kịch cao hơn, và giới tính nam có nguy cơ cao hơn nữ. Một số chỉ số cận lâm sàng cũng có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) giữa 2 nhóm ngay từ khi chưa có dấu hiệu lâm sàng nặng như CRP, PCT, Ferritin, LDH, URE, Creatinin, AST,

ALT, GGT, RBC, LYM, HBG, HCT, D-Dimer. Diễn biến triệu chứng lâm sàng ở bệnh nhân COVID-19 đã được chứng minh phụ thuộc vào yếu tố của virus và của chính bệnh nhân như tuổi, giới, bệnh nền... Kết quả xét nghiệm của một số chỉ số liên quan đến tình trạng viêm, rối loạn đông máu, chức năng cơ quan... là bằng chứng khách quan phản ánh tình trạng nền cũng như mức độ nhạy cảm của bệnh nhân ở giai đoạn sớm khi mới nhiễm virus. Nghiên cứu này đã đánh giá các chỉ số cận lâm sàng trên bệnh nhân COVID-19 tại Việt Nam ở thời điểm mới nhập viện, chưa chuyển biến nặng, nhưng cho thấy mức độ chênh lệch về nồng độ khá cao, vượt ngoài dải tham chiếu theo độ tuổi thông thường như CRP, PCT, D-dimer, LDH, Ferritin. Kết quả nghiên cứu cũng phù hợp với kết quả nghiên cứu khác trên thế giới.^{7,8} Từ kết quả này cho thấy có thể sử dụng các chỉ số cận lâm sàng như CRP, PCT, D-dimer, LDH, Ferritin ở giai đoạn sớm giúp sàng lọc, phân nhóm bệnh, tiên lượng diễn biến lâm sàng đưa ra quyết định điều trị và theo dõi điều trị.

Trong nghiên cứu này, mức độ biểu hiện ACE2 rất thấp trong niêm mạc ty hầu mặc dù chất lượng mẫu đảm bảo và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm nghiên cứu ($p = 0,905$, $95\%CI = -2,73 - 4,57$). ACE2 được biết đến là một enzyme gắn màng và xuất hiện một lượng nhỏ trong tuần hoàn ở dạng hòa tan nhờ sự phân cắt bởi ADAM17 (bản chất là disintegrin và metalloprotease 17) nên dạng hoà tan ngắn hơn dạng gắn màng. Các nghiên cứu trước đây vẫn còn mâu thuẫn về vai trò của biểu hiện ACE2 liên quan đến tiến triển nặng của bệnh nhân COVID-19. Một số nghiên cứu ủng hộ quan điểm cho rằng tăng ACE2 có thể làm trầm trọng thêm bệnh: biểu hiện ACE2 thấp hơn ở đường hô hấp trên có thể làm giảm tính nhạy cảm với SARS-CoV-2 ở trẻ em, giải thích hiện tượng biểu hiện triệu chứng ở trẻ em thường nhẹ hơn người lớn; ngược lại biểu

hiện ACE2 cao hơn ở những người bị tăng huyết áp và khi điều trị bằng thuốc chẹn thụ thể angiotensin hoặc người hút thuốc để giải thích hiện tượng biểu hiện nặng trên các bệnh nhân có bệnh lý này.⁹ Mặt khác, nhiều nghiên cứu ủng hộ rằng ACE2 có vai trò chống viêm có thể cải thiện sự tiến triển: ACE2 và thụ thể angiotensin II type 2 (AT2) cải thiện tình trạng viêm / tổn thương phổi cấp tính ở chuột; thiếu ACE2 làm tình trạng viêm nặng hơn trong mô mỡ khi chế độ ăn giàu năng lượng gây béo phì ở chuột.¹⁰ Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy ACE2 trên niêm mạc dịch ty hầu có thể không phải là yếu tố làm nặng thêm tình trạng bệnh, phù hợp với một số kết quả nghiên cứu khác trên các chủng tộc khác nhau trên thế giới. Xu hướng lâm sàng cũng đã được quan sát về biểu hiện triệu chứng COVID-19 liên quan đến độ tuổi có thể chịu ảnh hưởng của nồng độ ACE2 trong huyết thanh mà không phải phụ thuộc vào ACE2 trên bề mặt tế bào. Trẻ em thường có hoạt độ ACE2 cao hơn người lớn trong huyết thanh,¹¹ nên mối tương quan giữa tuổi tác và mức độ nghiêm trọng của bệnh COVID-19 được giải thích có thể không chỉ liên quan đến sự suy giảm miễn dịch ở tuổi già mà còn liên quan đến mức độ biểu hiện của ACE2 trong huyết thanh. Bằng hiệu ứng đệm, và giống như các kháng thể trung hòa, ACE2 hòa tan có thể giúp trẻ em và người không có triệu chứng chống lại virus xâm nhiễm tế bào, làm giảm khả năng lây nhiễm.

TMPRSS2 là một loại enzyme protease xuyên màng được biểu hiện rộng rãi trong các tế bào biểu mô của đường hô hấp, tiêu hóa và tiết niệu sinh dục. TMPRSS2 đóng vai trò chính trong việc kích hoạt phân giải protein S của virus SARS-CoV-2 và nhiều loại virus khác.^{12,13} Nhiều nghiên cứu chứng minh rằng TMPRSS2 giúp cho virus SARS-CoV-2 xâm nhập vào tế bào cao hơn gấp 100 lần so với các protease khác,¹⁴ TMPRSS2 phân cắt ở các gốc arginine

hoặc lysine đơn lẻ (R / K ↓), và do đó, kích hoạt các protein dung hợp của virus tại các vị trí được gọi là phân cắt monobasic. Các nghiên cứu gần đây đã chứng minh rằng những con chuột thiếu TMPRSS2 không bị bệnh lý khi nhiễm một số chủng virus cúm A, SARS-CoV và MERS-CoV do ức chế sự kích hoạt phân giải protein của virus thể hệ con cháu và do đó ngăn chặn virus lây lan theo đường hô hấp.¹⁵ Các nghiên cứu trên đã xác định TMPRSS2 là một yếu tố tế bào chủ thiết yếu đối với virus SARS-CoV-2, điều đó chứng minh rằng biểu hiện của TMPRSS2 trên đường hô hấp có thể liên quan đến mức độ nặng của bệnh. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu đã chỉ ra biểu hiện TMPRSS2 ở nam giới cao hơn ở nữ giới, điều đó có thể giải thích khả năng nhiễm bệnh nặng ở nam cao hơn nữ.¹⁶ Nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với các kết quả nghiên cứu trước đây,¹⁷ với sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa mức độ biểu hiện mRNA của gen *TMPRSS2* trên nhóm bệnh nhân COVID-19 nặng, nguy kịch với nhóm nhẹ (1,36 lần, $p = 0,0004$, 95%CI = 0,09 - 0,3). Điểm nổi bật trong nghiên cứu này là biểu hiện *TMPRSS2* được phân tích ở giai đoạn đầu chưa tiến triển nặng nhưng có sự khác biệt về mức độ biểu hiện mRNA giữa hai nhóm cho thấy TMPRSS2 có thể là yếu tố tiềm năng giúp phân loại, tiên lượng diễn biến bệnh.

Như vậy, kết quả nghiên cứu này đã gợi ý vai trò của TMPRSS2 trên bề mặt tế bào niêm mạc ty hầu cùng một số chỉ số cận lâm sàng CRP, PCT, Ferritin, LDH, URE, Creatinin, AST, ALT, GGT, RBC, LYM, HGB, HCT, D-Dimer có thể giúp tiên lượng, phân loại điều trị bệnh nhân COVID-19, trong khi đó ACE2 ở niêm mạc ty hầu không có sự khác biệt giữa hai nhóm nghiên cứu. Tuy nhiên, do nghiên cứu chỉ tập trung trong thời gian ngắn, nguồn kinh phí hạn hẹp, số bệnh nhân trong độ tuổi lựa chọn đủ điều kiện nghiên cứu với biểu hiện đầy đủ từ nhẹ đến nặng hạn

chế, nên cỡ mẫu được phân tích biểu hiện gen chưa nhiều, do đó cần phân tích trên cỡ mẫu lớn hơn trong nghiên cứu tiếp theo.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu cho thấy biểu hiện gen *TMPRSS2* ở niêm mạc ty hầu cùng một số chỉ số cận lâm sàng CRP, PCT, Ferritin, LDH, D-Dimer có thể là yếu tố tiên lượng liên quan đến mức độ nặng của bệnh nhân COVID-19 trong khi đó biểu hiện gen *ACE2* không có sự khác biệt giữa hai nhóm diễn biến nhẹ và nặng, và cần được phân tích thêm trên cỡ mẫu lớn hơn.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí của đề tài mã số ĐTĐLCN.49/20 “Nghiên cứu đặc điểm hệ gen người Việt Nam liên quan đến lây nhiễm và diễn biến của bệnh nhân COVID-19” thuộc Viện Nghiên cứu hệ gen-Viện Hàn lâm khoa học và Công nghệ Việt Nam. Nhóm nghiên cứu xin trân trọng cảm ơn Khoa Vi sinh - Sinh học phân tử, Bệnh viện Bệnh Nhiệt đới Trung ương đã cung cấp mẫu nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Cập nhật số ca nhiễm Covid-19 hôm nay mới nhất trên VnExpress. Accessed June 23, 2022. <https://vnexpress.net/covid-19/covid-19-viet-nam>.
2. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet Lond Engl*. 2020; 395(10223): 497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
3. Dassarma B, Tripathy S, Chabalala M, Matsabisa MG. Challenges in Establishing Vaccine Induced Herd Immunity through Age Specific Community Vaccinations. *Aging Dis*. 2022; 13(1): 29-36. doi:10.14336/AD.2021.0611.

4. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020; 181(2): 271-280.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052.
5. TMPRSS2 and furin are both essential for proteolytic activation of SARS-CoV-2 in human airway cells - PubMed. Accessed June 23, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32703818/>.
6. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med*. 2005; 11(8): 875-879. doi:10.1038/nm1267.
7. Bao J, Li C, Zhang K, Kang H, Chen W, Gu B. Comparative analysis of laboratory indexes of severe and non-severe patients infected with COVID-19. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2020; 509: 180-194. doi:10.1016/j.cca.2020.06.009.
8. Pourbagheri-Sigaroodi A, Bashash D, Fateh F, Abolghasemi H. Laboratory findings in COVID-19 diagnosis and prognosis. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2020; 510: 475-482. doi:10.1016/j.cca.2020.08.019.
9. Smith JC, Sausville EL, Girish V, et al. Cigarette Smoke Exposure and Inflammatory Signaling Increase the Expression of the SARS-CoV-2 Receptor ACE2 in the Respiratory Tract. *Dev Cell*. 2020; 53(5): 514-529.e3. doi:10.1016/j.devcel.2020.05.012.
10. ACE2 Deficiency Worsens Epicardial Adipose Tissue Inflammation and Cardiac Dysfunction in Response to Diet-Induced Obesity - PubMed. Accessed June 23, 2022. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26224885/>.
11. Bénétteau-Burnat B, Baudin B, Morgant G, Baumann FC, Giboudeau J. Serum angiotensin-converting enzyme in healthy and sarcoidotic children: comparison with the reference interval for adults. *Clin Chem*. 1990; 36(2): 344-346.
12. Hoffmann: Activation of viruses by host proteases - Google Scholar. Accessed June 30, 2021. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Activation+of+Viruses+by+Host+Proteases&author=M+Hoffmann&author=H+Hofmann-Winkler&author=S+P%C3%B6hlmann&publication_year=2018&.
13. Klenk HD, Garten W. Host cell proteases controlling virus pathogenicity. *Trends Microbiol*. 1994; 2(2): 39-43. doi:10.1016/0966-842x(94)90123-6.
14. Matsuyama S, Ujike M, Morikawa S, Tashiro M, Taguchi F. Protease-mediated enhancement of severe acute respiratory syndrome coronavirus infection. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2005; 102(35): 12543-12547. doi:10.1073/pnas.0503203102.
15. Iwata-Yoshikawa N, Okamura T, Shimizu Y, Hasegawa H, Takeda M, Nagata N. TMPRSS2 Contributes to Virus Spread and Immunopathology in the Airways of Murine Models after Coronavirus Infection. *J Virol*. 2019; 93(6): e01815-18. doi:10.1128/JVI.01815-18.
16. Piva F, Sabanovic B, Cecati M, Giulietti M. Expression and co-expression analyses of TMPRSS2, a key element in COVID-19. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 2021; 40(2): 451-455. doi:10.1007/s10096-020-04089-y.
17. Bunyavanich S, Do A, Vicencio A. Nasal Gene Expression of Angiotensin-Converting Enzyme 2 in Children and Adults. *JAMA*. 2020; 323(23): 2427-2429. doi:10.1001/jama.2020.8707.

Summary

ASSOCIATION OF NASOPHARYNGEAL *ACE2* AND *TMPRSS2* EXPRESSION TO SEVERITY OF COVID-19

ACE2 is a cellular membrane-bound receptor enzyme that facilitates the entry of SARS-CoV-2 virus into the cell through binding to the spike (S) protein on their surface. Spike (S) protein is cleaved by cellular transmembrane protease serine 2 (TMPRSS2) at the S1/S2 and S'2 sites that facilitate the process of viral and host membrane fusion and invasion. Thus, the level of expression of these host cell proteins may augment the virus invasion that impacts clinical symptoms. The clinical and paraclinical characteristics of the 297 COVID-19 patients were accessed. Representative 52 nasopharyngeal fluid samples randomly selected from typical severe and mild patients, respectively, were relatively compared for RNA- expression of ACE2 and TMPRSS2 by using realtime-PCR with specific primers. The results showed that TMPRSS2 but not ACE2 gene expression in the nasopharyngeal mucosa and some paraclinical indicators such as CRP, PCT, Ferritin, D-Dimer, LDH may predict the severity of COVID-19 patients but further study is required with larger sample sizes.

Keywords: COVID-19, ACE2, TMPRSS2, Gene expression.