

ĐA HÌNH NUCLEOTID ĐƠN GEN OPRD1 TRONG ĐIỀU TRỊ METHADONE THAY THẾ Ở BỆNH NHÂN NGHIỆN CHẤT DẠNG THUỐC PHIỆN

Nguyễn Thị Xuân¹, Nguyễn Quỳnh Giao¹, Trần Văn Chiếu¹
Lê Hoàng Nam², Đặng Thị Ngọc Dung và Trần Khánh Chi^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Trung tâm kiểm soát bệnh tật tỉnh Ninh Bình

Nghiên cứu thực hiện phân tích phân bố kiểu gen OPRD1 tại vị trí đa hình nucleotid đơn rs2234918, rs581111, rs529520 và đánh giá mối tương quan với liều duy trì methadone trong liệu pháp điều trị thay thế methadone ở bệnh nhân nghiện chất dạng thuốc phiện tại tỉnh Ninh Bình. Nghiên cứu thực hiện trên 400 bệnh nhân được chẩn đoán phụ thuộc vào các chất dạng thuốc phiện, được điều trị Methadone thay thế từ tháng 3 năm 2021 đến tháng 5 năm 2022 tại tỉnh Ninh Bình. Đa hình nucleotid đơn gen OPRD1 được xác định bằng phương pháp PCR và giải trình tự gen kết quả cho thấy: đa hình nucleotid đơn rs2234918 có tỉ lệ Alen T và C lần lượt là: 69,38% và 30,62%; các kiểu gen tương ứng là TT (48,5%), CT (41,75%), CC (9,75%). Đa hình nucleotid đơn rs581111 có tỉ lệ Alen G và A lần lượt là: 88,62% và 11,38%; các kiểu gen tương ứng là AA (1,75%), AG (19,25%), GG (79%). Đa hình nucleotid đơn rs529520 có tỉ lệ Alen A và C lần lượt là: 15,38% và 84,62%; các kiểu gen tương ứng là AA (3,75%), AC (23,25%), CC (73%). Người nghiện chất dạng thuốc phiện mang alen C của SNP rs2234918 có khả năng sử dụng liều duy trì methadone cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$), cao hơn so với người không có Alen C với OR = 1,556 (95%CI: 1,049-2,309), người có kiểu gen TT có khả năng sử dụng liều duy trì methadone cao ($\geq 90\text{mg/ngày}$), thấp hơn so với người không có kiểu gen TT với OR = 0,643 (95%CI: 0,433-0,953). Việc xác định kiểu gen của gen OPRD1 ở bệnh nhân nghiện chất dạng thuốc phiện điều trị methadone thay thế có thể giúp cá thể hóa điều trị.

Từ khóa: Nghiện chất dạng thuốc phiện, methadone, cá thể hóa điều trị, gen OPRD1, SNP rs2234918, SNP rs529520, SNP rs581111.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Theo báo cáo của Cơ quan phòng chống ma túy và tội phạm của Liên hợp quốc (UNODC), năm 2017 trên toàn thế giới ước tính 271 triệu người tương đương với 4,8% dân số trưởng thành trên toàn cầu sử dụng ma túy bất hợp pháp ít nhất một lần. Sự phụ thuộc hay nghiện chất dạng thuốc phiện là một trong những nguyên nhân chính gây ra bệnh tật và tử vong sớm, đồng thời làm gia tăng tội phạm,

suy thoái kết cấu xã hội và gia đình.¹ Điều trị cai nghiện bằng duy trì Methadone là phương pháp được áp dụng rộng rãi nhất, hiệu quả cao, tuy nhiên kết quả điều trị có sự khác biệt lớn giữa các cá nhân.² Ngày càng có nhiều nghiên cứu quan tâm đến đa hình di truyền các gen mã hóa các enzyme chuyển hóa, các thụ thể vận chuyển, ngoài ra các gen liên quan đến dược động học của Methadone. Một số nghiên cứu tập trung vào làm rõ vai trò của gen mã hóa thụ thể opioid delta 1 (OPRD1) đối với sự phụ thuộc vào rượu, heroin và những ảnh hưởng lên nhân cách³. Một số tác giả cũng cho rằng OPRD1 có thể đóng vai trò trong kết quả điều trị của liệu pháp duy trì methadone,

Tác giả liên hệ: Trần Khánh Chi

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: trankhanhchi@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 28/06/2022

Ngày được chấp nhận: 21/07/2022

mặc dù methadone là chất chủ vận của thụ thể μ -opioid⁴. Gần đây các đa hình nucleotid đơn *rs2234918*, *rs581111*, *rs529520* của gen được quan tâm nghiên cứu. Trong nghiên cứu này, chúng tôi tập trung tìm hiểu sự liên quan của gen OPRD1 tại vị trí đa hình nucleotid đơn *rs2234918*, *rs581111*, *rs529520* với liều duy trì methadone trong liệu pháp điều trị thay thế methadone ở bệnh nhân nghiện chất dạng thuốc phiện tại tỉnh Ninh Bình.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

400 bệnh nhân được chẩn đoán nghiện các chất dạng thuốc phiện điều trị methadone thay thế được chia thành 2 nhóm: Nhóm điều trị liều thấp (≤ 60 mg/ngày) 200 bệnh nhân và nhóm điều trị liều cao (≥ 90 mg/ngày) 200 bệnh nhân.

Tiêu chuẩn lựa chọn

- Tuổi ≥ 18 tuổi.

- Đã đạt được liều điều trị methadone duy trì ít nhất 1 tháng cho tới thời điểm nghiên cứu với tiêu chuẩn đạt liều duy trì:

+ Người bệnh được sử dụng liều có hiệu quả tối ưu duy trì và không tái sử dụng chất dạng thuốc phiện trong ít nhất 4 tuần liên tục.

Tiêu chuẩn loại trừ

Người nghiện ma túy sử dụng các loại thuốc gây nghiện khác như cocain, methamphetamine. Phụ nữ mang thai hoặc đang cho con bú. Bệnh nhân đang điều trị bằng thuốc kháng lao, nấm. Bệnh nhân đang có bệnh lý tâm thần kèm theo. Bệnh nhân có tổn thương chức năng gan, thận. (Creatinin huyết thanh $\geq 1.5X$ giới hạn trên của bình thường (ULN) HOẶC Độ thanh thải Creatinin ≤ 60 mL/phút đối với người bệnh có creatinine $< 1.5X$ ULN tại phòng xét nghiệm; AST (SGOT) và ALT (SGPT) $\geq 2.5X$ ULN, Bilirubin huyết thanh toàn phần $\geq 1.5X$ ULN).

Địa điểm nghiên cứu

6 cơ sở điều trị methadone tại tỉnh Ninh Bình; Trung tâm kiểm chuẩn chất lượng xét nghiệm - Đại học Y Hà Nội.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Nội dung nghiên cứu, chỉ số nghiên cứu

- Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu.

- Liều duy trì.

- Đa hình nucleotid đơn OPRD1 *rs2234918*, *rs581111*, *rs529520*.

Thiết bị và các hóa chất sử dụng

Máy Hóa sinh Abbott đã được nội kiểm và ngoại kiểm; tủ lạnh âm sâu -20°C ; máy ly tâm lạnh; máy PCR; bể điện di ngang; máy chụp gel; máy đo nồng độ DNA. Hóa chất và vật tư tiêu hao trong tách DNA, hóa chất khuếch đại gen, hóa chất chạy điện di.

Quy trình phân tích đa hình nucleotid đơn *rs2234918*, *rs581111*, *rs529520* của gen OPRD1:

- Với SNP *rs2234918* chúng tôi sử dụng cặp mồi tự thiết kế:

+ F: 5'-GCCCATCCACATCTTCGTCA -3',

+ R: 5'-CTACACCTCACCCCGTCATC -3'

Cặp mồi này cho sản phẩm PCR kích thước 393 bp.

Với SNP *rs581111*, *rs529520* chúng tôi sử dụng cặp mồi tự thiết kế:

- F: 5'-CTCAGAGAAGCCATTGTTGACC-3'

- R: 5'-TGTTGGTCTAACCGAATGGGAG-3'

Cặp mồi này cho sản phẩm PCR kích thước 647 bp.

- Thể tích phản ứng PCR 25 μL gồm: 12.5 μL Taq 2X master mix, 10.5 μL nước, 0.5 μL mỗi mồi và 1 μL DNA mẫu; phản ứng được thực hiện với chu kỳ nhiệt: Gia nhiệt 94°C trong 5 phút; [biến tính 94°C trong 15s, gắn mồi (55.4°C

với SNP rs2234918; 55.3°C với SNP rs581111, rs529520) trong 15s, kéo dài 72°C trong 30s] x35 chu kì; bảo quản 4°C

- Điện di trên gel agarose 1,5% .

Xác định đa hình đơn nucleotid gen OPRD1 bằng phương pháp giải trình tự.

3. Xử lý số liệu

Bằng phần mềm SPSS 22.0.

4. Đạo đức nghiên cứu

Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng đạo đức trường Đại học Y Hà Nội số 3916/QĐ - ĐHYHN ngày 06/08/2018.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm lâm sàng của đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Nhóm điều trị	Nhóm 1 (≤ 60 mg/ngày) (n = 200)	Nhóm 2 (≥ 90mg/ngày) (n = 200)	p
Đặc điểm			
Tuổi (năm) X ± SD, (min - max)	42,37 ± 7,56 (21 - 64)	41,49 ± 7,53 (24 - 67)	0,918
Cân nặng (Kg) X ± SD	58,31 ± 7,39	58,38 ± 6,75	0,244
Nam (%)	99,5	100	0,34

Tỷ lệ nam giới đi điều trị cai nghiện chiếm tỷ lệ cao. Không có sự khác biệt về tuổi, giới và cân nặng ở 2 nhóm điều.

Bảng 2. Một số tác dụng không mong muốn khi điều trị methadone thay thế

Nhóm điều trị	Nhóm 1 (≤ 60 mg/ngày) (n = 200)	Nhóm 2 (≥ 90mg/ngày) (n = 200)	p
Tác dụng không mong muốn			
Không triệu chứng (n, %)	106 (53%)	80 (40%)	
Mệt mỏi(n, %)	1 (0,5%)	1 (0,5%)	
Táo bón(n, %)	13 (6,5%)	50 (25%)	< 0,001
Mất ngủ(n, %)	0 (0%)	4 (2%)	
Ra mồ hôi tay(n, %)	0 (0%)	4 (2%)	
Hội chứng cai(n, %)	80 (40%)	61 (30,5%)	
p	< 0,001	< 0,001	

Đối tượng điều trị methadone thay thế phần lớn không có tác dụng không mong muốn, trong đó nhóm điều trị liều thấp ít tác dụng không mong muốn hơn nhóm điều trị liều cao.

2. Kết quả phân tích kiểu gen và alen các đa hình đơn gen OPRD1

Bảng 3. Tỷ lệ các kiểu gen, alen của các đa hình gen OPRD1

SNP rs2234918			SNP rs581111			SNP rs529520		
alen/ Kiểu gen	n	%	alen/ Kiểu gen	n	%	alen/ Kiểu gen	n	%
C	245	30,62	A	91	11,38	A	123	15,38
T	555	69,38	G	709	88,62	C	677	84,62
CC	39	9,75	AA	7	1,75	AA	15	3,75
CT	167	41,75	AG	77	19,25	AC	93	23,25
TT	194	48,50	GG	316	79,00	CC	292	73

Đa hình nucleotid đơn **rs2234918** có tỉ lệ Alen T và C lần lượt là: 69,38% và 30,62%; các kiểu gen tương ứng là TT (48,5%), CT (41,75%), CC (9,75%). Đa hình nucleotid đơn **rs581111** có tỉ lệ Alen G và A lần lượt là:

88,62% và 11,38%; các kiểu gen tương ứng là AA (1,75%), AG (19,25%), GG (79%). Đa hình nucleotid đơn **rs529520** có tỉ lệ Alen A và C lần lượt là: 15,38% và 84,62%; các kiểu gen tương ứng là AA (3,75%), AC (23,25%), CC (73%).

3. Mối tương quan giữa các đa hình gen và nhóm liều methadone

Bảng 4. Tương quan giữa các đa hình gen và nhóm liều methadone duy trì

Đa hình		n	Hệ số hồi quy	p	OR (95%CI)	
rs2234918	Alen	C	245	0,442	0,028	1,556 (1,049 - 2,309)
		T	555	- 0,520	0,132	0,595 (0,302 - 1,171)
	Kiểu gen	CC	39	0,520	0,132	1,682 (0,854 - 3,311)
		CT	167	0,268	0,188	1,307 (0,877 - 1,947)
		TT	194	- 0,442	0,028	0,643 (0,433 - 0,953)

	Đa hình	n	Hệ số hồi quy	p	OR (95%CI)	
rs581111	Alen	A	91	- 0,242	0,327	0,785 (0,484 - 1,273)
		G	709	0,242	0,327	1,273 (0,786 - 2,064)
	Kiểu gen	AA	7	- 0,932	0,269	0,394 (0,076 - 2,055)
		AG	77	- 0,161	0,526	0,851 (0,517 - 1,401)
		GG	316	0,242	0,327	1,273 (0,786 - 2,064)
rs529520	Alen	A	123	- 0,203	0,368	0,816 (0,524 - 1,270)
		C	677	1,048	0,077	2,852 (0,893 - 9,113)
	Kiểu gen	AA	15	- 1,048	0,077	0,351 (0,110 - 1,120)
		AC	93	- 0,028	0,906	0,972 (0,611 - 1,546)
		CC	292	0,203	0,368	1,225 (0,787 - 1,907)

Đa hình nucleotid đơn **rs2234918**, người có Alen C có khả năng sử dụng liều duy trì methadone cao ($\geq 90\text{mg/kg/ngày}$) cao hơn so với người không có Alen C với OR = 1,556, khoảng tin cậy 95% của OR nhận giá trị từ 1,049 - 2,309 không chứa 1. Người có kiểu gen TT có khả năng sử dụng liều duy trì methadone

cao ($\geq 90\text{mg/kg/ngày}$) thấp hơn so với người không có kiểu gen TT với OR = 0,643 khoảng tin cậy 95% của OR nhận giá trị từ 0,433 - 0,953 không chứa 1.

Nghiên cứu chưa ghi nhận được mối tương quan giữa đa hình nucleotid đơn **rs581111** và **rs529520** với liều điều trị methadone.

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận bệnh nhân trẻ nhất là 21 tuổi, già nhất là 67 tuổi, tuổi trung bình ở nhóm điều trị liều thấp là $42,37 \pm 7,56$, nhóm điều trị liều cao $41,49 \pm 7,53$. Kết quả này cũng phù hợp với ghi nhận ở nghiên cứu của Rui Luo và cộng sự (2017) nghiên cứu trên 257 đối tượng người Hán phụ thuộc heroin đang điều trị thay thế

methadone, tuổi trung bình ở nhóm sử dụng liều cao là $40,94 \pm 7,623$. nhóm điều trị liều thấp là $46,75 \pm 7,774$.⁵ Nam giới chiếm ưu thế gần 100%, có duy nhất 1 đối tượng nữ giới thuộc nhóm sử dụng liều thấp. Kết quả này khác với ghi nhận của Rui Luo nhóm điều trị liều cao nam (83,3%), nhóm điều trị liều thấp nam 14,6%. Nghiên cứu của chúng tôi

nhận thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa về tuổi, giới ở 2 nhóm liều điều trị, tương tự với kết quả của Rui Luo.⁵ Đối tượng điều trị methadone thay thế phần lớn không có tác dụng không mong muốn, trong đó nhóm điều trị liều thấp không có triệu chứng không mong muốn là 53% cao hơn nhóm điều trị liều cao (40%). Tác dụng không mong muốn hay gặp nhất là hội chứng cai, nhóm điều trị liều thấp (40%) cao hơn nhóm điều trị liều cao (30,5%). Táo bón là triệu chứng không mong muốn cũng thường gặp ở đối tượng nghiên cứu, trong đó nhóm điều trị liều cao (25%) hay gặp hơn nhóm điều trị liều thấp (6,5%). Các triệu chứng mất ngủ, ra mồ hôi tay chỉ thấy ở nhóm điều trị liều cao đều là 2%. Một mối tỉ lệ gặp ở 2 nhóm là như nhau. Kết quả cho thấy sử dụng methadone liều cao thì tỉ lệ gặp tác dụng không mong muốn cao hơn.

Đa hình gen *rs2234918* có tỉ lệ Alen T và C lần lượt là: 69,38% và 30,62%; các kiểu gen tương ứng là TT (48,5%), CT (41,75%), CC (9,75%). Đa hình gen *rs581111* có tỉ lệ Alen G và A lần lượt là: 88,62% và 11,38%; các kiểu gen tương ứng là AA (1,75%), AG (19,25%), GG (79%). Đa hình gen *rs529520* có tỉ lệ Alen A và C lần lượt là: 15,38% và 84,62%; các kiểu gen tương ứng là AA (3,75%), AC (23,25%), CC (73%). Kết quả ghi nhận của tác giả Luo (2017), đa hình nucleotid đơn *rs2234918* tỷ lệ alen T (79,76%), *rs581111* tỷ lệ alen G (91,56%), *rs529520* tỷ lệ alen C (87,55%).⁵ Phân bố alen, kiểu gen của các đa hình nucleotid đơn ở nhóm người Hán và đối tượng nghiên cứu của chúng tôi tương tự với kết quả của Rui Luo.⁵

Đa hình nucleotid đơn *rs2234918* nằm ở vị trí exon 3 của gen OPRD1. SNP *rs2234918* được xác định là phổ biến ở tất cả các dân tộc trên thế giới, lần đầu tiên được Mayer và cộng sự (1997) nghiên cứu cho thấy có vai trò trong

sự phụ thuộc heroin, và chưa có nghiên cứu về vai trò với kết quả điều trị thay thế methadone.⁶ Trong nghiên cứu của chúng tôi trên 400 đối tượng đang được điều trị methadone thay thế đã nhận thấy đa hình nucleotid đơn *rs2234918* có tương quan đáng kể với liều điều trị methadone. Trong đó người mang alen C cần sử dụng methadone cao hơn người không mang alen C với OR = 1,556 (95%CI: 1,049 - 2,309), người có kiểu gen TT cần sử dụng methadone liều thấp hơn với OR = 0,643 (95%CI: 0,433 - 0,953). Nelson và cộng sự (2014) nghiên cứu trên 1459 trường hợp phụ thuộc heroin tại Úc, cho thấy người có đa hình nucleotid đơn *rs581111* nằm trên intron 1 có nguy cơ phụ thuộc heroin cao hơn với OR= 1,68 ($p= 1.41 \times 10^{-5}$).⁴ Trong nghiên cứu của chúng tôi chưa ghi nhận được mối tương quan giữa SNP *rs581111*, SNP *rs529520* với liều điều trị methadone thay thế. Clarke và cộng sự (2014) nghiên cứu 582 đối tượng Mỹ gốc Âu nghiện chất gây nghiện điều trị thay thế buprenorphine hoặc methadone, cho thấy người mang SNP *rs581111* ở nữ giới có kiểu gen AA hoặc AG có kết quả xấu hơn đáng kể ở người có kiểu gen GG được điều trị bằng buprenorphine với nguy cơ tương đối RR = 1,67, 95% CI: 1,06 - 2,1. Nghiên cứu cũng chỉ ra rằng không có mối liên hệ nào đáng kể được phát hiện ở nam giới.² Luo và cộng sự (2017) nghiên cứu trên 257 đối tượng phụ thuộc nghiện chất dạng thuốc phiện trong đó có 89 đối tượng được duy trì methadone liều thấp, 168 đối tượng được duy trì methadone liều cao, cho thấy SNP *rs529520* có liên quan đến liều điều trị, người mang kiểu gen TG yêu cầu liều điều trị cao hơn.⁵ Những điều trên có thể nhận thấy giới và chủng tộc có mối tương quan đáng kể đến phương pháp điều trị thay thế và kết quả điều trị, điều này cũng giải thích tại sao kết quả nghiên cứu của chúng tôi có khác với kết quả nghiên cứu của một số tác giả châu Âu, châu Mỹ.

V. KẾT LUẬN

OPRD1 rs2234918 ở người mang alen C, kiểu gen TT có mối tương quan có ý nghĩa với liều điều trị thay thế methadone ở bệnh nhân nghiện chất dạng thuốc phiện ở tỉnh Ninh Bình, Việt Nam. Nghiên cứu chưa ghi nhận được mối tương quan giữa đa hình nucleotid đơn rs581111 và rs529520 với liều điều trị methadone.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Niaz K. International drug control system and the United Nations General Assembly Special Session (UNGASS) on the world drug problem: an overview. *Eastern Mediterranean health journal = La revue de sante de la Mediterranee orientale = al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit*. 2017; 23(3): 143-149.

2. Clarke TK, Crist RC, Ang A, et al. Genetic variation in OPRD1 and the response to treatment for opioid dependence with

buprenorphine in European-American females. *The pharmacogenomics journal*. 2014; 14(3): 303-308.

3. Crist RC, Clarke TK. OPRD1 Genetic Variation and Human Disease. *Handbook of experimental pharmacology*. 2018; 247: 131-145.

4. Nelson EC, Lynskey MT, Heath AC, et al. Association of OPRD1 polymorphisms with heroin dependence in a large case-control series. *Addiction biology*. 2014; 19(1): 111-121.

5. Luo R, Li X, Qin S, et al. Impact of SNP-SNP interaction among ABCB1, ARRB2, DRD1 and OPRD1 on methadone dosage requirement in Han Chinese patients. *Pharmacogenomics*. 2017; 18(18): 1659-1670.

6. Mayer P, Rochlitz H, Rauch E, et al. Association between a delta opioid receptor gene polymorphism and heroin dependence in man. *Neuroreport*. 1997; 8(11):2547-2550.

Summary

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISM OF THE OPRD1 IN TREATMENT IN OPIOID-DEPENDENT PATIENTS

This study is to describe the distribution of the OPRD1 gene at SNP rs2234918, SNP rs581111, SNP rs529520 and evaluate its correlation with methadone dose in methadone maintenance therapy at Ninh Binh province. We performed a cross-sectional descriptive study of 400 patients diagnosed with dependence on opiate substances and receiving methadone maintenance treatment from March 2021 to May 2022. Single nucleotide polymorphism of the OPRD1 identified by PCR and sequencing results in: SNP rs2234918: the proportion of allele A and allele C are 69.38% and 30,62% respectively; TT genotype (48.5%), CT genotype (41.75%), CC genotype (9,75%). SNP rs581111: the proportion of allele G and allele A are 88,62% và 11,38% respectively; GG genotype (79.00%), AG genotype (19.25%), AA genotype (1,75%). SNP rs529520: the proportion of allele C and allele A are 15,38% và 84,62% respectively; CC genotype (73.00%), AC genotype (23,25%), AA genotype (3,75%). Opioid-dependent patients carrying allele C in SNP rs2234918 are more likely to use a high maintenance dose of methadone (≥ 90 mg/day) than those without allele C with OR = 1.556 (95%CI: 1,049-2,309). Opioid-dependent patients carrying TT genotype in SNP rs2234918 are less likely to use a high maintenance dose of methadone (≥ 90 mg/day) than those without TT genotype with OR= 0,643 (95%CI: 0,433-0,953). The identification of the genotype in the OPRD1 gene in opioid- dependent patients in methadone maintenance treatment may facilitate individualization of treatment.

Keyword: Addiction to opiates, methadone maintenance treatment (MMT), individualization of treatment, OPRD1 gene, OPRD1 gene, SNP rs2234918, SNP rs529520, SNP rs581111.