

XÁC ĐỊNH TỶ LỆ KIỂU GEN TRÊN LOCUS *HLA-DRB1* VÀ MỐI LIÊN QUAN VỚI KHÁNG THỂ KHÁNG ACETYLCHOLIN Ở NGƯỜI BỆNH NHƯỢC CƠ

Phạm Kiều Anh Thơ¹, Lê Văn Minh¹, Trần Văn Đệ¹, Phạm Văn Phương²
Nguyễn Thanh Bình³, Lê Đình Tùng³ và Trần Quang Khải^{1,✉}

¹Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

²Bệnh viện Đa khoa Thành phố Cần Thơ

³Trường Đại học Y Hà Nội

Bệnh nhược cơ là một bệnh lý rối loạn tự miễn hiếm gặp, một số trường hợp nặng có thể dẫn đến tử vong. Vai trò kiểu gen của hệ kháng nguyên bạch cầu người (Human Leucocyte Antigen - HLA) đối với bệnh nhược cơ bắt đầu được quan tâm tại Việt Nam. Nghiên cứu này được thực hiện trên 33 bệnh nhân nhược cơ đến khám hoặc điều trị nội trú tại Bệnh viện Đa khoa Thành phố Cần Thơ từ tháng 9/2019 đến tháng 12/2021. Kết quả, locus *HLA-DRB1* ghi nhận có 13 loại alen, trong đó alen có tỷ lệ cao nhất là *HLA-DRB1*12* (24,2%). Người bệnh nhược cơ mang kiểu gen *HLA-DRB1*13* có nguy cơ làm tăng nồng độ kháng thể kháng thụ thể acetylcholin trong huyết thanh ($p = 0,031$). Có mối liên quan giữa những người bệnh nhược cơ mang kiểu gen *HLA-DRB1*10* với mức độ trung bình và nặng. Do đó, cần theo dõi nguy cơ tiến triển nặng ở những bệnh nhân mang các kiểu gen này.

Từ khóa: Kiểu gen, *HLA-DRB1*, bệnh nhược cơ.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh nhược cơ là bệnh lý tự miễn gây ra tình trạng yếu và mệt mỏi thay đổi trong ngày của cơ vân, do sự tấn công của các kháng thể vào synap thần kinh - cơ, đặc biệt là tấn công vào các thụ thể nicotinic của acetylcholin.¹ Tỷ lệ mắc mới và tần suất lưu hành được ghi nhận dựa trên các nghiên cứu dịch tễ học được thực hiện chủ yếu ở châu Âu và Hoa Kỳ trong vòng 70 năm, qua đó ghi nhận tỷ lệ mắc mới mỗi năm là 5 - 30 trường hợp/1.000.000 dân/năm và tần suất lưu hành của bệnh khoảng 10 - 20 trường hợp/100.000 dân, tỷ lệ này được dự đoán sẽ tăng lên trong khoảng thời gian sắp tới.²

Liên quan đến lĩnh vực di truyền với các

bệnh lý tự miễn nói chung và bệnh nhược cơ nói riêng, nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng đã chỉ ra mối liên quan giữa một số kiểu gen của hệ kháng nguyên bạch cầu người (Human Leucocyte Antigen - HLA) ở một số chủng tộc, giới tính, khu vực địa lý có liên quan đến nguy cơ mắc bệnh nhược cơ, tuổi khởi phát bệnh, kháng thể và nồng độ kháng thể tự miễn. Hơn một thập kỷ qua, các nghiên cứu về mối liên quan giữa kiểu gen với bệnh tật đã tìm thấy hơn 300 locus nhạy cảm với các bệnh tự miễn, trong đó locus *HLA-DRB1* ghi nhận có liên quan mật thiết với các bệnh lý tự miễn như bệnh tiểu đường typ 1, bệnh lupus ban đỏ hệ thống, bệnh viêm cột sống dính khớp.³ Câu hỏi nghiên cứu đặt ra là kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* có liên quan đến bệnh nhược cơ như thế nào, góp phần dự đoán mức độ nặng của bệnh ra sao?

Tại Việt Nam đã có một số nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, nồng độ kháng

Tác giả liên hệ: Trần Quang Khải

Trường Đại học Y dược Cần Thơ

Email: tqkhai@ctump.edu.vn

Ngày nhận: 08/09/2023

Ngày được chấp nhận: 09/10/2023

thể kháng thụ thể acetylcholin (Acetylcholine receptor – AchR) ở người bệnh nhược cơ; nhưng dữ liệu về vai trò các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* ở người bệnh nhược cơ chưa được công bố. Chính vì lẽ đó, nghiên cứu này được thực hiện với hai mục tiêu:

1) Xác định tỷ lệ các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* ở người bệnh nhược cơ.

2) Phân tích mối liên quan giữa các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* với nồng độ kháng thể kháng AChR và mức độ nặng của bệnh nhược cơ.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Nghiên cứu được tiến hành trên 33 người bệnh mắc bệnh nhược cơ đến khám hoặc điều trị nội trú tại Bệnh viện Đa khoa Thành phố Cần Thơ từ tháng 9/2019 đến tháng 12/2021.

Tiêu chuẩn chọn mẫu

- Người bệnh được chẩn đoán nhược cơ và phân loại mức độ bệnh theo Hiệp hội nhược cơ Hoa Kỳ - MGFA (Myasthenia Gravis Foundation America), được bác sĩ chuyên khoa khám, nhận định chẩn đoán độc lập, với bệnh cảnh lâm sàng cụ thể như sau: Nhóm cơ mệt mỗi từng cơn, nhanh chóng khi hoạt động gắng sức, nặng hơn vào cuối ngày và giảm nhẹ khi được nghỉ ngơi hoặc khi dùng thuốc ức chế men cholinesterase. Các tổn thương không phù

hợp với phân bố thần kinh, thường khởi phát với các cơ vận nhãn, cơ họng hầu... Không rối loạn cảm giác, không đau.⁴

- Người bệnh hoặc người đại diện hợp pháp của người bệnh đồng ý tham gia nghiên cứu, có ký vào bản chấp thuận.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhược cơ bẩm sinh do di truyền hoặc các trường hợp nhược cơ kèm các bệnh lý khác về tự miễn, miễn dịch.

- Người bệnh không có mẫu máu toàn phần đạt chất lượng để làm xét nghiệm xác định kiểu gen ở locus *HLA-DRB1*.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang.

Phương pháp chọn mẫu

Thuận tiện. Thực tế, nghiên cứu này lấy được 33 mẫu bệnh nhân nghiên cứu.

Nội dung nghiên cứu

Những người bệnh thoả mãn tiêu chuẩn chọn mẫu sẽ được mời tham gia nhóm nghiên cứu.

Người bệnh sẽ được hỏi bệnh, khám lâm sàng để ghi nhận một số đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu và phân loại mức độ bệnh theo MGFA (Phụ lục).⁴ Việc khám và phân loại mức độ bệnh do bác sĩ chuyên khoa thực hiện và nhận định độc lập.

Bảng 1. Phân nhóm nhược cơ lâm sàng theo hiệp hội nhược cơ Hoa Kỳ - MGFA (Myasthenia Gravis Foundation of America)⁴

Nhóm bệnh	Biểu hiện lâm sàng
I	- Sụp mí hoặc yếu các cơ vận nhãn khác - Không yếu các cơ toàn thân
II	- Yếu nhẹ các nhóm cơ khác - Có hay không có yếu các cơ mắt như độ I

Nhóm bệnh	Biểu hiện lâm sàng
IIa	- Chủ yếu nhược cơ tứ chi, cơ thân, hoặc cả hai - Có thể ảnh hưởng ít đến các cơ hầu – họng
IIb	- Chủ yếu nhược cơ hầu – họng, cơ hô hấp hoặc cơ cả hai. - Có thể ảnh hưởng một phần hoặc toàn phần các cơ tứ chi, cơ thân hoặc cả hai
III	- Nhược cơ mức độ vừa ở những nhóm cơ khác ngoài cơ mắt - Có thể kèm theo nhược cơ mắt ở mọi cấp độ
IIIa	- Chủ yếu nhược cơ tứ chi, cơ thân, hoặc cả hai - Có thể ảnh hưởng ít đến các cơ hầu – họng
IIIb	- Chủ yếu nhược cơ hầu – họng, cơ hô hấp hoặc cơ cả hai. - Có thể ảnh hưởng một phần hoặc toàn phần các cơ tứ chi, cơ thân hoặc cả hai
IV	- Nhược cơ mức độ nặng ở những nhóm cơ khác ngoài cơ mắt - Có thể kèm theo nhược cơ mắt ở mọi cấp độ
IVa	- Chủ yếu nhược cơ tứ chi, cơ thân, hoặc cả hai - Có thể ảnh hưởng ít đến các cơ hầu – họng
IVb	- Chủ yếu nhược cơ hầu – họng, cơ hô hấp hoặc cơ cả hai. - Có thể ảnh hưởng một phần hoặc toàn phần các cơ tứ chi, cơ thân hoặc cả hai
V	- Là thể nặng nhất (cơ nhược cơ) - Phải đặt nội khí quản (có hoặc không cần giúp thở)
Nhóm a:	Gồm những người bệnh thuộc phân nhóm IIa, IIIa, IVa
Nhóm b:	Gồm những người bệnh thuộc phân nhóm IIb, IIIb, IVb

Mỗi người bệnh nhược cơ được lấy 2 ống máu: 1 ống máu 3ml máu toàn phần có chất chống đông EDTA (ống màu tím) cho xét nghiệm *HLA-DRB1*; và 1 ống máu 2ml máu không có chất chống đông (ống màu đỏ) để định lượng kháng thể kháng AChR.

+ Đối với xét nghiệm *HLA-DRB1*: Ống nghiệm chứa máu có chất chống đông EDTA được vận chuyển đến Phòng xét nghiệm của Bộ môn Sinh lý bệnh-Miễn Dịch, Trường Đại học Y Hà Nội để tiến hành xác định kiểu gen HLA trên locus *HLA-DRB1* bằng phương pháp PCR-SSP (Polymerase Chain Reaction

Sequence Specific Primer) theo quy trình kỹ thuật như sau:

(1) Ly trích DNA từ 200µl máu ngoại vi bằng bộ kit QIAamp DNA Blood mini kit của hãng Qiagen, thực hiện lần lượt các bước theo quy trình đến khi thu nhận được DNA và kiểm tra độ tinh sạch DNA đạt chuẩn (OD 260/280) từ 1,7 – 1,9;

(2) xác định kiểu gen HLA sử dụng bộ Kit Micro SSP™ HLA DNA Typing Tray (One Lambda) ở locus *HLA-DRB1*: bộ kit được tiến hành trên các khay có tổng thể tích là 10µl đã có sẵn primer đặc hiệu và D-mix là các thành

phần của phản ứng PCR. Phản ứng PCR được thực hiện theo quy trình luân nhiệt. Sản phẩm PCR được điện di trên thạch agarose 2% trong dung dịch đệm 0,5X TBE rồi được chụp hình. Kết quả được nghiên cứu viên phân tích trên phần mềm HLA Fusion 4.0.

+ Đối với xét nghiệm định lượng kháng thể kháng AChR: các mẫu máu được định lượng kháng thể kháng AChR theo phương pháp xét nghiệm miễn dịch liên kết enzyme (Enzyme-linked immunosorbent assays - ELISA) miễn thể cạnh tranh, sử dụng bộ Kit DRG của Hoa Kỳ và được thực hiện theo quy trình tại Khoa xét nghiệm sinh hóa, huyết học - Bệnh viện Medic Hòa Hảo, Cần Thơ:

(1) Rút 3ml máu toàn phần cho vào ống nghiệm không có chất chống đông;

(2) tách lấy 0,5ml huyết thanh cho vào ống nghiệm và bảo quản ở nhiệt độ -80°C ;

(3) tiến hành xét nghiệm theo quy trình và đọc kết quả trên máy đo mật độ quang DTX 880 ở bước sóng 450nm, xét nghiệm được chẩn đoán dương tính với ngưỡng chẩn đoán $\geq 0,5$ nmol/L (lấy theo khuyến cáo của nhà sản xuất).

Xử lý số liệu

Theo phương pháp thống kê y học, nhập số liệu và phân tích bằng phần mềm SPSS 22.0. Các biến số được thể hiện dưới dạng trung bình, độ lệch, trung vị, giá trị nhỏ nhất, giá trị

lớn nhất, tỷ lệ phần trăm, tần số. Các test thống kê được sử dụng để so sánh hai trung bình: t-test cho các biến có phân bố chuẩn, các test phi tham số (Kruskal Wallis và Mann-Whitney U) cho các biến không có phân bố chuẩn. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức về nghiên cứu y sinh, Trường Đại học Y Hà Nội theo chứng nhận số NCS: 04/ĐHYHN- HĐĐĐ, ngày 29 tháng 03 năm 2019.

III. KẾT QUẢ

1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Trong thời gian từ tháng 09/2019 tới tháng 12/2021, có 33 người bệnh nhược cơ tham gia nghiên cứu. Nữ chiếm tỷ lệ nhiều hơn (57,6%); tỷ số nam:nữ là 1:1,4. Tuổi trung bình của người bệnh nhược cơ là $52,76 \pm 10,75$ tuổi, tuổi thấp nhất là 33 tuổi và tuổi cao nhất là 74 tuổi; có 9 người bệnh (27,3%) có tuổi khởi phát sớm < 45 tuổi và 24 người bệnh (72,7%) có tuổi khởi phát muộn ≥ 45 tuổi. Đa số người bệnh có biểu hiện sụp mi (87,9%), song thị (66,7%) và yếu tứ chi (63,6%). Theo phân nhóm nhược cơ MGFA năm 2000, nhóm IIa chiếm tỷ lệ cao nhất (24,2%); nhóm IVa chiếm tỷ lệ thấp nhất (6,1%). Có 24 người bệnh (72,7%) có kháng thể kháng AChR với trung vị là 7,83 nm/l (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu (n = 33)

	Đặc điểm	Tần suất n	Tỷ lệ %
Giới tính	Nam	14	42,4
	Nữ	19	57,6
Tuổi	Trung bình \pm SD	$52,76 \pm 10,75$	
	< 45 (Khởi phát sớm)	9	27,3
	≥ 45 (Khởi phát muộn)	24	72,7

	Đặc điểm	Tần suất n	Tỷ lệ %
Lâm sàng	Sụp mí	29	87,9
	Song thị	22	66,7
	Yếu tứ chi	21	63,6
	Nuốt nghẹn	20	60,6
	Khó thở	14	42,4
	Nói khó	12	36,4
	Triệu chứng tăng lên khi vận động, giảm khi nghỉ ngơi	25	75,6
	Đáp ứng với thuốc kháng Cholinesterase	31	93,9
Phân nhóm nhược cơ theo MGFA	I	6	18,2
	IIa	8	24,2
	IIb	6	18,2
	IIIa	7	21,2
	IIIb	4	12,1
	Iva	2	6,1
Kháng thể kháng AChR	Có	24	72,7
	Trung vị, khoảng tứ phân vị (nm/l)	7,83 (0-12,27)	

MGFA: Hiệp hội Nhược cơ Hoa Kỳ (Myasthenia Gravis Foundation America)
AChR: Thụ thể acetylcholine (Acetylcholin receptor)

2. Các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* ở người bệnh nhược cơ

33 người bệnh nhược cơ tương ứng với 66 alen. Khảo sát ở locus *HLA-DRB1* ghi nhận

có 13 loại alen, trong đó alen có tỷ lệ cao nhất là *HLA-DRB1*12* (24,2%); tiếp đến là *HLA-DRB1*09* và *HLA-DRB1*03* chiếm tỷ lệ lần lượt là 19,7% và 10,6% (Bảng 2).

Bảng 2. Tỷ lệ các alen *HLA-DRB1* (n = 66)

STT	Alen	Tần suất (n)	Tỷ lệ (%)
1	<i>HLA-DRB1*12</i>	16	24,2
2	<i>HLA-DRB1*09</i>	13	19,7
3	<i>HLA-DRB1*03</i>	7	10,6
4	<i>HLA-DRB1*10</i>	5	7,6

STT	Alen	Tần suất (n)	Tỷ lệ (%)
5	<i>HLA-DRB1*15</i>	4	6,1
6	<i>HLA-DRB1*14</i>	4	6,1
7	<i>HLA-DRB1*07</i>	4	6,1
8	<i>HLA-DRB1*04</i>	4	6,1
9	<i>HLA-DRB1*08</i>	3	4,5
10	<i>HLA-DRB1*16</i>	2	3,0
11	<i>HLA-DRB1*13</i>	2	3,0
12	<i>HLA-DRB1*11</i>	1	1,5
13	<i>HLA-DRB1*01</i>	1	1,5
	Tổng	66	100

HLA: kháng nguyên bạch cầu người (Human Leucocyte Antigen)

3. Mối liên quan giữa các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* với nồng độ kháng thể kháng AChR và mức độ nặng của bệnh nhược cơ

Những người bệnh nhược cơ có kiểu gen *HLA-DRB1*12*, *HLA-DRB1*10*, *HLA-DRB1*07*, *HLA-DRB1*08*, *HLA-DRB1*11* có nồng độ kháng thể kháng AChR cao hơn so với những người bệnh không có sự hiện diện của các

kiểu gen này; tuy nhiên sự khác biệt chưa có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$). Những người bệnh có kiểu gen *HLA-DRB1*13* có nồng độ kháng thể kháng AChR trung bình 20,89 nm/l cao hơn những người bệnh không có kiểu gen này với nồng độ kháng thể kháng AChR trung bình 6,49 nm/l (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,031$) (Bảng 3).

Bảng 3. Liên quan giữa các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* với nồng độ kháng thể kháng AChR (n = 33)

STT	Alen	Nồng độ kháng thể kháng AChR trung bình (nm/l)	p (Mann-Whitney U)
1	<i>HLA-DRB1*12</i>	Có (n = 16)	7,68 ± 6,79
		Không (n = 50)	7,12 ± 6,04
2	<i>HLA-DRB1*09</i>	Có (n = 13)	7,26 ± 6,21
		Không (n = 53)	7,42 ± 6,53
3	<i>HLA-DRB1*03</i>	Có (n = 7)	7,71 ± 6,02
		Không (n = 59)	8,34 ± 6,93

STT	Alen		Nồng độ kháng thể kháng AChR trung bình (nm/l)	p (Mann-Whitney U)
4	<i>HLA-DRB1*10</i>	Có (n = 5)	12,51 ± 9,77	0,138
		Không (n = 61)	6,44 ± 6,08	
5	<i>HLA-DRB1*15</i>	Có (n = 4)	6,54 ± 4,62	0,822
		Không (n = 62)	7,47 ± 6,25	
6	<i>HLA-DRB1*14</i>	Có (n = 4)	5,69 ± 3,86	0,536
		Không (n = 62)	7,59 ± 6,27	
7	<i>HLA-DRB1*07</i>	Có (n = 4)	12,26 ± 2,9	0,064
		Không (n = 62)	6,68 ± 6,08	
8	<i>HLA-DRB1*04</i>	Có (n = 4)	4,57 ± 3,31	0,339
		Không (n = 62)	7,74 ± 6,11	
9	<i>HLA-DRB1*08</i>	Có (n = 3)	7,77 ± 6,44	1,00
		Không (n = 63)	7,32 ± 6,74	
10	<i>HLA-DRB1*16</i>	Có (n = 2)	0,00	0,091
		Không (n = 64)	7,83 ± 6,88	
11	<i>HLA-DRB1*13</i>	Có (n = 2)	20,89 ± 9,09	0,031
		Không (n = 64)	6,49 ± 5,96	
12	<i>HLA-DRB1*11</i>	Có (n = 1)	8,7 ± 0,00	0,831
		Không (n = 65)	7,32 ± 7,04	
13	<i>HLA-DRB1*01</i>	Có (n = 1)	6,44 ± 0,00	0,831
		Không (n = 65)	7,39 ± 7,04	

HLA: kháng nguyên bạch cầu người (Human Leucocyte Antigen)

AChR: thụ thể acetylcholine AChR (Acetylcholin receptor)

Alen *HLA-DRB1*12*, *HLA-DRB1*03*, *HLA-DRB1*01*, *HLA-DRB1*14*, *HLA-DRB1*15*, *HLA-DRB1*08*, *HLA-DRB1*04*, *HLA-DRB1*11* được phát hiện với tỷ lệ cao hơn ở người bệnh nhược cơ phân nhóm I, II so với người bệnh nhược cơ

phân nhóm III, IV. Alen *HLA-DRB1*10* được tìm thấy ở cả 5 người bệnh nhược cơ phân nhóm III, IV và chưa được ghi nhận ở người bệnh nhược cơ phân nhóm I, II (Bảng 4).

Bảng 4. Liên quan giữa các kiểu gen trên locus HLA-DRB1 với mức độ nặng ở người bệnh nhược cơ (n = 33)

STT	Alen	Phân nhóm theo MGFA		p (Fisher)
		I, II n (%) (n = 20)	III, IV n (%) (n = 13)	
1	<i>HLA-DRB1*12</i>	9 (64,3)	5 (35,7)	1,000
2	<i>HLA-DRB1*09</i>	6 (50)	6 (50)	0,465
3	<i>HLA-DRB1*03</i>	5 (71,4)	2 (28,6)	NT
4	<i>HLA-DRB1*10</i>	0 (0)	5 (100)	NT
5	<i>HLA-DRB1*01</i>	1 (100)	0 (0)	NT
6	<i>HLA-DRB1*07</i>	2 (50)	2 (50)	NT
7	<i>HLA-DRB1*14</i>	4 (100)	0 (0)	NT
8	<i>HLA-DRB1*15</i>	3 (75)	1 (25)	NT
9	<i>HLA-DRB1*08</i>	2 (66,7)	1 (33,3)	NT
10	<i>HLA-DRB1*04</i>	3 (75)	1 (25)	NT
11	<i>HLA-DRB1*13</i>	0 (0)	2 (100)	NT
12	<i>HLA-DRB1*16</i>	1 (50)	1 (50)	NT
13	<i>HLA-DRB1*11</i>	1 (100)	0 (0)	NT

MGFA: Hiệp hội nhược cơ Hoa Kỳ (Myasthenia Gravis Foundation America)

HLA: Kháng nguyên bạch cầu người (Human Leucocyte Antigen)

NT: Không khảo sát (Not tested)

IV. BÀN LUẬN

1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu

Bệnh nhược cơ được ghi nhận xuất hiện nhiều ở nữ giới hơn nam giới. Nghiên cứu này cũng ghi nhận, nữ chiếm tỷ lệ nhiều hơn (57,6%) và tỷ số nam:nữ là 1:1,4. Sự khác biệt về mặt giới tính trong bệnh lý nhược cơ được các nhà khoa học lý giải có liên quan đến hormon sinh dục nữ, trong đó estrogen đóng vai trò quyết định trong việc tham gia vào cơ chế sinh bệnh của các bệnh lý tự miễn tương tự như bệnh nhược cơ.⁵

Bệnh nhược cơ có thể xảy ra ở mọi lứa tuổi, xuất hiện trên những người bệnh từ 1 tuổi đến 98 tuổi; tuổi trung bình mắc bệnh tăng dần theo thời gian. Tác giả Ivan Martinkan thực hiện khảo sát dịch tễ trên 2.074 người bệnh nhược cơ ở Slovakia và cho kết luận là tuổi trung bình mắc bệnh ở giai đoạn 1990 - 1999 là $46,8 \pm 1,9$ tuổi; giai đoạn 2000 - 2009 là $52,3 \pm 1,4$ tuổi trong đó tuổi trung bình của nam là $57,4 \pm 1,8$ tuổi và của nữ $48,4 \pm 2,0$ tuổi.⁶ Nghiên cứu của chúng tôi có kết quả cao hơn so với tác giả Ivan Martinkan giai đoạn 1990 - 1999

và tương đồng ở giai đoạn 2000 - 2009 với tuổi trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi được ghi nhận là $52,76 \pm 10,75$ tuổi. Thực ra cũng khá khiên trong việc so sánh này khi cỡ mẫu chúng tôi khá nhỏ so với nghiên cứu của Ivan Martinkan; tuy nhiên có thể thấy, sự gia tăng về tuổi trung bình ở người bệnh nhược cơ qua từng giai đoạn tương ứng với sự phát triển của các phương tiện chẩn đoán và điều trị các bệnh lý tự miễn.

Số lượng các nếp gấp ở màng sau synap và mật độ thụ thể acetylcholin của các cơ vòng mi ít hơn so với các nhóm cơ vân ở vị trí khác, bên cạnh đó có khoảng 20% tế bào cơ tại cơ vòng mi thuộc nhóm tế bào ưu thế tạo trương lực cơ hơn cơ rút cơ dẫn đến trên người bệnh nhược cơ, nhóm cơ vòng mi sẽ bị ảnh hưởng đầu tiên, do đó triệu chứng sụp mi thường được ghi nhận chiếm tỷ lệ cao nhất trong các triệu chứng lâm sàng.⁷ Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy: 87,9% người bệnh có triệu chứng sụp mi, tiếp đến là biểu hiện song thị (66,7%), yếu tứ chi (63,6%), nuốt nghẹn (60,6%) và nói ngọng (36,4%).

Các kháng thể tự miễn xuất hiện ở người bệnh nhược cơ là cơ chế bệnh sinh quan trọng gây nên sự phá hủy cấu trúc hoặc phong bế thụ thể ở màng sau synap thần kinh - cơ, các nghiên cứu đã phát hiện có khoảng 80%-85% người bệnh nhược cơ xuất hiện kháng thể kháng thụ thể acetylcholin, 40% - 70% người bệnh dương tính với kháng thể kháng tyrosin kinase cơ đặc thù (MuSK) và 4% - 40% kháng thể kháng protein liên quan đến thụ thể lipoprotein 4 (LPR4).⁸ Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có 72,7% người bệnh nhược cơ có xét nghiệm kháng thể kháng AChR dương tính; 27,3% người bệnh có xét nghiệm kháng thể kháng AChR âm tính, tuy nhiên không thể loại trừ việc các người bệnh này có sự hiện diện của các nhóm kháng thể miễn dịch khác do

chúng tôi chưa thực hiện được các xét nghiệm kiểm tra các loại kháng thể tác động gián tiếp đã được tìm thấy ở người bệnh nhược cơ theo y văn.

2. Các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* ở người bệnh nhược cơ

Chúng tôi ghi nhận ở những người bệnh nhược cơ có 13 loại allele tại locus *HLA-DRB1*, trong đó có tỷ lệ cao nhất là *HLA-DRB1*12* hiện diện với tỷ lệ 24,2%; đây cũng là kiểu alen xuất hiện với tỷ lệ cao nhất trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thanh Bình trên 218 mẫu máu cuốn rốn tại (30,1%).⁹ Tuy nhiên, theo nghiên cứu của tác giả, các kiểu alen *HLA-DRB1*09* chiếm tỷ lệ 19,7%, kiểu alen *HLA-DRB1*01* chiếm tỷ lệ 1,5% trong khi đó kết quả nghiên cứu trên 218 mẫu máu cuống rốn tỷ lệ các allele được tìm ra tương ứng tỷ lệ 8,8% và 0,5%; sự xuất hiện ưu thế của kiểu gen *HLA-DRB1*09*, *HLA-DRB1*01* có thể giúp gợi ý nguy cơ mắc bệnh nhược cơ trên người Việt Nam.⁹

Trước đây, nhiều nghiên cứu từng ghi nhận alen *HLA-DRB1*03* được tìm thấy với tần suất cao trên nhóm người bệnh nhược cơ ở châu Âu; và *HLA-DRB1*09* được ghi nhận với tần suất xuất hiện cao ở nhóm dân tộc Nhật Bản.¹⁰ Tác giả Suzuki và cộng sự công bố kết quả nghiên cứu trên 75 người Nhật Bản có chẩn đoán bệnh nhược cơ trong đó ghi nhận sự xuất hiện có ý nghĩa thống kê của kiểu gen *HLA-DRB1*15:01* ở người mắc bệnh nhược cơ so với người khỏe mạnh, chưa ghi nhận sự liên quan của kiểu gen *HLA-DRB1* và tuổi khởi phát; so sánh với nghiên cứu của tác giả Vieira ML trên nhóm người bệnh nhược cơ chủng tộc da trắng ghi nhận sự xuất hiện có ý nghĩa thống kê của kiểu gen *HLA-DRB1*03* ở người bệnh nhược cơ liên quan đến lứa tuổi mắc bệnh sớm, biểu hiện chủ yếu ở nhóm người bệnh nhược cơ toàn thân và có sự xuất hiện của kháng thể kháng AChR trong huyết thanh.^{11,12}

Các khác biệt trong biểu hiện kiểu gen ở locus *HLA-DRB1* giữa nghiên cứu của chúng tôi so với nghiên cứu của các tác giả khác ở các quốc gia khác nhau có thể được lý giải do sự đa hình về kiểu gen của HLA và đặc điểm riêng biệt ở mỗi quần thể của từng nghiên cứu.

3. Mối liên quan giữa các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* với nồng độ kháng thể kháng AChR và mức độ nặng của bệnh nhược cơ

Các kiểu gen trên locus *HLA-DRB1* đã từng được tìm thấy có mối liên quan nhiều hơn đến kháng thể kháng MuSK trên những người bệnh nhược cơ. Nghiên cứu của Mahdi Alahgholi-Hajibehzad và cộng sự cho thấy khi hiện diện *HLA-DRB1*14* thì tỷ lệ người bệnh nhược cơ xuất hiện kháng thể MuSK-MG sẽ cao hơn so với sự xuất hiện của kháng thể kháng thụ thể acetylcholin. Hạn chế trong nghiên cứu của mình, chúng tôi chưa thực hiện được việc định lượng kháng thể kháng MuSK trên những người bệnh nhược cơ, do đó trong thời gian tới, định hướng nghiên cứu tìm hiểu thêm mối liên quan giữa những người bệnh nhược cơ mang kiểu gen *HLA-DRB1* và kháng thể kháng MuSK.¹³ Nghiên cứu chúng tôi bước đầu ghi nhận những người bệnh nhược cơ có kiểu gen *HLA-DRB1*12*; *HLA-DRB1*10*; *HLA-DRB1*07*; *HLA-DRB1*08*; *HLA-DRB1*11*; có nồng độ kháng thể kháng AChR cao hơn so với những người bệnh không có sự hiện diện của các kiểu gen trên, và ngược lại những người bệnh nhược cơ không mang kiểu gen *HLA-DRB1*09*; *HLA-DRB1*03*; *HLA-DRB1*15*; *HLA-DRB1*14*; *HLA-DRB1*04*; *HLA-DRB1*16*; *HLA-DRB1*01* có nồng độ kháng thể kháng AChR cao hơn so với những người mang gen này. Đặc biệt nghiên cứu của chúng tôi tìm thấy mối liên quan có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ kháng thể kháng thụ thể acetylcholin ở người bệnh nhược cơ và sự có mặt của kiểu alen *HLA-DRB1*13*, sự hiện diện của *HLA-DRB1*13* làm tăng nồng độ kháng thể

kháng thụ thể acetylcholin lên hơn 5 lần so với những người bệnh không có mặt alen này với $p = 0,031$. Dữ liệu này chưa từng được công bố trong các nghiên cứu trước đây và có thể giúp ích cho việc dự báo bệnh lý nhược cơ có liên quan đến kháng thể kháng AChR.

Khi tìm hiểu mối liên quan của các kiểu alen *HLA* đối với phân độ nặng của người bệnh nhược cơ trên lâm sàng, Hui-yu Feng đã chia người bệnh nhược cơ ra làm 3 nhóm dựa trên 5 phân nhóm của hiệp hội nhược cơ Hoa Kỳ bao gồm: (1) nhóm I (nhược cơ mắt đơn thuần), (2) nhóm II, III, IV (nhược cơ nhẹ, trung bình, nặng), (3) nhóm V (cơ nhược cơ, phải đặt nội khí quản); và người bệnh nhược cơ có mang kiểu alen *HLA-DRB1*04* gia tăng nguy cơ mắc bệnh nhược cơ ở nhóm V, alen *HLA-DRB1*16* gia tăng nguy cơ mắc bệnh nhược cơ ở cả 4 phân nhóm I, II, III, IV, riêng kiểu alen *HLA-DRB1*04*, *HLA-DRB1*07*, *HLA-DRB1*09* làm tăng nguy cơ mắc bệnh nhược cơ nhóm I.¹⁴ Trong nghiên cứu này, chúng tôi không ghi nhận người bệnh nhược cơ ở phân nhóm V và số lượng người bệnh phân nhóm I (nhược cơ mắt đơn thuần) ít, do đó chúng tôi chia phân độ nặng bệnh nhân nhược cơ thành hai phân nhóm: phân nhóm I, II (nhược cơ mắt đơn thuần, nhược cơ nhẹ), phân nhóm III, IV (nhược cơ trung bình, nhược cơ nặng). Chúng tôi nhận thấy tại locus *HLA-DRB1*: alen *HLA-DRB1*12*, *HLA-DRB1*03*, *HLA-DRB1*01*, *HLA-DRB1*14*, *HLA-DRB1*15*, *HLA-DRB1*08*, *HLA-DRB1*04*, *HLA-DRB1*11* được phát hiện với tỷ lệ cao hơn ở người bệnh nhược cơ phân nhóm I, II so với người bệnh nhược cơ phân nhóm III, IV. Alen *HLA-DRB1*10* được tìm thấy ở cả 5 người bệnh nhược cơ phân nhóm III, IV, chưa được ghi nhận ở người bệnh nhược cơ phân nhóm I, II. Dữ liệu này chưa từng được công bố trong các nghiên cứu trước đây và có thể giúp ích cho việc dự báo phân độ nặng của người bệnh nhược cơ có mang kiểu alen tương ứng.

Bệnh nhược cơ là bệnh tự miễn hiếm gặp, với tuần suất lưu hành thấp, trong thời gian hơn 2 năm tiến hành nghiên cứu, mặc dù số lượng bệnh nhân đã đáp ứng được công thức tính cỡ mẫu, tuy nhiên so với các tác giả khác trên thế giới số lượng mẫu nghiên cứu này vẫn còn thấp. Mặt khác, nghiên cứu này chưa tiến hành xác định kiểu gen *HLA-DRB1* trên nhóm người khỏe mạnh (nhóm đối chứng) để so sánh sự khác biệt về biểu hiện kiểu gen ở người bệnh nhược cơ và nhóm người khỏe mạnh ở quần thể người Việt Nam, để từ đó củng cố thêm các căn cứ khoa học, cung cấp cái nhìn sâu sắc hơn về kiến trúc di truyền học ở bệnh nhược cơ. Đây cũng chính là một số hạn chế của nghiên cứu này.

V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu bước đầu ghi nhận một số trường hợp với kiểu gen *HLA-DRB1*13* có mối liên quan đến kháng thể AChR và kiểu gen *HLA-DRB1*10* có liên quan đến bệnh nhược cơ mức độ trung bình và nặng. Do đó, có thể thực hiện xét nghiệm gen ở những bệnh nhân nhược cơ mức độ trung bình và theo dõi nguy cơ tiến triển nặng ở những bệnh nhân mang các kiểu gen này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Hehir MK, Silvestri NJ. Generalized Myasthenia Gravis: Classification, Clinical Presentation, Natural History, and Epidemiology. *Neurologic Clinics*. 2018; 36(2): 253-260.
2. Hehir MK, Silvestri NJ. Generalized Myasthenia Gravis: Classification, Clinical Presentation, Natural History, and Epidemiology. *Neurologic Clinics*. 2018; 36(2): 253-260.
3. Zhong H, Zhao C, Luo S. HLA in myasthenia gravis: From superficial correlation to underlying mechanism. *Autoimmun Rev*. 2019; 18(9): 102349.
4. Nils Erik Gilhus ST. Myasthenia gravis. *Disease Primer*. 2019; 5:30.
5. Fan L, Ma S, Yang Y, Yan Z, Li J, Li Z. Clinical differences of early and late-onset myasthenia gravis in 985 patients. *Neurological research*. 2019; 41(1): 45-51.
6. Martinka I, Fulova M, Spalekova M, Spalek P. Epidemiology of Myasthenia Gravis in Slovakia in the Years 1977-2015. *Neuroepidemiology*. 2018; 50(3-4): 153-159.
7. Soltys J, Gong B, Kaminski HJ, Zhou Y, Kusner LL. Extraocular muscle susceptibility to myasthenia gravis: unique immunological environment? *Ann N Y Acad Sci*. 2008; 1132:220-224.
8. T.H. Popperud MIB, M. Rasmussen, E. Kerty. Juvenile myasthenia gravis in Norway: Clinical characteristics, treatment, and long-term outcome in a nationwide population-based cohort. *Official Journal of the European Paediatric Neurology Society*. 2017; 21 707–714.
9. Nguyễn Thanh Bình NTT. Đặc điểm kiểu gen HLA các mẫu máu cuống rốn lưu trữ tại Bệnh viện nhi Trung Ương. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*. 2021; 143 (7) 8-14.
10. Xie Y-c, Qu Y, Sun L, et al. Association between HLA-DRB1 and myasthenia gravis in a northern Han Chinese population. *Journal of Clinical Neuroscience*. 2011; 18(11): 1524-1527.
11. Suzuki S, Kuwana M, Yasuoka H, Tanaka K, Fukuuchi Y, Kawakami Y. Heterogeneous immunogenetic background in Japanese adults with myasthenia gravis. *Journal of the Neurological Sciences*. 2001; 189(1): 59-64.
12. Vieira ML, Caillat-Zucman S, Gajdos P, Cohen-Kaminsky S, Casteur A, Bach J-F. Identification of genomic typing of non-DR3 HLA class II genes associated with myasthenia

gravis. *Journal of Neuroimmunology*. 1993; 47(2): 115-122.

13. Alahgholi-Hajibehzad M, Yilmaz V, Gulsen-Parman Y, et al. Association of HLA-DRB1 *14, -DRB1 *16 and -DQB1 *05 with MuSK-myasthenia gravis in patients from

Turkey. *Hum Immunol*. 2013; 74(12): 1633-1635.

14. Feng X, Li W, Song J, et al. HLA typing using next-generation sequencing for Chinese juvenile- and adult-onset myasthenia gravis patients. *J Clin Neurosci*. 2019; 59: 179-184.

Summary

GENOTYPES ON *HLA-DRB1* LOCUS AND ASSOCIATION WITH MYASTHENIA GRAVIS

Myasthenia gravis is a rare autoimmune disorder that can result in death. The genotypic role of the Human Leucocyte Antigen (HLA) system in myasthenia gravis is a growing topic of research interest in Vietnam. This study was conducted with 33 patients with myasthenia gravis at Can Tho General Hospital between September 2019 and December 2021. Analysis revealed 13 types of alleles in the *HLA-DRB1* locus, with *HLA-DRB1*12* (24.2%) being the most common. Patients with myasthenia gravis carrying the *HLA-DRB1*13* genotype are at increased risk of elevated serum anti-acetylcholine receptor antibody levels ($p = 0.031$). There was a correlation between those with myasthenia gravis carrying the *HLA-DRB1*10* genotype and moderate to severe disease severity. The results of this study emphasize the importance of proactive monitoring of the risk of disease progression in patients with these specific genotypes.

Keywords: Genotype, *HLA-DRB1*, myasthenia gravis.