

GIÁ TRỊ CỦA PHƯƠNG PHÁP KHỐI PHỔ ĐÔI TRONG SÀNG LỌC BỆNH THIẾU CITRIN Ở TRẺ 0 - 6 THÁNG TUỔI

Nguyễn Kiều Hoài Linh^{1,2}, Nguyễn Phạm Anh Hoa² và Trần Thị Chi Mai^{1,2,✉}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Nhi Trung ương

Bệnh thiếu citrin là một rối loạn chuyển hóa di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đột biến gen *SLC25A13* gây ảnh hưởng đến nhiều quá trình chuyển hóa chất như đường phân, tổng hợp glucose, chuyển hóa acid amin, chu trình urê và chuyển hóa lipid. Phân tích khối phổ đôi (MS/MS) là một công cụ tốt để sàng lọc trẻ sơ sinh trong đó bệnh thiếu citrin, tuy nhiên độ nhạy và độ đặc hiệu của sàng lọc MS/MS không cao và có thể gặp nhiều trường hợp âm tính giả, dương tính giả. Sàng lọc sơ sinh và sàng lọc nguy cơ cao bằng phương pháp MS/MS được thực hiện tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ năm 2018 cho thấy tỷ lệ trẻ có kết quả sàng lọc nghi ngờ bệnh thiếu citrin tương đối cao, đặc biệt là ở nhóm từ 0 - 6 tháng. Nghiên cứu hồi cứu số liệu từ tháng 01/2018 đến tháng 05/2024 nhằm đánh giá giá trị của phương pháp MS/MS trong sàng lọc bệnh thiếu citrin ở nhóm bệnh nhi nguy cơ cao từ 0 đến 6 tháng tuổi có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính, âm tính lần lượt là 100%, 99,5%, 82,9%, 100%. Sự kết hợp giữa các chỉ số Cit, Cit/Lys và Cit/Ser có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính, âm tính lần lượt là 98,9%, 99,7%, 87,5%, 100%. So với việc sử dụng chỉ số Cit đơn lẻ, sự kết hợp này làm giảm độ nhạy, tuy nhiên cải thiện độ đặc hiệu và giá trị dự báo dương tính trong việc phát hiện bệnh thiếu citrin bằng phương pháp MS/MS.

Từ khóa: Bệnh thiếu citrin, sàng lọc sơ sinh, khối phổ đôi (MS/MS), ứ mật trong gan ở trẻ sơ sinh (NICCD).

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh thiếu citrin là một rối loạn chuyển hóa di truyền lặn trên nhiễm sắc thể thường do đột biến gen *SLC25A13* gây ra. Gen *SLC25A13* mã hóa protein citrin, một chất tham gia tích cực vào nhiều quá trình chuyển hóa chất như đường phân, tổng hợp glucose, chuyển hóa acid amin, chu trình urê và chuyển hóa lipid.¹ Đột biến gen *SLC25A13* dẫn đến không tạo ra protein citrin, protein citrin không hoàn chỉnh

hoặc rối loạn chức năng sẽ dẫn đến sự rối loạn chuyển hóa trong cơ thể và gây ra một số triệu chứng như ứ mật trong gan ở trẻ sơ sinh (NICCD), ở trẻ lớn hơn là chậm phát triển và rối loạn lipid máu (FTTDCD) và citrullinemia loại II khởi phát ở người trưởng thành (CTLN2).²

Ở Đông Á, tỷ lệ thiếu citrin tương đối cao (1/20.000). Ban đầu, bệnh thiếu hụt citrin được cho là chỉ tìm thấy ở Nhật Bản. Tuy nhiên gần đây, bệnh này đã được tìm thấy ở các quốc gia khác như Trung Quốc, Đài Loan và Hàn Quốc, Việt Nam; như vậy thiếu hụt citrin có thể xuất hiện với với phần đông dân số châu Á.³

Phân tích khối phổ đôi (MS/MS) là một công cụ mạnh để sàng lọc trẻ sơ sinh.⁴ Nhiều rối loạn chuyển hóa bẩm sinh hiếm gặp hiện nay đã

Tác giả liên hệ: Trần Thị Chi Mai

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: tranchimai@hmu.edu.vn

Ngày nhận: 08/06/2024

Ngày được chấp nhận: 26/06/2024

được sàng lọc bằng MS/MS. Tuy nhiên, độ nhạy của sàng lọc MS/MS với các bệnh là khác nhau với từng bệnh riêng lẻ.⁵ Âm tính giả cũng có thể xảy ra do tính chất của từng bệnh cụ thể.⁶ Bệnh thiếu citrin có thể được phát hiện bằng cách sàng lọc trẻ sơ sinh khi nồng độ phenylalanine, methionine hoặc galactose tăng cao, nhưng tỷ lệ phát hiện chỉ là 50%.⁷ Người ta đã chứng minh rằng 1 trong 20 trẻ sơ sinh bị ảnh hưởng bởi NICCD có nồng độ citrulline ban đầu trong mẫu máu khô bình thường (DBS), nhưng nồng độ này tăng lên ở những thời điểm sau đó.⁸

Bệnh viện Nhi Trung ương thực hiện chương trình sàng lọc sơ sinh và sàng lọc nguy cơ cao nhằm phát hiện các bệnh rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng phương pháp MS/MS từ năm 2018. Trong suốt thời gian thực hiện, chúng tôi nhận thấy tỷ lệ trẻ có kết quả sàng lọc nghi ngờ bệnh thiếu citrin tương đối cao, đặc biệt là ở nhóm từ 0 - 6 tháng, tuy nhiên chưa có nghiên cứu nào đánh giá kết quả sàng lọc bệnh thiếu citrin tại bệnh viện. Do vậy đề tài này được thực hiện với mục tiêu: Đánh giá giá trị của phương pháp MS/MS trong sàng lọc bệnh thiếu citrin ở trẻ từ 0 - 6 tháng tuổi.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Toàn bộ trẻ sơ sinh và các bệnh nhân có nguy cơ cao trong độ tuổi từ 0 - 6 tháng được thực hiện xét nghiệm sàng lọc bằng phương pháp MS/MS tại Bệnh viện Nhi Trung ương trong khoảng thời gian từ tháng 01/2018 đến tháng 05/2024.

Tiêu chuẩn phân loại bệnh nhân

- Nếu kết quả citrullin trong mẫu máu thấm khô $\geq 35 \mu\text{mol/L}$:

+ Phân tích đột biến gen *SLC25A13* dương tính: Dương tính thật (bệnh nhân mắc thiếu citrin).

+ Phân tích đột biến gen *SLC25A13* âm

tính, lâm sàng âm tính: Dương tính giả (bệnh nhân không bị thiếu citrin nhưng kết quả sàng lọc dương tính).

+ Lâm sàng và xét nghiệm phù hợp citrullinemia typ 1: loại trừ thiếu citrin và loại trừ khỏi nhóm nghiên cứu.

- Nếu kết quả citrullin trong mẫu máu thấm khô $< 35 \mu\text{mol/L}$:

+ Phân tích đột biến gen *SLC25A13* dương tính: Âm tính giả (bệnh nhân mắc thiếu citrin nhưng kết quả sàng lọc âm tính).

+ Lâm sàng âm tính: Âm tính thật.

Tiêu chuẩn loại trừ

Các bệnh nhân không đầy đủ thông tin. Các bệnh nhân được chẩn đoán citrullinemia typ 1. Các bệnh nhân có kết quả sàng lọc phát hiện các bệnh rối loạn chuyển hóa khác (không phải thiếu citrin). Các bệnh nhân có kết quả sàng lọc có bất thường thứ phát do các tình trạng bệnh lý khác.

Tiêu chuẩn chẩn đoán

Chẩn đoán xác định mắc bệnh thiếu citrin dựa vào kết quả di truyền: Bệnh nhân chẩn đoán mắc bệnh thiếu citrin khi mang đột biến đồng hợp tử hoặc dị hợp tử kép gây bệnh thiếu citrin của gen *SLC25A13*.

2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu hồi cứu.

Thu thập bệnh phẩm: Mẫu máu thấm khô lấy từ gót chân hoặc đầu ngón tay của trẻ sơ sinh hoặc bệnh nhi. Thu thập đủ lượng máu vừa đủ các vòng tròn trên giấy thấm, để máu khô tự nhiên nơi thoáng sạch ở nhiệt độ phòng ít nhất 4 giờ, tránh ánh sáng mặt trời, và hơi nóng chiếu trực tiếp lên mẫu. Mẫu máu được chuyển về phòng xét nghiệm trong vòng 24h.

Nguyên lý kỹ thuật phương pháp MS/MS trên máy LCMS Shimadzu 8040: MS/MS là phương pháp phân tách và định lượng các ion dựa trên tỷ số khối lượng/điện tích của chúng (mass/charge ratio). MS/MS tạo ra các phần tử

tích điện từ mẫu cần phân tích, sau đó sử dụng điện và từ trường để phân tách và đo lường khối lượng của các phân tử tích điện. Bộ phận phát hiện sẽ tạo ra đồ thị phổ khối của các đỉnh có thể định lượng được bằng các chuẩn nội để xác định lượng mỗi chất có mặt trong mẫu.

Tách chiết và định lượng acid amin và acylcarnitin

Mẫu máu thấm khô được tách chiết và định lượng các acid amin và acylcarnitine bằng kit hóa chất NeoMass AAAC theo hướng dẫn của nhà sản xuất (Labsystems Diagnostics Oy) trên máy phân tích sắc ký lỏng khối phổ LCMS 8040 của Shimadzu.

Xử lý số liệu

Phân tích thống kê bằng phần mềm STATA 16. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được xác định khi $p < 0,05$. Phân tích đường cong ROC được sử dụng để đánh giá giá trị sàng lọc bệnh thiếu citrin của các chỉ số.

Thiết bị và hóa chất sử dụng: Máy phân tích khối phổ đôi LCMS 8040 của Shimadzu và kit NeoMass AAAC của hãng Labsystems Diagnostics.

Thời gian, địa điểm nghiên cứu: Khoa Hóa sinh - Bệnh viện Nhi Trung ương, từ tháng 08/2023 đến tháng 05/2024. Hồi cứu số liệu từ tháng 01/2018 đến tháng 05/2024.

3. Đạo đức nghiên cứu

Đây là nghiên cứu mô tả hồi cứu, không can thiệp và ảnh hưởng đến bệnh nhân. Mọi thông tin về bệnh nhân được bảo mật trong hồ sơ bệnh án, chỉ phục vụ mục đích nghiên cứu. Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng đạo đức Bệnh viện Nhi Trung ương, quyết định số 2945/BVNTW-HĐĐĐ ngày 21/11/2023.

III. KẾT QUẢ

Trong tổng số 4177 trẻ sơ sinh và bệnh nhân nguy cơ cao từ 6 tháng tuổi trở xuống, có 92 ca dương tính thật, 20 ca dương tính giả, 6 ca âm

tính giả, và 4059 ca âm tính thật, chiếm tỷ lệ lần lượt là 2,2%, 0,5%, 0,1%, và 97,2%.

Khi so sánh các trung bình và trung vị giữa các nhóm cho thấy có khác biệt có ý nghĩa thống kê với các chỉ số Arg, Cit, Leu, Tyr, Met, Phe, Ser, C0 ($p < 0,05$), không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với C5DC ($p > 0,05$). So với nhóm đối chứng (nhóm âm tính thật) thì ở nhóm dương tính thật các nồng độ Arg, Cit, Tyr, Met, Phe và C0 cao hơn, nồng độ Leu, Ser thấp hơn. Mức tăng cao nhất ở Cit với khoảng 22 lần, Arg khoảng 17 lần khi so sánh hai trung vị (Bảng 1).

Biểu đồ 1 cho thấy với acid amin Cit gần như không có sự giao nhau giữa nhóm bệnh nhân âm tính thật và dương tính thật. Với các chỉ số khác, có sự giao thoa giữa 4 nhóm.

Phân tích đường cong ROC cho thấy các chỉ số Arg, Cit, Tyr, Met, C0/C5-DC, Cit/Lys, Cit/Ser đều có diện tích dưới đường cong AUC $> 0,7$, trong đó các chỉ số Arg, Cit, Met, Cit/Lys, Cit/Ser có AUC $> 0,9$. Các chỉ số Phe, Ala/Cit, Cit/Arg có diện tích dưới đường cong AUC $< 0,7$. Tuy nhiên, tại các giá trị ngưỡng tối ưu, chỉ có Arg, Cit, Met, Cit/Lys, Cit/Ser có độ nhạy, độ đặc hiệu tương đối tốt trong việc phát hiện bệnh thiếu citrin ở nhóm trẻ từ 0 đến 6 tháng tuổi, trong đó Cit độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính, giá trị dự báo âm tính cao nhất (Bảng 2).

Kết hợp Cit với các chỉ số khác không cải thiện độ nhạy và giá trị dự báo âm tính, trong một vài sự kết hợp có sự cải thiện độ đặc hiệu nhưng không đáng kể, giá trị dự báo dương tính có thể tăng khi kết hợp thêm một vài chỉ số so với việc dùng chỉ số Cit đơn lẻ. Sự kết hợp giữa Cit và Cit/Lys, Cit/Ser có độ nhạy tốt nhất trong các sự kết hợp (98,9%), giá trị dự báo âm tính đạt 100%, độ đặc hiệu và giá trị dự báo dương tính được cải thiện so với việc dùng chỉ số Cit đơn lẻ (Bảng 3).

Bảng 1. Kết quả một số acid amin và acylcarnitine có ý nghĩa trong sàng lọc bệnh thiếu citrin

Chỉ số ($\mu\text{mol/L}$)	Nhóm âm tính thật		Nhóm dương tính thật		Nhóm dương tính giả		Nhóm âm tính giả		p ¹	p ²
	TB \pm SD	Median (IQR)	TB \pm SD	Median (IQR)	TB \pm SD	Median (IQR)	TB \pm SD	Median (IQR)		
Arginine (Arg)	4,1 \pm 4,39	2,52 (1,43 -4,88)	59,24 \pm 49,58	43,46 (23,95 - 80,13)	69,45 \pm 60,02	41,51 (24,45 - 122,91)	15,72 \pm 8,24	15,33 (8,94 - 21,15)	0,0001	0,0001
Citrulline (Cit)	8,22 \pm 3,11	7,56 (6,13 - 9,67)	184,44 \pm 120,11	170,84 (83,7 - 263,39)	106,87 \pm 89,27	83,93 (56,11 - 129,23)	28,24 \pm 6,96	29,8 (28,27 - 32,19)	0,0001	0,0001
Leucine (Leu)	101,56 \pm 30,25	96,82 (80,63 - 117,4)	90,4 \pm 35,08	83,45 (65,74 - 111,69)	96,77 \pm 51,99	82,08 (65,76 - 111,71)	101,53 \pm 42,09	95,75 (62,53 - 122,25)	0,0001	0,0001
Tyrosine (Tyr)	55,18 \pm 23,51	50,79 (38,93 - 66,22)	130,06 \pm 82,14	120,36 (61,1 - 171,33)	158,97 \pm 125,55	107,35 (63,69 - 216,97)	51,04 \pm 30,15	43,64 (28,48 - 83,94)	0,0001	0,0001
Methionine (Met)	13,79 \pm 5,9	13,25 (9,92 - 17,01)	88,24 \pm 91,24	50,39 (27,01 - 113)	106,04 \pm 143,79	30,4 (23,99 - 94,45)	74,61 \pm 67,23	49,26 (22,48 - 144,84)	0,0001	0,0001
Phenylalanine (Phe)	37,98 \pm 9,59	37,19 (31,74 - 43)	46,92 \pm 32,19	38,96 (29,44 - 55,44)	91,19 \pm 108,07	60,14 (32,33 - 80,6)	47,37 \pm 32,41	34,93 (21,32 - 75)	0,0001	0,0001
Serine (Ser)	192,85 \pm 69,19	186,29 (151,85 - 224,6)	162,82 \pm 72,69	147,4 (119,49 - 184,22)	187,05 \pm 158,44	164,69 (113,58 - 186)	113,28 \pm 36,44	126,79 (76,4 - 138,61)	0,0001	0,0001

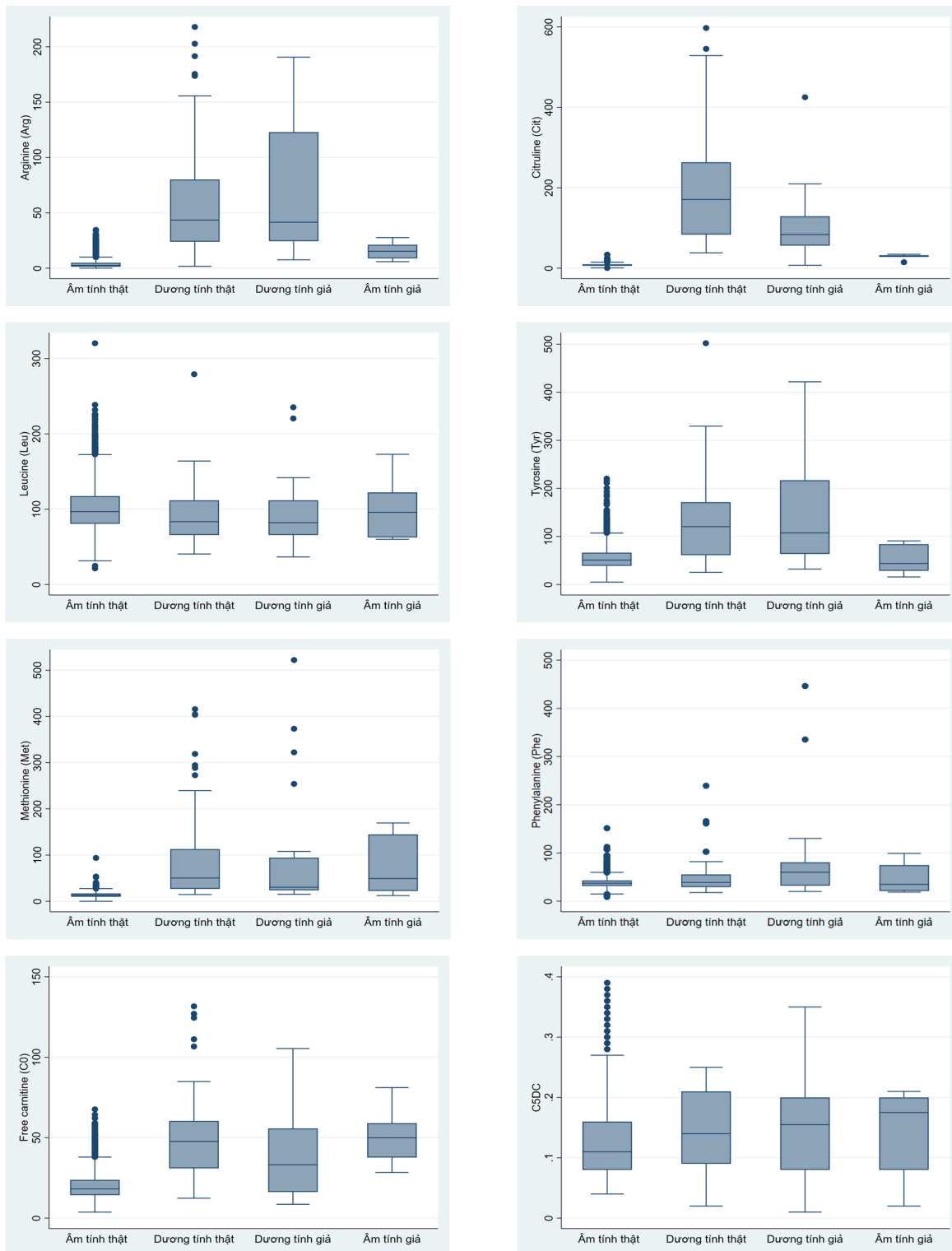
Chỉ số ($\mu\text{mol/L}$)	Nhóm âm tính thật		Nhóm dương tính thật		Nhóm dương tính giả		Nhóm âm tính giả		p ¹	p ²
	TB \pm SD	Median (IQR)	TB \pm SD	Median (IQR)	TB \pm SD	Median (IQR)	TB \pm SD	Median (IQR)		
Free carnitine (C0)	19,99 \pm 8,12	18,23 (14,29 - 23,77)	49,84 \pm 24,65	47,63 (30,94 - 60,39)	38,11 \pm 25,02	33,14 (16,26 - 55,72)	51,02 \pm 18,56	49,93 (37,69 - 59)	0,0001	0,0001
C5DC	0,13 \pm 0,06	0,11 (0,08 - 0,16)	0,14 \pm 0,07	0,14 (0,09 - 0,21)	0,15 \pm 0,08	0,15 (0,08 - 0,2)	0,14 \pm 0,08	0,17 (0,08 - 0,2)	0,265	0,265

p¹: ANOVA, so sánh các trung bình

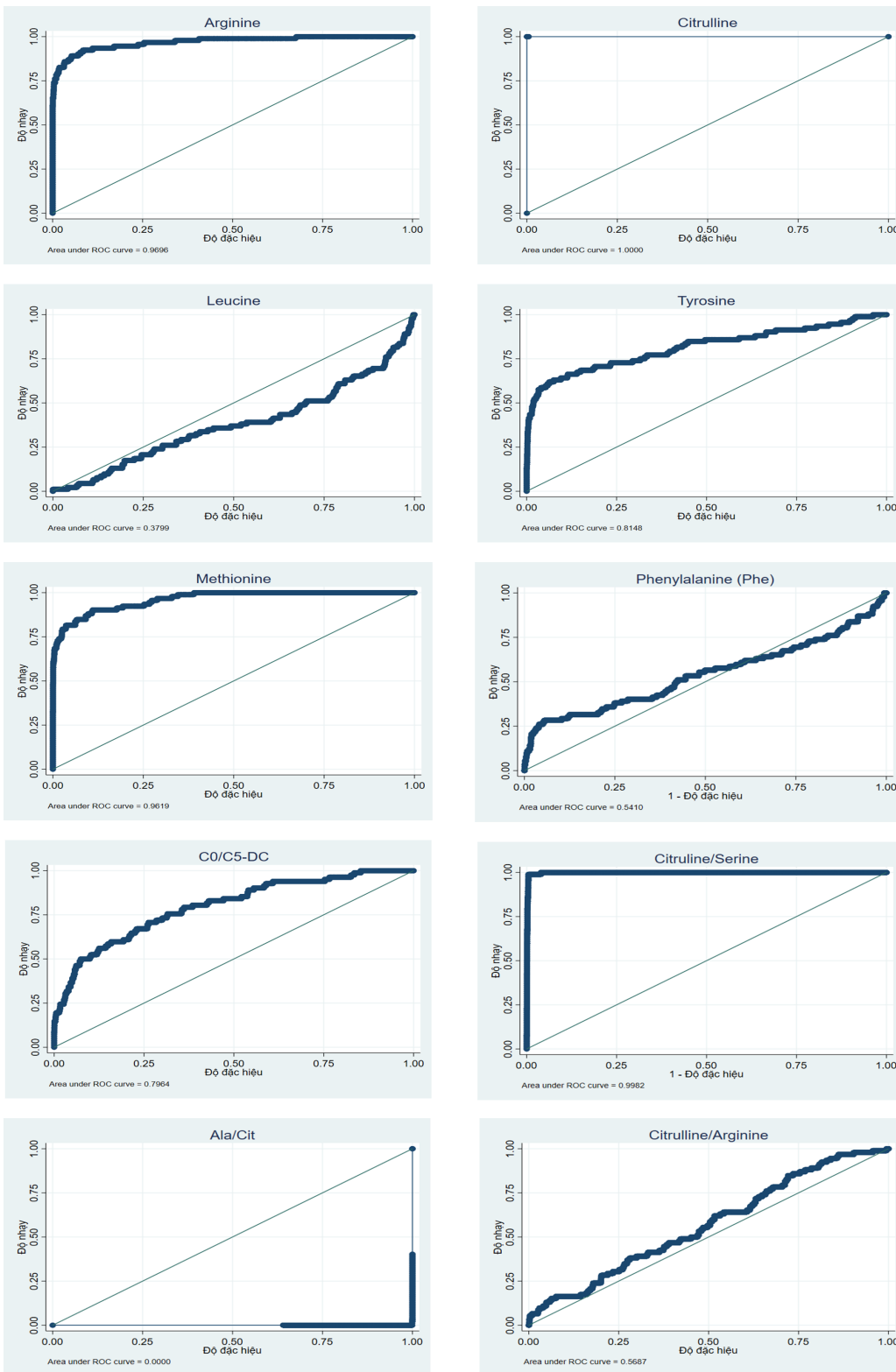
p²: Kruskal-Wallis test, so sánh các trung vị

IV. BÀN LUẬN

Sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu citrin trên thực tế còn khó khăn do số ca mắc bệnh được công bố thấp hơn so với tỷ lệ mắc bệnh giả định dựa trên các nghiên cứu di truyền cũng như tỷ lệ âm tính giả cao khi sàng lọc mở rộng trong cộng đồng bởi phần lớn các trường hợp bệnh Cit chưa tăng ở giai đoạn sơ sinh.⁹ Hiện tại, việc sàng lọc sơ sinh mở rộng bệnh thiếu citrin ở trẻ sơ sinh bằng MS/MS không được khuyến cáo do hiệu quả không cao. Bệnh thiếu citrin ở lứa tuổi từ 0 đến 6 tháng hay còn gọi là thể ứ mật trong gan ở trẻ sơ sinh (NICCD), với các triệu chứng như ứ mật trong gan, gan to, gan nhiễm mỡ, có thể dẫn đến xơ gan, rối loạn chức năng gan, các triệu chứng thường hết khi được một tuổi nếu được phát hiện sớm và điều trị thích hợp.¹⁰ Do các biểu hiện lâm sàng đôi khi không đặc hiệu, đặc biệt với các bác sĩ lâm sàng không có kinh nghiệm về bệnh thiếu citrin, việc sàng lọc bằng phương pháp MS/MS ở nhóm bệnh nhân có nguy cơ cao có thể giúp ích cho việc phát hiện và hướng dẫn các xét nghiệm thăm dò chuyên sâu để chẩn đoán xác định bệnh, từ đó giúp điều trị sớm cho trẻ mắc bệnh NICCD hoặc ngăn ngừa bỏ sót việc theo dõi nếu CTLN2 phát triển ở những bệnh nhân này. Tại Bệnh viện Nhi Trung ương, trẻ em bị vàng da ứ mật do nhiều nguyên nhân khác nhau đến khám và điều trị. Do có nhiều nguyên nhân có thể dẫn đến tình trạng này, các bệnh nhi này được chỉ định sàng lọc rối loạn chuyển hóa bẩm sinh bằng MS/MS. Kết quả sàng lọc đã phát hiện một tỷ lệ đáng kể trẻ em mắc bệnh thiếu citrin. Nghiên cứu hồi cứu này nhằm đánh giá giá trị của MS/MS trong sàng lọc bệnh thiếu citrin trên các trẻ có nguy cơ cao từ 0-6 tháng được thực hiện xét nghiệm sàng lọc bằng phương pháp MS/MS tại Bệnh viện Nhi Trung ương trong khoảng thời gian từ tháng 01/2018 đến tháng 05/2024. So sánh các nồng độ một



Biểu đồ 1. Biểu đồ Box plot của một số acid amin và acylcarnitine có ý nghĩa trong sàng lọc bệnh thiếu citrin



Biểu đồ 2. Đường cong ROC đánh giá giá trị một số chỉ số trong sàng bệnh thiếu citrin

Bảng 2. Độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính, giá trị dự báo âm tính của một số chỉ số trong sàng lọc bệnh thiếu citrin

Xét nghiệm	Giá trị cut-off	Diện tích dưới đường cong (AUC)	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự báo dương tính	Giá trị dự báo âm tính
Arginine (Arg)	10,69	0,9696	92,4%	91,0%	18,7%	99,8%
Citrulline (Cit)	34,57	1,000	100,0%	99,5%	82,9%	100,0%
Tyrosine (Tyr)	93,91	0,8148	62,0%	93,4%	17,5%	99,1%
Methionine (Met)	20,67	0,9619	90,2%	87,9%	14,4%	99,8%
C0/C5-DC	241,19	0,7964	73,9%	73,6%	5,9%	99,2%
Citrullin/Lysine (Cit/Lys)	0,13	0,9995	100,0%	97,9%	51,4%	100,0%
Phenylalanine (Phe)	53,43	0,5410	28,3%	94,5%	10,4%	98,3%
Citrullin/Serine (Cit/Ser)	0,26	0,9982	98,9%	99,4%	79,1%	100,0%
Alanine/Citrullin (Ala/Cit)	6,59	0,0000	0,00%	3,16%	0,00%	0,07%
Citrulline/Arginine (Cit/Arg)	1,77	0,5687	84,8%	28,0%	2,6%	98,8%

Bảng 3. Giá trị của việc kết hợp một số chỉ số trong sàng lọc bệnh thiếu citrin ở trẻ từ 0 - 6 tháng tuổi

	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự báo dương tính	Giá trị dự báo âm tính	OR	p
Arg, Cit, Tyr, C0/C5-DC	89,9%	99,3%	67,4%	99,8%	1204,0	0,001
Arg, Cit, C0/C5DC	89,0%	99,3%	70,7%	99,8%	1227,0	0,001
Arg, Cit, Tyr	81,0%	99,7%	88,0%	99,5%	1576,0	0,001
Cit, Arg, Met, Cit/Lys, Cit/Ser	83,7%	99,7%	85,6%	99,6%	1608	0,001
Cit, Arg, Met, Cit/Lys	84,8%	99,7%	84,8%	99,7%	1620	0,001
Cit, Arg, Met	84,8%	99,5%	80,4%	99,7%	1192	0,001

	Độ nhạy	Độ đặc hiệu	Giá trị dự báo dương tính	Giá trị dự báo âm tính	OR	p
Cit, Arg, Cit/Lys	92,4%	99,7%	85,9%	99,8%	3531	0,001
Cit, Arg, Cit/Ser	91,3%	99,6%	83,2%	99,8%	2513	0,001
Cit, Met, Cit/Lys	90,2%	99,7%	85,6%	99,8%	2682	0,001
Cit, Met, Cit/Ser	89,1%	99,6%	82,8%	99,8%	1962	0,001
Cit, Cit/Lys, Cit/Ser	98,9%	99,7%	87,5%	100,0%	28500	0,001

số acid amin và acylcarnitine có ý nghĩa trong sàng lọc bệnh thiếu citrin giữa các nhóm âm tính thật, dương tính thật, dương tính giả, âm tính giả cho thấy nhóm dương tính thật nồng độ Arg, Cit, Tyr, Met, Phe và C0 cao hơn; nồng độ Leu, Ser thấp hơn. Kết quả này tương đồng với một số nghiên cứu đã được báo cáo trước đây như: nghiên cứu của Song Y-Z và cộng sự trên 13 trẻ NICCD ở Trung Quốc, nghiên cứu của Treepongkaruna S và cộng sự với đối tượng trẻ NICCD ở Thái Lan, nghiên cứu của Oh SH và cộng sự ở trẻ em Hàn Quốc.¹¹⁻¹³

Trong bệnh thiếu citrin, thiếu hụt citrin-protein vận chuyển aspartate từ ty thể ra bào tương-làm aspartate không đủ để phản ứng với citrulline dưới sự xúc tác của enzyme argininosuccinate synthetase (ASS) để tạo ra arginosuccinate, từ đó gây ứ đọng citrulline, giảm lượng arginosuccinate tạo thành. Arginine chủ yếu được tổng hợp ở thận và ruột non từ citrulline trong thời kỳ sơ sinh và sự tích tụ citrulline trong NICCD sẽ đẩy nhanh quá trình này.¹¹ Khi amoniac tăng thì các acid amin chuỗi nhánh trong máu (BCAA) như Leu bị giảm do tăng cường tiêu thụ BCAA để tạo ra glutamine từ glutamate dưới tác dụng của enzyme glutamine synthetase trong cơ xương.¹⁴ Các

acid amin thơm (AAA) bao gồm Phe, Tyr cũng như Met tăng lên do giảm chuyển hóa của gan trong tổn thương gan.¹⁵ Sự suy giảm glutamine synthetase ở những bệnh nhân thiếu citrin cũng góp phần làm giảm nồng độ Leucine trong máu. Nồng độ C0 tăng và mức C5DC giảm có thể là do quá trình β oxy hóa bị suy giảm khi thiếu citrin.¹⁶

Cit thường được dùng làm chỉ điểm để phát hiện bệnh thiếu citrin trong sàng lọc. Sử dụng phân tích đường cong ROC, tại giá trị ngưỡng tối ưu của Cit là 34,57 $\mu\text{mol/L}$, độ nhạy là 100% và độ đặc hiệu là 99,5%, giá trị dự báo dương tính là 82,9%, giá trị dự báo âm tính là 100% trong sàng lọc bệnh thiếu citrin. Giá trị ngưỡng này xấp xỉ với ngưỡng hiện tại đang sử dụng là 35 $\mu\text{mol/L}$. Đặc biệt, các chỉ số Arg, Cit, Met, Cit/Lys, Cit/Ser đều có diện tích dưới đường cong AUC > 0,9 và có giá trị dự báo âm tính tốt, tức là phần lớn kết quả xét nghiệm sẽ nằm trong khoảng bình thường khi bệnh nhân không mắc bệnh; các chỉ số Phe, Ala/Cit, Cit/Arg có diện tích dưới đường cong AUC < 0,7 nên không có hiệu quả trong việc phát hiện bệnh thiếu Cit qua sàng lọc bằng MS/MS. Kết hợp Cit với các chỉ số khác không cải thiện độ nhạy và giá trị dự báo âm tính, tuy nhiên với một vài sự kết hợp

có sự cải thiện độ đặc hiệu và giá trị dự báo dương tính. Trong đó, sự kết hợp giữa các chỉ số Cit, Cit/Lys và Cit/Ser có độ đặc hiệu và giá trị dự báo dương tính được cải thiện so với việc dùng chỉ số Cit đơn lẻ (bảng 2 và 3).

Trong số 6 ca âm tính giả, có 2 trẻ 2 tháng tuổi, 3 trẻ 3 tháng tuổi và 1 trẻ 4,5 tháng tuổi. Kết quả sàng lọc bằng MS/MS có 3 ca tăng methionine, 1 ca tăng ornithine, 1 ca tăng cả methionine, phenylalanine và valine, 1 ca tất cả các chỉ số trong giới hạn bình thường. Do citrulline nằm trong giới hạn bình thường, sự tăng methionine, ornithine, phenylalanine và valine có thể gặp trong các bệnh lý rối loạn chuyển hóa bẩm sinh di truyền khác cũng như thứ phát trong nhiều tình trạng bệnh khác, nên kết quả sàng lọc không giúp ích trong các trường hợp này. Các biểu hiện lâm sàng và xét nghiệm thường quy khác đã giúp bác sĩ lâm sàng chỉ định phân tích đột biến gen *SLC25A13*, từ đó có kết quả khẳng định chẩn đoán bệnh thiếu citrin. Như vậy, việc sàng lọc bệnh thiếu citrin bằng MS/MS có thể cho kết quả không rõ ràng ngay cả khi các bệnh nhân có triệu chứng. Bác sĩ lâm sàng cần lưu ý hạn chế này, xem xét các đặc điểm lâm sàng và xét nghiệm khác để chỉ định phân tích gen khi cần thiết.

V. KẾT LUẬN

Citrullin trong mẫu máu thấm khô có độ nhạy, độ đặc hiệu, giá trị dự báo dương tính, âm tính cao trong sàng lọc bệnh thiếu citrin ở nhóm bệnh nhi nguy cơ cao từ 0 đến 6 tháng tuổi. So với việc sử dụng chỉ số Cit đơn lẻ, sự kết hợp giữa các chỉ số Cit, Cit/Lys và Cit/Ser làm giảm độ nhạy, tuy nhiên cải thiện độ đặc hiệu và giá trị dự báo dương tính trong việc phát hiện bệnh thiếu citrin bằng phương pháp MS/MS.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Saheki T, Inoue K, Tushima A, et al. Citrin deficiency and current treatment concepts. *Mol*

Genet Metab. 2010;100:S59-64.

2. Kiyoshi Hayasaka. Metabolic basis and treatment of citrin deficiency. *Journal of Inherited Metabolic Disease.* 2021. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jimd.12294>

3. Kobayashi K, Bang Lu Y, Xian Li M, et al. Screening of nine SLC25A13 mutations: their frequency in patients with citrin deficiency and high carrier rates in Asian populations. *Mol Genet Metab.* 2003;80(3):356-9.

4. Wilcken B, Wiley V, Hammond J, et al. Screening newborns for inborn errors of metabolism by tandem mass spectrometry. *N Engl J Med.* 2003;348(23):2304-2312.

5. McHugh DM, Cameron CA, Abdenur JE, et al. Clinical validation of cutoff target ranges in newborn screening of metabolic disorders by tandem mass spectrometry: A worldwide collaborative project. *Genet. Med.* 2011;13(3):230-254.

6. Bhattacharya K, Khalili V, Wiley V, et al. Newborn screening may fail to identify intermediate forms of maple syrup urine disease. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29(4):586.

7. Ohura T, Kobayashi K, Tazawa Y, et al. Clinical pictures of 75 patients with neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD). *J Inherit Metab Dis.* 2007;30(2):139-144.

8. Tamamori A, Fujimoto A, Okano Y, et al. Effects of citrin deficiency in the perinatal period: feasibility of newborn mass screening for citrin deficiency. *Pediatr. Res.* 2004;56(4):608-614.

9. Lu YB, Kobayashi K, Ushikai M, et al. Frequency and distribution in East Asia of 12 mutations identified in the SLC25A13 gene of Japanese patients with citrin deficiency. *J Hum Genet.* 2005;50(7):338-346.

10. Lin Y, Zheng Q, Zheng T, et al. Expanded newborn screening for inherited metabolic disorders and genetic characteristics

in a southern Chinese population. *Clin Chim Acta*. 2019;494:106-11.

11. Song YZ, Li BX, Chen FP, et al. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: clinical and laboratory investigation of 13 subjects in mainland of China. *Dig Liver Dis*. 2009;41(9):683-689.

12. Treepongkaruna S, Jitraruch S, Kodcharin P, et al. Neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency: prevalence and SLC25A13 mutations among Thai infants. *BMC Gastroenterol*. 2012;12:141.

13. Oh SH, Lee BH, Kim G-H, et al. Biochemical and molecular characteristics of citrin deficiency in Korean children. *J Hum Genet*. 2017;62(2):305-307.

14. Holecsek M, Kandar R, Sispera L, et al.

Acute hyperammonemia activates branched-chain amino acid catabolism and decreases their extracellular concentrations: different sensitivity of red and white muscle. *Amino Acids*. 2011;40(2):575-584.

15. Saheki T, Kobayashi K. Mitochondrial aspartate glutamate carrier (citrin) deficiency as the cause of adult-onset type II citrullinemia (CTLN2) and idiopathic neonatal hepatitis (NICCD). *J Hum Genet*. 2002;47(7):333-341.

16. Hayasaka K, Numakura C, Yamakawa M, et al. Medium-chain triglycerides supplement therapy with a low-carbohydrate formula can supply energy and enhance ammonia detoxification in the hepatocytes of patients with adult-onset type II citrullinemia. *J Inher Metab Dis*. 2018;41(5):777-784.

Summary

VALUE OF TANDEM MASS SPECTROMETRY IN SCREENING FOR CITRIN DEFICIENCY IN CHILDREN AGED 0 - 6 MONTHS

Citrin deficiency is an autosomal recessive metabolic disorder caused by mutations in the *SLC25A13* gene, affecting various metabolic processes such as glycolysis, glucose synthesis, amino acid metabolism, the urea cycle, and lipid metabolism. Tandem mass spectrometry (MS/MS) is a useful tool for newborn screening; however, the sensitivity and specificity of MS/MS screening are not high, leading to numerous false-negative and false-positive cases. Neonatal and high-risk screening using MS/MS has been conducted at the National Children's Hospital since 2018, revealing a relatively high rate of suspected citrin deficiency cases, especially in the 0 - 6 month age group. A retrospective study of data from January 2018 to May 2024 aimed to evaluate the value of the MS/MS method in screening for citrin deficiency in the 0 - 6 month age group. Results showed that Citrulline levels in dried blood spot samples for citrin deficiency screening in high-risk infants aged 0 to 6 months had sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of 100%, 99.5%, 82.9%, and 100%, respectively. The combination of Cit, Cit/Lys, and Cit/Ser indices had sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of 98.9%, 99.7%, 87.5%, and 100%, respectively. Compared to using the Cit index alone, this combination reduces sensitivity but improves specificity and positive predictive value in detecting citrin deficiency using the MS/MS method.

Keywords: Citrin deficiency, newborn screening, tandem mass (MS/MS), neonatal intrahepatic cholestasis caused by citrin deficiency (NICCD).