

MỐI LIÊN QUAN GIỮA ĐA HÌNH ĐƠN GEN IL-17F RS763780, IL-17RA RS4819554 VÀ HLA-CW6 TRÊN BỆNH VẢY NÉN THÔNG THƯỜNG Ở VIỆT NAM

Phạm Thị Uyển Nhi^{1,2,✉}, Nguyễn Văn Thường¹, Nguyễn Trọng Hào²
Hoàng Anh Vũ³, Dương Bích Trâm³

¹Trường Đại Học Y Hà Nội

²Bệnh viện Da Liễu Thành phố Hồ Chí Minh

³Đại học Y Dược TP.HCM

Vảy nến là bệnh viêm mạn tính, yếu tố di truyền đóng góp 30% trong cơ chế bệnh sinh, vì vậy xác định các dấu ấn sinh học giúp dự đoán đáp ứng điều trị và tiên lượng. Nghiên cứu khảo sát đặc điểm lâm sàng bệnh nhân vảy nến thể mảng, tỉ lệ và kiểu gen IL-17F RS763780, IL17RA rs4819554 và HLA-Cw6 ở người Việt Nam. 121 bệnh nhân vảy nến được lấy mẫu máu ngoại vi, sau đó tách chiết DNA và giải trình tự gen bằng phần mềm CLC Main Workbench v5.5. Độ nặng trung bình $20,31 \pm 12,70$ và PASI là $14,88 \pm 7,59$. Kết quả cho thấy có sự phân bố các genotype khác nhau trên mỗi vị trí khác nhau. Gen IL-17F đoạn rs763780 có tỉ lệ AA cao nhất trên nhóm bệnh nhân vảy nến chiếm 58,7%, GA chiếm 38,0%. Gen IL-17RA đoạn rs4819554 genotype GA có tỉ lệ là 53,7% và AA là 27,3%. Nhóm bệnh có tỉ lệ HLA-Cw6 âm tính và 35,04% và dương tính là 64,96%. Những bệnh nhân dương tính với HLA-Cw6, tỷ lệ dị hợp tử chiếm 77,63% và đồng hợp tử chiếm 22,37%. Chưa phát hiện mối liên quan giữa HLA-Cw6 với các SNP IL-17F RS763780 và IL17RA rs4819554. Tuy nhiên, có mối liên quan giữa IL-17F RS763780 lại có mối liên quan với độ nặng của bệnh.

Từ khóa: Đa hình đơn nucleotides, IL17RA, rs4819554, RS763780, HLA-Cw6, vảy nến.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vảy nến là một bệnh lý viêm mạn tính, tái phát, thường gặp trong da liễu với khoảng 125 triệu người mắc bệnh trên toàn thế giới.¹ Vảy nến không chỉ gây tổn thương da mà còn hưởng nghiêm trọng đến chất lượng cuộc sống của bệnh nhân cũng như các mặt sức khỏe thể chất và tinh thần, được so sánh tương đương với các bệnh lý nội khoa khác như tim mạch và ung thư.² Bệnh sinh của vảy nến về cơ bản bao gồm sự tác động của ba yếu tố: di truyền – miễn dịch – môi trường, tuy nhiên, phức hợp này biểu hiện nhiều thể lâm sàng, tiên lượng và

bệnh đồng mắc khác nhau giữa mỗi bệnh nhân.

Vào năm 2003, dự án lớn về nghiên cứu bộ gen người mang tên “Human Genome Project” đã tìm thấy gần 25000 gen người và các đặc điểm của hơn 3,1 triệu đa hình đơn nucleotide - SNPs (single nucleotide polymorphisms) của người, mở ra một kỷ nguyên mới về các nghiên cứu dựa trên nền tảng di truyền học...³ Vai trò của yếu tố đa hình thái của một số gen nhạy cảm của bệnh vảy nến như IL-12B, IL-13, IL-23R, IL-1B, IL-10, IL-21 và TNF- α từ đó tiên đoán về nguy cơ bệnh và tiên lượng trên từng cá thể về nguy cơ phát triển bệnh vảy nến khớp hay các bệnh đồng mắc khác, hay các nghiên cứu xác định các SNPs như TNFR1B, TNFAIP3, HLA-C, IL-17R, ERAP1 liên quan đến đáp ứng điều trị thuốc sinh học

Tác giả liên hệ: Phạm Thị Uyển Nhi

Bệnh viện Da Liễu Thành phố Hồ Chí Minh

Email: drphamthiuyennhi@gmail.com

Ngày nhận: 02/12/2021

Ngày được chấp nhận: 21/12/2021

của bệnh nhân.⁴ Nhiều đa hình gen phổ biến của họ IL-17 liên quan đến tính nhạy cảm với các bệnh tự miễn, nhiễm trùng và viêm, trong đó có bệnh vẩy nến.⁵

Năm 2015, tác giả Prieto-Pérez và cộng sự lần đầu tiên nghiên cứu ảnh hưởng của gen IL-17F rs763780 đến đáp ứng điều trị sinh học với các thuốc TNF- α và ustekinumab trên 194 bệnh nhân vẩy nến da trắng và 197 người khỏe mạnh, kết quả cho thấy những bệnh nhân mang allele C không đáp ứng với điều trị adalimumab và ustekinumab nhưng đáp ứng tốt với điều trị bằng infliximab⁶. Một nghiên cứu khác trên người Hàn Quốc của tác giả Kim và cộng sự đã được thực hiện vào năm 2017 để tìm mối liên quan giữa tính đa hình thái của các gen trong gia đình IL-17, tác giả đã nghiên cứu trên 11 gen *IL-17A* (rs2275913, rs3819025, rs3804513, rs3748067), *IL-17F* (rs763780, rs2397084), *IL-17RA* (rs6518660, rs2241046, rs2241049, rs879574, rs882643) ở 208 bệnh nhân vẩy nến, kết quả cho thấy chỉ có gen *IL-17F* rs763780 có tính đa hình thái với allele T/C liên quan chặt chẽ đến bệnh vẩy nến.⁷ Trong họ IL-17, gen rs4819554 điều hành đa hình đơn nucleotide allele vùng IL-17RA. Năm 2015, nghiên cứu của tác giả Batalla và cộng sự cho thấy mối liên quan giữa gen này và yếu tố nguy cơ bệnh vẩy nến.⁸ Trong nghiên cứu khác của tác giả này đã cho thấy gen rs4819554 liên quan đến tiên lượng đáp ứng tốt điều trị ức chế TNF α ở tuần 12 (P=0.01) và 24 (P=0.04). Đa hình đơn nucleotide rs4819554 điều hành vùng IL17RA và tăng đáp ứng với các thuốc ức chế TNF α ở tuần thứ 12.⁶

Nghiên cứu của chúng tôi nhằm khảo sát mối liên quan giữa đa hình đơn của một số gen trong bệnh vẩy nến và *HLA-Cw6* từ đó góp phần trong sự hiểu biết về nền tảng di truyền học của người Việt Nam. Vì vậy chúng tôi thực

hiện đề tài này với mục tiêu sau:

1. Khảo sát đặc điểm lâm sàng và một số yếu tố liên quan của vẩy nến thông thường thể mảng.
2. Xác định tỉ lệ và kiểu gen của các gen nhạy cảm bệnh vẩy nến mảng ở người Việt Nam: *IL-17F* RS763780, *IL17RA* rs4819554 và *HLA-Cw6*.
3. Phân tích mối liên quan giữa *IL-17F* RS763780, *IL17RA* rs4819554 và *HLA-Cw6* và một số đặc điểm lâm sàng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Bệnh nhân vẩy nến được điều trị tại Bệnh viện Da Liễu TP.HCM.

Tiêu chuẩn lựa chọn

- Bệnh nhân đến khám hay nhập viện tại BV Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh được chẩn đoán vẩy nến.
- Tuổi ≥ 18 .
- Có bố và mẹ là người Việt Nam.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân đang mang các bệnh lý cấp tính nặng.
- Tiền căn gia đình trực hệ (cha mẹ, con cái, anh chị em) mắc các bệnh lý tự miễn, di truyền, miễn dịch khác.
- Phụ nữ có thai hoặc đang cho con bú.

Thời gian và địa điểm nghiên cứu

Thời gian: 11/2019 đến tháng 08/2021.

Địa điểm: Tại bệnh viện Da Liễu thành phố Hồ Chí Minh.

Thiết bị - dụng cụ

Máy NanoDrop2000; Máy giải trình tự ABI 3500 Genetic Analyzer; Máy luân nhiệt Eppendorf Mastercycler; Máy điện di (Takara, Nhật Bản); Hệ thống phân tích và lưu giữ kết

quả điện di GelDoc-It® Imager của hãng UVP.

Hóa chất

Hóa chất tách chiết DNA bộ gen (gDNA) từ máu

GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit (Thermo scientific) gồm proteinase K, dung dịch ly giải (Lysis Buffer), dung dịch rửa (Wash Buffer I, Wash Buffer II), dung dịch thu nhận DNA (Elution Buffer).

Hóa chất PCR

Takara Taq™ Hot Start Polymerase (Takara Bio).

Mồi PCR đặc hiệu cho các gen *IL-17F rs763780*, *IL-17RA rs4819554*.

Hóa chất dùng trong điện di trên gel agarose
Agarose dạng bột (Promega).

Dung dịch TBE 0,5X.

Ethidium bromide 10mg/ml (Sigma).

Dung dịch Loading dye (Sigma).

Thang DNA 1kb plus (0,1 µg/µl) (Thermo Scientific).

Hóa chất dùng cho phản ứng tinh sạch sản phẩm PCR

ExoSAP-IT® PCR Product Cleanup (Thermo Scientific) gồm Exonuclease I và Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP).

Hóa chất dùng cho phản ứng PCR Cycle sequencing

BigDye® Terminators V3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems); Sequencing buffer 5X; Mồi xuôi (hoặc mồi ngược).

Nước (H₂O).

Hóa chất dùng cho quá trình rửa sản phẩm PCR Cycle sequencing

EDTA-Ethylendiaminetetraacetic Acid 0,5M, pH 8,0 (Promega).

Ethanol 100%; Ethanol 70%; Hi-Di formamide.

2. Phương pháp

Thu nhận vật liệu nghiên cứu

Vật liệu nghiên cứu là mẫu máu ngoại vi. Mẫu máu ngoại vi được xử lý bằng chất chống đông EDTA 1,5 mg/ml có bổ sung puromycin trong tube 2 ml. Bảo quản mẫu máu tại tủ mát 4°C và sau đó lưu trữ trong tủ lạnh sâu -80°C.

Tách chiết DNA từ mẫu máu

DNA từ tế bào máu được tách chiết bằng GeneJET Whole Blood Genomic DNA Purification Mini Kit của hãng Thermo scientific theo hướng dẫn của nhà sản xuất, thu được 200µl dung dịch chứa gDNA. Kiểm tra độ tinh sạch của gDNA thu được bằng máy NanoDrop2000 (Thermo). Dung dịch gDNA sau khi tách chiết được bảo quản và lưu trữ ở 4°C.

Thiết kế mồi cho phản ứng ASO-PCR: Sử dụng phần mềm CLC Main Workbench v5.5 thiết kế các cặp mồi đặc hiệu nhân bản các gen *IL-17F rs763780*, *IL-17RA rs4819554*. trong bệnh vẩy nến thông thường thể (mã số trong GenBank *IL-17F rs763780* có *NG_031869*, *IL-17RA rs4819554* có *NG_028257*). Đây là phần mềm chuyên dụng cho phép thiết kế mồi của phản ứng PCR từ trình tự gen có sẵn. Các phần mềm Oligo Analyzer 3.1 (<https://sg.idtdna.com/analyzer/Applications/OligoAnalyzer>), Primer-BLAST (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) được sử dụng để kiểm tra các thông số và độ đặc hiệu của mồi. Chương trình trực tuyến SNP check (<https://secure.ngri.org.uk/SNPCheck/snpcheck.htm>) giúp phát hiện vị trí các nucleotide đa hình (SNP) cần tránh ở đầu 3' của mồi. Các cặp mồi được thiết kế không có hiện tượng SNP (single nucleotide polymorphism) và có nhiệt độ gắn mồi xấp xỉ nhau đồng thời đạt các thông số lý thuyết yêu cầu. Sau khi kiểm tra các thông số và độ đặc hiệu của mồi, mồi sẽ được tổng hợp tại công ty IDT (Intergrated DNA Technologies, Mỹ).

3. Xử lý số liệu

- Số liệu được nhập và quản lý bằng phần mềm Excel.

- Số liệu được xử lý bằng lập trình R.

- T-test, Anova test, Kwalis test được sử dụng để tìm sự khác biệt giữa 2 hay nhiều giá trị trung bình. χ^2 test, Fisher exact test được sử dụng để tìm sự khác biệt về tỷ lệ giữa các nhóm. Giá trị $p < 0,05$ được coi là có ý nghĩa thống kê. Phân tích tương quan sử dụng tỷ suất

chênh OR với khoảng tin cậy 95% CI.

4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y sinh. Các xét nghiệm trong nghiên cứu tuân thủ theo đúng các quy trình, quy tắc phòng xét nghiệm. Nghiên cứu cũng đã được thông qua Hội đồng Đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học trường Đại học Y Hà Nội số: 66/GCN-HĐĐĐNCYSH ĐHYHN ngày 16 tháng 03 năm 2020.

III. KẾT QUẢ

Trong thời gian nghiên cứu, chúng tôi thu thập và phân tích tính đa hình thái của các gen trên 121 bệnh nhân vẩy nến thông thường tại Bệnh viện Da Liễu TPHCM.

1. Đặc điểm dịch tễ và lâm sàng và cận lâm sàng

Trong nghiên cứu này, tuổi trung bình của bệnh nhân là $40,04 \pm 12,33$ tuổi. Tỷ lệ bệnh nhân nam chiếm 63,6%. Có 36,3% bệnh nhân có trình độ đại học trở lên. Nghề nghiệp chiếm tỉ lệ cao nhất là nhân viên văn phòng 27,3%. Bệnh nhân có tuổi khởi phát là $27,79 \pm 10,94$ tuổi với thời gian bệnh trung bình là $12,22 \pm 10,22$ năm. 25,6% bệnh nhân có tiền căn gia đình mắc bệnh vẩy nến. Có 24,0 % bệnh nhân

tập thể dục đều. Trong các yếu tố nguy cơ vẩy nến, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy chỉ có 5,8% trường hợp bệnh nhân hút thuốc lá hàng ngày và 4,1% bệnh nhân uống rượu thường xuyên. Khi khảo sát các yếu tố khởi phát hoặc làm nặng hơn bệnh vẩy nến, có 34,7% bệnh nhân nhận thấy bệnh tái phát hoặc nặng hơn sau stress. Có 4,9% bệnh nhân vẩy nến đồng mắc tình trạng rối loạn lipid máu. Đánh giá mức độ nặng của bệnh bằng chỉ số PASI (Psoriasis Area Severity Index) trung bình là $20,31 \pm 12,70$ và chỉ số chất lượng cuộc sống là $14,88 \pm 7,59$. Đánh giá các chỉ số cận lâm sàng của nhóm bệnh nhân vẩy nến cho thấy chỉ số Cholesterol trung bình là $4,62 \pm 1,20$ mmol/L và Triglyceride là $2,07 \pm 1,38$ mmol/L (Bảng 1).

Bảng 1. Đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và cận lâm sàng của nhóm nghiên cứu (n = 121)

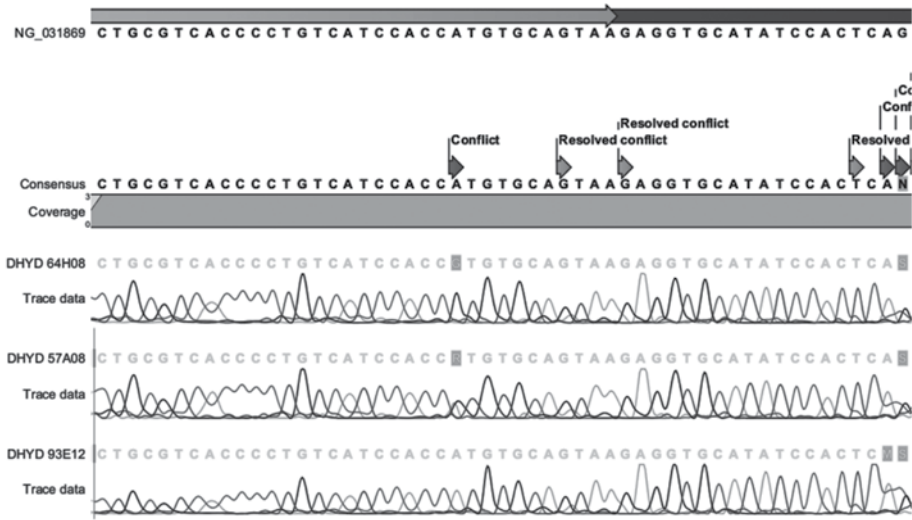
Tuổi	40,04 ± 12,33 (21-70)
Giới tính	
Nam	77 (63,6%)
Nữ	44 (36,4%)
Địa chỉ	
TPHCM	64 (52,9%)
Ngoài TPHCM	57 (47,1%)
Học vấn	

Dưới cấp 1	0 (0%)
Cấp 1	3 (2,5%)
Cấp 2	10 (8,3%)
Cấp 3	21 (17,4%)
Đại học và sau đại học	44 (36,3%)
Nghề nghiệp	
Công nhân	4 (3,3%)
Nhân viên văn phòng	33 (27,3%)
Kinh doanh tự do	11 (9,1%)
Học Sinh - Sinh Viên	10 (8,3%)
Nội trợ	4 (3,3%)
Lao động phổ thông	23 (19,0%)
Khác	36 (29,7%)
Thời gian bệnh (năm)	12,22 ± 10,22 (0-70)
Tuổi khởi phát (tuổi)	27,79 ± 10,94 (4-60)
Tiền căn gia đình	
Có	31 (25,6%)
Không	90 (74,4%)
Chỉ số khối (BMI)	23,39 ± 5,33 (15,43-37,04)
Đánh giá độ nặng của bệnh (PASI)	20,31 ± 12,70 (1,8 - 61,6)
Thang điểm chất lượng cuộc sống (DLQI)	14,88 ± 7,59 (1 - 30)
WBC (K/uL)	8,43 ± 2,61 (4,44 - 22,4)
RBC (M/uL)	4,99 ± 0,49 (3,79 - 6,81)
PLT (K/uL)	266,31 ± 58,01 (118 - 455)
Hoạt động thể lực	
Không tập thể dục	57 (47,1%)
Tập thể dục không đều	34 (28,1%)
Tập thể dục đều ≤ 1 lần/ tuần	1 (0,8%)
Tập thể dục đều >1 lần/ tuần	29 (24,0%)

Hút thuốc lá	
Không bao giờ	100 (82,6%)
Trước đây đã từng hút	10 (8,3%)
Hiện nay thỉnh thoảng hút	4 (3,3%)
Hút thuốc lá hàng ngày	7 (5,8%)
Uống rượu bia	
Không bao giờ	96 (76,1%)
Hiếm khi	6 (4,9%)
Thỉnh thoảng	18 (14,8%)
Thường xuyên	5 (4,1%)
Bệnh đồng mắc	
Không	82 (67,7%)
Tăng huyết áp	10 (8,2%)
Đái tháo đường	12 (9,9%)
Bệnh lý tim mạch	7 (5,7%)
Rối loạn lipid máu	6 (4,9%)
Khác	4 (3,3%)
Yếu tố khởi phát	
Không	50 (41,3%)
Nhiễm trùng	8 (6,6%)
Stress	42 (34,7%)
Thuốc	4 (3,3%)
Uống rượu	11 (9,0%)
Khác	6 (4,9%)
Cholesterol (mmol/L)	4,62 ± 1,20 (2,05 – 8,53)
Triglyceride (mmol/L)	2,07 ± 1,38 (0,52 – 9,54)
LDLc (mmol/L)	3,06 ± 1,13 (1,1 – 6,2)

2. Phân bố genotype của SNP *IL-17F rs763780* và *IL17RA rs4819554* và allel *HLA-Cw6*

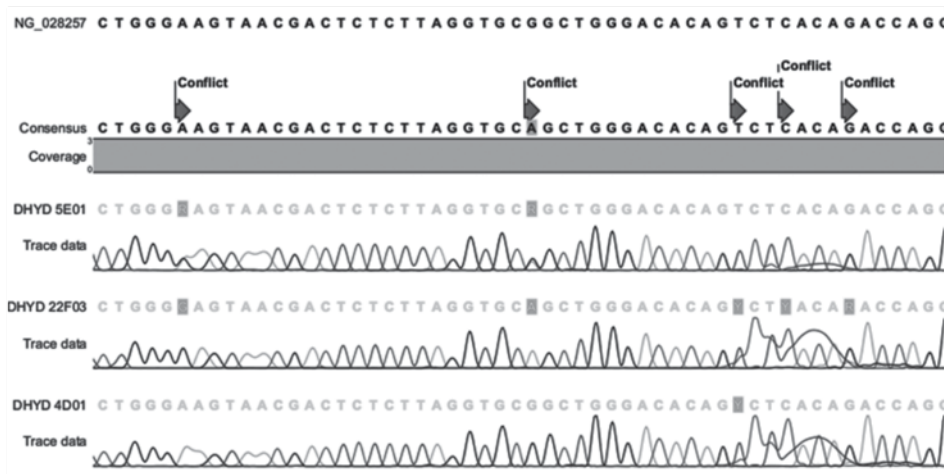
Phân bố kiểu gen của SNP IL-17F rs763780 có NG_031869



Hình 1. Kết quả giải trình tự SNP IL-17F rs763780 có NG_031869

Ghi nhận được ba dạng kiểu gen là GG, AG, AA (GG có 1 sóng màu đen, AG: có 2 sóng xanh lá +đen; AA có 1 sóng xanh lá)

Phân bố kiểu gen của SNP IL-17RA rs4819554 có NG_028257



Hình 2. Kết quả giải trình tự SNP IL-17RA rs4819554 có NG_028257

Ghi nhận được ba dạng kiểu gen là GA, AA, GG (GA: có 2 sóng xanh lá + đen, AA có 1 sóng xanh lá, GG có 1 sóng màu đen). Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự phân bố các genotype khác nhau trên mỗi vị trí khác nhau. Trên gen IL-17F đoạn rs763780 có tỉ lệ AA cao nhất trên nhóm bệnh nhân vẩy nến chiếm 58,7%, kế đến là GA chiếm 38,0% và thấp nhất là GG với 3,3%. Trong

khi đó, gen IL-17RA đoạn rs4819554 genotype GA có tỉ lệ cao gần gấp đôi AA lần lượt là 53,7% và 27,3% và GG chỉ chiếm thấp nhất 19%. Chúng tôi nhận thấy hơn 2/3 số bệnh nhân trong mẫu nghiên cứu dương tính với allele HLA-Cw6. Trong số những bệnh nhân dương tính với HLA-Cw6, tỷ lệ dị hợp tử chiếm 77,63% và đồng hợp tử chiếm 22,37% **Bảng 2.**

Bảng 2. Tỷ lệ genotype của các SNP rs763780, rs4819554 và allele HLA-Cw6

SNP	Genotype	n	%
rs763780 (n = 121)	AA	71	58,7
	GA	46	38
	GG	4	3,3
rs4819554 (n = 121)	GG	23	19
	GA	65	53,7
	AA	33	27,3
Tình trạng allele HLA-Cw6 (n = 117)	Âm tính	41	35,04
	Dương tính	76	64,96
	Dị hợp tử	59	77,63
	Đồng hợp tử	17	22,37

3. Mối liên quan giữa gen *IL-17F RS763780* và *IL17RA rs4819554* với *HLA-Cw6* và các đặc điểm lâm sàng

Phân tích mối liên quan giữa allele *HLA-Cw6* và *IL-17F RS763780*, nghiên cứu cho thấy mối liên quan giữa allele *HLA-Cw6* âm tính, dương

tính, đồng hợp tử và dị hợp tử với các đa hình đơn của *rs763780* không có sự khác biệt ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy mối liên quan giữa allele *HLA-Cw6* có sự khác biệt ý nghĩa thống kê với các đa hình đơn gen *IL17RA rs4819554*. Chi tiết được trình bày ở **Bảng 3**

Bảng 3. Mối liên quan giữa gen *IL-17F RS763780*, *IL17RA rs4819554* và allele *HLA-Cw6* (n = 117)

Đặc điểm	IL-17F RS763780			P	IL17RA rs4819554			p	
	AA n (%)	GA n (%)	GG n (%)		AA n (%)	GA n (%)	GG n (%)		
Allele HLA-Cw6	Âm tính	28 (23,93)	13 (11,11)	0 (0)	0,133	8 (6,84)	24 (20,51)	9 (7,69)	0,341
	Dương tính	40 (34,19)	32 (27,35)	4 (3,42)		24 (20,51)	40 (34,19)	12 (10,26)	
Allele HLA-Cw6 dương tính	Dị hợp tử	30 (39,47)	25 (32,89)	4 (5,26)	0,517	19 (25,00)	28 (36,84)	12 (15,79)	0,089
	Đồng	10	7	0		5	12	0	
	hợp tử	(13,17)	(9,21)	(0)		(6,58)	(15,79)	(0)	

Nghiên cứu của chúng tôi phân tích mối liên quan giữa các yếu tố lâm sàng và gen *IL-17F RS763780*, kết quả cho thấy không có mối liên quan với tiền căn gia đình, tuổi khởi phát bệnh

nhưng có mối liên quan với mức độ nặng của bệnh và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các hình thái gen khác nhau ($p < 0,05$).

Bảng 4. Mối liên quan giữa gen *IL-17F RS763780* và các yếu tố lâm sàng (n=121)

	Đặc điểm	<i>IL-17F rs763780</i>			p
		AA n (%)	GA n (%)	GG n (%)	
Tiền căn gia đình	Có	0 (0)	13 (10,7)	18 (14,8)	0,461
	Không	4 (3,3)	33 (27,2)	53 (43,8)	
Độ nặng của bệnh	Nhẹ (PASI <10)	8 (6,6)	7 (5,7)	0 (0)	0,049
	Trung bình (10<PASI <30)	49 (40,4)	37 (30,5)	2 (1,6)	
	Nặng (PASI >30)	14 (11,5)	2 (1,6)	2 (1,6)	
Tuổi khởi phát	< 40 tuổi	41 (33,8)	26 (21,4)	4 (3,3)	0,231
	≥ 40 tuổi	30 (24,7)	20 (16,5)	0 (0)	

Nghiên cứu cũng phân tích các yếu tố liên quan đến gen *rs4819554* bao gồm tiền căn gia đình, tuổi khởi phát và mức độ nặng của bệnh giữa các

genotype khác nhau, nhóm nghiên cứu chưa tìm ra sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa các hình thái khác nhau của SNP *rs4819554*. **Bảng 5**

Bảng 5. Mối liên quan giữa gen *IL17RA rs4819554* và các yếu tố lâm sàng (n=121)

	Đặc điểm	<i>IL17RA rs4819554</i>			p
		AA n (%)	GA n (%)	GG n (%)	
Tiền căn gia đình	Có	8 (6,6)	19 (15,7)	4 (3,3)	0,523
	Không	25 (20,6)	46 (38,0)	19 (15,7)	
Độ nặng của bệnh	Nhẹ (PASI <10)	4 (3,3)	7 (5,7)	4 (3,3)	0,897
	Trung bình (10<PASI <30)	25 (20,6)	47 (38,8)	16 (13,2)	
	Nặng (PASI >30)	4 (3,3)	11 (9,0)	3 (2,4)	
Tuổi khởi phát	< 40 tuổi	27 (22,3)	60 (49,5)	18 (14,8)	0,413
	≥ 40 tuổi	6 (4,9)	5 (4,1)	5 (4,1)	

IV. BÀN LUẬN

1. Đặc điểm dịch tễ và lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân vẩy nến

Nghiên cứu trên 121 bệnh nhân vẩy nến có độ tuổi trung bình của là $40,04 \pm 12,33$ tuổi thấp hơn của tác giả Batalla là $47,09 \pm 14,66$ tuổi⁶ tuy nhiên cao hơn nghiên cứu của tác giả Zhang C

với độ tuổi trung bình $38,27 \pm 14,51$ tuổi.⁹ Điều đó cho thấy khi khảo sát các nhóm dân số nhất định, độ tuổi trung bình của nhóm sẽ khác nhau. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi và hai tác giả còn lại đều có độ tuổi trung bình xoay quanh 40 tuổi. Khi khảo sát thời gian bệnh, kết quả

cho thấy thời gian trung bình là $12,22 \pm 10,22$ năm, qua đó thể hiện đây là bệnh mạn tính tái phát nhiều lần nên bệnh nhân thường xuyên theo dõi điều trị với thời gian kéo dài. Khảo sát tuổi khởi phát, nghiên cứu của chúng tôi trung bình là $27,79 \pm 10,94$ tuổi thấp hơn nghiên cứu của tác giả Võ Quang Đỉnh với tuổi khởi phát là $34,5 \pm 17,6$ ¹⁰ nhưng tương đương với nghiên cứu Zhang C ($30,45 \pm 15,47$ tuổi). Tỷ lệ bệnh nhân nam là 63,6% cao hơn nghiên cứu của tác giả Batalla A với tỉ lệ nam/nữ là 54%/46%⁶ và Zhang C với 58,1%. Nghiên cứu chúng tôi ghi nhận bệnh nhân có tiền căn gia đình vẩy nến là 25,6%, cao hơn của Zhang C là 19,3% nhưng thấp hơn của Batalla A 52%.^{6,9} Qua đó có thể thấy tiền căn gia đình ở các nhóm nghiên cứu có thể có sự dao động khá cao. Đánh giá các đặc điểm lâm sàng, nghiên cứu của chúng tôi có chỉ số PASI trung bình tương đối cao $20,31 \pm 12,70$, với tỉ lệ bệnh nhân có vẩy nến trung bình bình - nặng là 83,1% cao hơn nhiều so với tác giả Zhang là 49%,⁹ có thể do tại Việt Nam, các bệnh nhân vẩy nến mức độ trung bình - nặng mới thường đến khám và điều trị tại các bệnh viện lớn như Bệnh viện Da Liễu Trung ương. Một trong những vấn đề quan trọng khi điều trị bệnh vẩy nến là tầm soát các bệnh đồng mắc. Chính vì vậy, chúng tôi khảo sát các yếu tố đồng mắc trên nhóm bệnh vẩy nến cho kết quả có 4,9% bệnh nhân có tình trạng rối loạn mỡ máu kèm theo và được phát hiện qua xét nghiệm bilan mỡ máu trên lâm sàng. Trong cơ chế bệnh sinh của vẩy nến, nhiều tác giả cho rằng nó có cùng con đường viêm hệ thống từ đó cho thấy vai trò quan trọng trong việc tầm soát cũng như theo dõi những bệnh đồng mắc kèm theo.

2. Phân bố genotype của SNP *IL-17F RS763780*, *IL17RA rs4819554* và *HLA-Cw6*

Trong cơ chế bệnh sinh hiện nay, vai trò của trực IL-23/IL17 được nhấn mạnh và xem như

là con đường then chốt dẫn đến bệnh sinh vẩy nến.¹¹ Vì vậy, ngày càng có nhiều công trình nghiên cứu về vai trò của các SNP khác nhau trong các gen của họ IL17 cũng như là mối liên quan giữa các SNP trong các gen mã hóa các cytokine IL17 hoặc các thụ thể của chúng.

Trong nghiên cứu này, đoạn SNP *IL-17F RS763780* có các genotype phân bố khác nhau với AA cao nhất là 58,7%, kế đến là GA chiếm 38,0% và thấp nhất là GG với 3,3%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có tỉ lệ AA thấp hơn tác giả Kim SY (75,1%) và tỉ lệ GA cao hơn (20%).⁸ Tuy nhiên, trong hai nghiên cứu, tỉ lệ AA luôn chiếm cao nhất hơn $\frac{1}{2}$ so với các genotype khác. Nghiên cứu của chúng tôi giải mã đoạn gen *IL17RA rs4819554* và cho kết quả có sự phân bố các genotype khác nhau trong đó genotype có tỉ lệ GA là 53,7%, kế đến là AA chiếm 27,3% và thấp nhất là GG với 19%. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt với tác giả Batalla A nghiên cứu đoàn hệ trên người Tây Ban Nha với các tỉ lệ GA 38,1%, AA 56,6% và GG 5,3%.⁶ Sự khác biệt này cho thấy ở những chủng tộc khác nhau sẽ có sự phân bố hình thái của các SNP khác nhau, qua đó cho thấy sự cần thiết của các nghiên cứu chuyên sâu về hệ gen trên từng dân tộc nhất định.

Tỉ lệ bệnh nhân dương tính với allele *HLA-Cw6* là 64,96% cao hơn các tác giả ở Brazil (59,1%)¹² và thấp hơn nghiên cứu tại Thụy Điển (66,7%).¹³ Nhìn chung, tỉ lệ này gần tương đồng với các tác giả trên thế giới.

3. Mối liên quan giữa gen SNP *IL-17F RS763780*, *IL17RA rs4819554* với *HLA-Cw6* và các hình thái lâm sàng

Các nghiên cứu trước đây cho thấy kiểu genotype AA của *IL17RA rs4819554* làm tăng biểu hiện một số protein và có vai trò trong việc điều hòa phản ứng viêm như tăng biểu hiện TNF và một số cytokine tiền viêm. Tác giả Johnston và cộng sự đã báo cáo về khả năng

ức chế TNF làm ngăn chặn biểu hiện của IL-17RC trên keratinocyte dẫn đến giảm đáp ứng mô với IL-17A.¹⁴ Từ đó cho thấy mối liên quan chặt chẽ giữa TNF và IL-17A trong việc hình thành những thương tổn vẩy nến cũng như giải thích được lý do các biến thể gen IL-17RA có liên quan đến đáp ứng các thuốc ức chế TNF. Gen rs4819554 liên kết với các đa hình điều chỉnh khác có thể dự đoán tác động gắn kết với các TFs (Lyf-1 và Ik-2) liên quan đến sự điều chỉnh biệt hóa của các tế bào Th17 thông qua việc thúc đẩy các gen xác định dòng Th17 (cũng tăng các cytokine IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22 và IL-23R) và làm giảm biểu hiện các gen kìm hãm Th17.¹⁵ Sự gia tăng các cytokine Th17 làm thúc đẩy con đường IL-23 / Th17 là cơ chế gây bệnh chính trong rs4819554 G.⁵ Mặc dù vậy, nghiên cứu của chúng tôi chưa tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi phân tích các genotype với các yếu tố như tuổi khởi phát, độ nặng của bệnh cũng như tiền căn gia đình.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa tìm thấy mối liên quan giữa giữa gen SNP *IL-17F RS763780*, *IL17RA rs4819554* với *HLA-Cw6*. Tuy nhiên, khi phân tích mối liên quan giữa các yếu tố lâm sàng và gen *IL-17F RS763780*, kết quả cho thấy không có mối liên quan với tiền căn gia đình, tuổi khởi phát bệnh nhưng có mối liên quan với mức độ nặng của bệnh và khác biệt có ý nghĩa thống kê ở các hình thái gen khác nhau ($p < 0,05$).

V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu trên 121 bệnh nhân vẩy nến thông thường chúng tôi phân tích mối liên quan giữa các đặc điểm đa hình thái của các gen nhạy cảm của bệnh, chúng tôi có một số kết luận sau:

Về đặc điểm dịch tễ, lâm sàng và cận lâm sàng: nhóm bệnh nhân nghiên cứu đa số là nam (63,6%), trung bình $40,04 \pm 12,33$ tuổi,

nhân viên văn phòng chiếm 1/3. Tuổi khởi phát trung bình là $27,79 \pm 10,94$ tuổi, thời gian bệnh $12,22 \pm 10,22$ năm. 25,6% bệnh nhân có tiền căn gia đình, 4,9 % bệnh nhân có rối loạn lipid máu. Độ nặng trung bình $20,31 \pm 12,70$ và chỉ số chất lượng cuộc sống là $14,88 \pm 7,59$.

Kết quả nghiên cứu cho thấy có sự phân bố các genotype khác nhau trên mỗi vị trí khác nhau. Trên gen *IL-17F* đoạn *rs763780* có tỉ lệ AA cao nhất trên nhóm bệnh nhân vẩy nến chiếm 58,7%, GA chiếm 38,0%. Gen *IL-17RA* đoạn *rs4819554* genotype GA có tỉ lệ là 53,7% và AA là 27,3%. Nhóm bệnh nghiên cứu có tỉ lệ *HLA-Cw6* âm tính và 35,04% và dương tính là 64,96%. Trong số những bệnh nhân dương tính với *HLA-Cw6*, tỷ lệ dị hợp tử chiếm 77,63% và đồng hợp tử chiếm 22,37%.

Chưa phát hiện mối liên quan giữa *HLA-Cw6* với các SNP *IL-17F RS763780* và *IL17RA rs4819554*. Tuy nhiên, có mối liên quan giữa *IL-17F RS763780* lại có mối liên quan với độ nặng của bệnh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Foundation NP. Published 2015.
2. Rapp SR, Feldman SR, Exum ML, Fleischer AB Jr, Reboussin DM. Psoriasis causes as much disability as other major medical diseases. *J Am Acad Dermatol*. Sep 1999; 41(3 Pt 1): 401-407. doi: 10.1016/s0190-9622(99)70112-x.
3. International Human Genome Sequencing C. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. Oct 21 2004;431(7011):931-945. doi: 10.1038/nature03001.
4. Osmola-Mankowska A, Teresiak-Mikolajczak E, Skrzypczak-Zielinska M, Adamski Z. Genetic polymorphism in psoriasis and its meaning for the treatment efficacy in the future. *Postepy Dermatol Alergol*. Aug 2018;35(4):331-337. doi: 10.5114/ada.2018.77661.

5. Batalla A, Coto E, Gomez J, et al. IL17RA gene variants and anti-TNF response among psoriasis patients. *Pharmacogenomics J*. Jan 2018;18(1):76-80. doi: 10.1038/tpj.2016.70.
6. Batalla A, Coto E, Gonzalez-Lara L, et al. Association between single nucleotide polymorphisms IL17RA rs4819554 and IL17E rs79877597 and Psoriasis in a Spanish cohort. *J Dermatol Sci*. Nov 2015;80(2):111-115. doi: 10.1016/j.jdermsci.2015.06.011.
7. Prieto-Perez R, Solano-Lopez G, Cabaleiro T, et al. The polymorphism rs763780 in the IL-17F gene is associated with response to biological drugs in patients with psoriasis. *Pharmacogenomics*. 2015; 16(15):1723-1731. doi: 10.2217/pgs.15.107.
8. Kim SY, Hur MS, Choi BG, et al. A preliminary study of new single polymorphisms in the T helper type 17 pathway for psoriasis in the Korean population. *Clin Exp Immunol*. Feb 2017;187(2):251-258. doi: 10.1111/cei.12888.
9. Zhang C, Zhu KJ, Liu H, et al. The TNFAIP3 polymorphism rs610604 both associates with the risk of psoriasis vulgaris and affects the clinical severity. *Clin Exp Dermatol*. Jun 2015;40(4):426-430. doi: 10.1111/ced.12536.
10. Võ Quang Đình. Khảo sát yếu tố thuận lợi, lâm sàng và một số khác biệt lâm sàng giữa khởi phát sớm & muộn ở bệnh nhân vẩy nến nội trú. *Luận văn Thạc sĩ Y học*. 2021.
11. Wang WJ, Yin XY, Zuo XB, et al. Gene-gene interactions in IL23/Th17 pathway contribute to psoriasis susceptibility in Chinese Han population. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. Sep 2013;27(9):1156-1162. doi: 10.1111/j.1468-3083.2012.04683.x.
12. Enerback C, Martinsson T, Inerot A, et al. Evidence that HLA-Cw6 determines early onset of psoriasis, obtained using sequence-specific primers (PCR-SSP). *Acta Derm Venereol*. Jul 1997; 77(4):273-276. doi: 10.2340/0001555577273276.
13. Gonzaga HF, Torres EA, Alchorne MM, Gerbase-Delima M. Both psoriasis and benign migratory glossitis are associated with HLA-Cw6. *Br J Dermatol*. Sep 1996; 135(3):368-370. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8949427>.
14. Johnston A, Guzman AM, Swindell WR, Wang F, Kang S, Gudjonsson JE. Early tissue responses in psoriasis to the antitumour necrosis factor-alpha biologic etanercept suggest reduced interleukin-17 receptor expression and signalling. *Br J Dermatol*. Jul 2014;171(1):97-107. doi: 10.1111/bjd.12937.
15. Wong LY, Hatfield JK, Brown MA. Ikaros sets the potential for Th17 lineage gene expression through effects on chromatin state in early T cell development. *J Biol Chem*. Dec 6 2013;288(49):35170-35179. doi: 10.1074/jbc.M113.481440.

Summary

ASSOCIATION BETWEEN SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS IL-17F RS763780, IL-17RA RS4819554 AND HLA-CW6 AND PSORIASIS VULGARIS IN VIETNAM

Psoriasis is a chronic recurrent inflammatory disease where genetic factors contribute 3% of the disease's pathogenesis; as such, the identification of biological markers is an important role in the prediction of treatment response and prognosis. This study determines basic characteristics in Vietnamese psoriasis vulgaris patients, prevalence and genotype of IL-17F RS763780, IL17RA rs4819554, and HLA-Cw6. Blood test was performed on 121 samples, then DNA and genotype achieved by CLC Main Workbench software. Mean severity is $20,31 \pm 12,70$ and PASI is $14,88 \pm 7,59$. Genotype distribution is different in every position. Gene IL-17F rs763780 has the highest AA in psoriasis patients with 58.7%, GA takes 38.0%. Gene IL-17RA rs4819554 has 53.7% GA and 27.3%AA. 35.04% patients are HLA-Cw6 negative and 64.96% are positive. Patients with positive HLA-Cw6 have 77.63% heterozygous, and 22.37% homozygous. There is no correlation among HLA-Cw6, SNP IL-17F RS763780 and IL17RA rs4819554. However, there is the correlation between IL-17F RS763780 and the severity of psoriasis.

Keywords: Single-nucleotide polymorphism, IL17RA, rs4819554, RS763780, HLA-Cw6, psoriasis vulgaris.