

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC HẢI PHÒNG

BỘ Y TẾ



NGUYỄN VĂN KHIÊM

**PHẢN ỨNG DA NẶNG DO THUỐC CHỐNG ĐỘNG KINH
VÀ VAI TRÒ DỰ BÁO CỦA HLA-B*15:02, HLA-A*31:01,
THỤ THỂ TẾ BÀO LYMPHO T**

Chuyên ngành: NHI KHOA

Mã số : 9720106

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HẢI PHÒNG – 2023

CÔNG TRÌNH ĐƯỢC HOÀN THIỆN TẠI:
TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC HẢI PHÒNG

Người hướng dẫn khoa học:

1. TS.BS Nguyễn Văn Đĩnh
2. PGS.TS. Vũ Văn Quang

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án Tiến sĩ cấp Trường họp tại Trường Đại học Y Dược Hải Phòng

Vào hồi giờ phút, ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu luận án tại :

- Thư viện Quốc gia
- Thư viện Trường Đại học Dược Hải Phòng
- Trang Website của Trường Đại học Dược Hải Phòng

DANH MỤC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. **Khiem Van Nguyen** , Quang Van Vu, Mai Hoang Tran, Huy Quoc Nguyen, Chi Quynh Le, Bang Cam Thi Dang, Hieu Chi Chu, and Dinh Van Nguyen (2023), Overlapping Stevens-Johnson Syndrome and DRESS Syndrome Caused by Phenobarbital: A Vietnamese Case Report, Global Pediatric Health (Q2), Volume 10: 1–9, DOI: 0.1177/2333794X231216556
2. **Nguyễn Văn Khiêm**, Vũ Văn Quang, Nguyễn Văn Đĩnh (2023), Đặc điểm lâm sàng của phản ứng da liên quan đến thuốc chống động kinh ở trẻ em, Tạp chí Y học Việt Nam, Số 527, Tr(48-55)
3. **Nguyễn Văn Khiêm**, Vũ Văn Quang, Nguyễn Văn Đĩnh (2023), Mối liên quan giữa HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 với các phản ứng da do thuốc chống động kinh ở trẻ em Việt Nam, Tạp chí Y học Việt Nam, Số 527, Tr(140-146)
4. **Nguyễn Văn Khiêm**, Lê Thị Minh Hương, Vũ Văn Quang, Nguyễn Văn Đĩnh (2023), Mẫn cảm chéo và phản ứng da liên quan tới thuốc chống động kinh có vòng thơm, Tạp chí Nhi Khoa, Tập 16, số 1, 2023, Tr(22-26)
5. **Khiem Van Nguyen** (2023), Cutaneous adverse reactions to antiepileptic drugs in Vietnam national children's hospital 2015-2022, The abstract for Poster presentation at The Asia Pacific Association of Allergy, Asthma and Clinical Immunology (APAAACI) 2023 in Singapore.

ĐẶT VẤN ĐỀ

Động kinh là một trong những vấn đề thần kinh quan trọng mà cả các nước phát triển và đang phát triển phải đối mặt. Năm mươi triệu người mắc bệnh động kinh trên toàn cầu, trong đó 20% là trẻ em, ảnh hưởng đến khoảng 10,5 triệu trẻ em dưới 15 tuổi. Đến nay, thuốc chống động kinh (Antiepileptic Drug - AED) vẫn là một liệu pháp điều trị chính. Tuy vậy, bên cạnh tác dụng điều trị bệnh, có khoảng 2,8% bệnh nhân xuất hiện các phản ứng bất lợi trên da sau sử dụng AED. Các phản ứng da có thể từ nhẹ đến nặng, trong đó, các phản ứng da nặng (Severe Cutaneous Adverse Reactions - SCARs) do AED xuất hiện ở 1–10 trên 10000 bệnh nhân. Đây là các phản ứng quá mẫn loại IV với thuốc theo phân loại của Gell và Coombs, có thể đe dọa tính mạng người bệnh. Ở trẻ em, các phản ứng da chiếm khoảng 35% các tác dụng phụ do thuốc, trong đó SCARs chiếm khoảng 2 – 6,7%. Mặc dù hiếm gặp, SCARs gây tổn thương da và niêm mạc nghiêm trọng, có thể gây tổn thương các cơ quan, nội tạng, thậm chí tử vong. Tỷ lệ tử vong ở trẻ bị SCARs khoảng dưới 5% với AGEP, 1-5% cho SJS, 10% với DRESS, lên đến 25-35% ở trẻ mắc TEN. Khi một trẻ được bị SCARs sẽ gây tiêu tốn nhiều chi phí y tế, gây khó khăn cho bác sĩ lâm sàng trong lựa chọn thuốc điều trị, ảnh hưởng đến tâm lý trẻ, đồng thời tạo gánh nặng cho cả gia đình và xã hội. SCARs do AED có liên quan di truyền mật thiết với kháng nguyên bạch cầu người (HLA), đặc biệt là HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01. Tuy nhiên, thực tế lâm sàng không phải tất cả người mang những alen HLA nguy cơ này đều phát triển thành SCARs khi dùng thuốc. Điều này gợi ý rằng có các yếu tố khác tham gia vào cơ chế bệnh sinh của bệnh, trong đó có thụ thể tế bào T (T Cell Receptor – TCR). Tại Việt Nam, chưa có nhiều nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng và dự báo các phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh trên trẻ em. Nhằm góp phần khẳng định vai trò dự báo của HLA-B*15:02, HLA-A*31:01 và thụ thể tế bào lympho T trong phản ứng da nặng trên trẻ động kinh, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: **“Phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh và vai trò dự báo của HLA-B*15:02, HLA-A*31:01, thụ thể tế bào lympho T”** với 3 mục tiêu:

1. Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh có vòng thơm tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ 01/2015-12/2022.
2. Phân tích vai trò của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 trong dự báo phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh.
3. Mô tả đặc điểm tái tổ hợp thụ thể tế bào lympho T (TCR) trong các phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh.

THÔNG TIN CHUNG VỀ LUẬN ÁN

1. Bộ cục của luận án:

- Nội dung luận án gồm: 121 trang, trong đó
- Đặt vấn đề: 2 trang
- Chương 1: Tổng quan tài liệu, 26 trang
- Chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu, 22 trang
- Chương 3: Kết quả nghiên cứu, 31 trang
- Chương 4: Bàn luận, 36 trang
- Kết luận: 2 trang
- Kiến nghị: 1 trang
- Những đóng góp mới: 1 trang

Luận án có 13 bảng, 33 hình và biểu đồ và 145 tài liệu tham khảo (tài liệu tiếng Anh và tài liệu tiếng Việt).

2. Những điểm mới và đóng góp của luận án cho chuyên ngành:

Nghiên cứu này là một trong những nghiên cứu được thực hiện lần đầu với cỡ mẫu lớn với đối tượng nghiên cứu là trẻ em mắc bệnh động kinh tại Việt Nam. Ghi nhận tỷ lệ mang alen HLA-B*15:02, HLA-A*31:01 ở trẻ em mắc bệnh lý động kinh. Phân tích được tỷ lệ những nhóm thuốc có nguy cơ dị ứng cao với các trẻ em mắc bệnh lý động kinh có mang alen HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01.

Bước đầu giải trình tự và phân tích các phản ứng gen liên quan tới phản ứng da do dị ứng thuốc và phân tích đặc điểm gen của thụ thể tế bào T trên đối tượng bệnh nhi động kinh. Nghiên cứu này sẽ là tiền đề để các nghiên cứu tiếp theo được thực hiện và góp phần đưa ra những khuyến cáo trong lựa chọn thuốc cho bệnh nhân động kinh, cũng như giúp bệnh nhân mang alen HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 có cơ hội được sử dụng thuốc một cách an toàn hơn.

Trước khi chỉ định dùng thuốc, sàng lọc hai alen HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 trên 952 bệnh nhân động kinh cho tỷ lệ mang gen lần lượt là 21,2% và 4,1%.

Nhóm bệnh nhân mang HLA-B*15:02 có nguy cơ xuất hiện phản ứng da cao hơn gấp 7,56 lần so với nhóm bệnh nhân không mang alen này (KTC 95%: 3,15-18,34).

Nhóm bệnh nhân có HLA-A*31:01 dương tính có nguy cơ xuất hiện phản ứng da cao hơn gấp 6,29 lần so với nhóm bệnh nhân âm tính (KTC 95%: 1,58-23,15).

Giá trị dự báo âm tính của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01: đều trên 98%

Chương 1 TỔNG QUAN

1.1. Sơ lược về dị ứng thuốc

1.1.1. Phản ứng bất lợi do thuốc và phân loại

Thuốc được xem là chất lạ đối với cơ thể, ngoài các tác dụng dược lý, thuốc có khả năng kích hoạt các phản ứng của cơ thể được biết đến dưới tên gọi chung “phản ứng bất lợi do thuốc” (Adverse Drug Reactions – ADR). ADR được định nghĩa là “một phản ứng có hại hoặc gây khó chịu đáng kể liên quan đến việc sử dụng một thuốc; tác dụng bất lợi thường dự đoán nguy cơ trong việc sử dụng ở tương lai và bảo đảm dự phòng, hoặc điều trị đặc hiệu, hoặc thay đổi liều lượng, hoặc thu hồi sản phẩm”. ADR được chia làm 2 dạng là loại A và loại B.

1.1.2. Dị ứng thuốc và phân loại

Dị ứng thuốc xảy ra do hiện tượng kích hoạt quá mức hoặc đáp ứng không phù hợp của hệ miễn dịch và được phân loại dựa theo thời gian khởi phát triệu chứng, chất đáp ứng miễn dịch và kháng nguyên. Dựa vào đáp ứng miễn dịch đặc trưng, các phản ứng dị ứng nói chung và dị ứng thuốc nói riêng được chia làm 4 nhóm theo Coombs và Gell. Tất cả các dạng dị ứng thuốc kể cả bệnh cảnh tổn thương da và cơ quan đặc thù đều có thể gặp ở trẻ em.

1.2. Dị ứng nặng do thuốc chống động kinh

1.2.1. Phân loại và cấu trúc thuốc chống động kinh

1.2.1.1. Phân loại thuốc chống động kinh

Nhiều loại thuốc chống động kinh (Antiepileptic Drug - AED) đã được phát triển và được lựa chọn để điều trị bệnh động kinh và một số bệnh lý tâm thần kinh khác.

1.2.1.2. Cấu trúc thuốc chống động kinh và mối liên quan với SCARs

Cơ chế tại sao AED gây ra phản ứng da nặng do thuốc đến nay vẫn chưa được hiểu rõ. Trong ba thế hệ của thuốc chống động kinh nói trên có chứa các thuốc được chuyển hóa bằng cách hydroxyl hóa vòng thơm (aromatic) (ví dụ, phenytoin, primidone, zonisamide, carbamazepin, lamotrigine, phenobarbital, felbamate và oxcarbazepin) và do đó, được gọi là AED vòng thơm. Một trong những giả thuyết được ủng hộ nhất là do các AED có cấu trúc chứa vòng thơm có thể tạo thành dạng trung gian arene oxit. Sản phẩm của phản ứng hóa học này có thể trở thành chất sinh miễn dịch thông qua tương tác với protein hoặc các đại phân tử tế bào theo giả thuyết hapten, cho thấy rằng sự giống nhau về cấu trúc này giữa các AED có thể gây ra các phản ứng quá mẫn. Giả thuyết này ban đầu dựa trên các báo cáo trường hợp ngẫu nhiên và các thí nghiệm *in-vitro*.

Các nghiên cứu sau đó cũng rất ủng hộ giả thuyết này. Cho đến nay, đã có nhiều nghiên cứu quan sát hoặc thực nghiệm *in-vivo* để đánh giá mối liên hệ giữa sự hiện diện của vòng thorn trong cấu trúc AED và các phản ứng trên da.

1.2.2. Cơ chế bệnh sinh của phản ứng da nặng do thuốc

Theo phân loại của Gell và Coombs, SCARs thuộc nhóm quá mẫn chậm tuýp IV. Các phản ứng tuýp IV là các phản ứng qua trung gian tế bào T xảy ra chậm, vài ngày đến vài tuần sau lần đầu tiên tiếp xúc với thuốc.

Trong khi các cơ chế bệnh sinh miễn dịch cơ bản vẫn chưa được hiểu rõ hoàn toàn, việc trình diện thuốc bởi các phân tử kháng nguyên bạch cầu người (HLA) lớp I và sự kích hoạt, nhân rộng dòng tế bào T CD8+ sau đó dường như là cần thiết để kích hoạt các đáp ứng miễn dịch. Hầu hết các thuốc là các phân tử nhỏ không thể gây phản ứng dị ứng độc lập. Có nhiều mô hình khác nhau tồn tại để giải thích về cách các phân tử nhỏ tương tác với tế bào T và kích hoạt các phản ứng miễn dịch, bao gồm:

- Mô hình hapten- prohaptent
- Mô hình tương tác được lý hay mô hình p-i
- Mô hình biến đổi peptid
- Giả thuyết nguy hiểm
- Mô hình miễn dịch dị loài

Vai trò của phân tử HLA trong cơ chế bệnh sinh SCARs được thể hiện chủ yếu trong mô hình hapten – prohaptent, mô hình p-i và mô hình biến đổi peptid (Hình 1.5).[28]

1.2.3. Phân loại ứng da nặng do thuốc



1.2.4. Đánh giá, điều trị và tiên lượng

Điểm quan trọng nhất trong điều trị SCARs chính là dừng ngay thuốc nghi ngờ gây dị ứng. Chăm sóc y tế toàn diện rất cần thiết để tránh các biến chứng cấp tính và di chứng của bệnh. Khi có tổn thương tạng nghiêm trọng, glucocorticoid toàn thân, truyền kháng thể tĩnh mạch (IVIg), các thuốc ức chế miễn dịch hay kháng thể đơn dòng sẽ được cân nhắc sử dụng

tùy bệnh cảnh cụ thể và cá nhân hóa tối đa, dù hiệu quả thực tế của các liệu pháp này vẫn còn rất nhiều tranh cãi, chưa có hướng dẫn thống nhất.

1.3. Vai trò của HLA và TCR trong cơ chế bệnh sinh phản ứng da nặng do thuốc

Theo phân loại của Gell và Coombs, SCARs thuộc nhóm quá mẫn chậm tuýp IV.[21] Đây là các phản ứng qua trung gian tế bào T xảy ra chậm, vài ngày đến vài tuần sau lần đầu tiên tiếp xúc với thuốc. Làm thế nào mà tế bào T nhận diện được thuốc như một yếu tố ngoại lai gây hại và khởi phát đáp ứng miễn dịch? Tương tác giữa HLA, kháng nguyên thuốc và TCR trở thành vấn đề trung tâm để giải thích câu hỏi này.

1.3.1. Kháng nguyên bạch cầu người (Human Leukocyte Antigen-HLA)

1.3.1.1. Khái niệm

HLA là tên gọi tắt quốc tế của kháng nguyên bạch cầu người (Human Leukocyte Antigen) và tên này đã được đặt cho các gen quy định sản xuất HLA. Mặc dù có tên gọi như vậy, phân tử HLA không chỉ có mặt trên bề mặt bạch cầu mà còn có trên các tế bào khác của cơ thể. Đồng thời, trên bề mặt tế bào bạch cầu không chỉ có phân tử HLA mà còn có nhiều loại kháng nguyên bề mặt khác (các CD, các thụ thể...) nhưng không được gọi tên là kháng nguyên bạch cầu người. Chính vì vậy, phân tử HLA còn được gọi là phức hợp hòa hợp mô chủ yếu (Major Histocompatibility Complex – MHC).

1.3.1.2. Phân loại phân tử HLA

Phân tử HLA được chia thành hai loại: HLA lớp I và HLA lớp II

1.3.1.3. Phân loại vùng gen HLA và đặc điểm di truyền

Hệ thống gen HLA nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể số 6 trên dải 6p21.3. Hệ thống gen HLA là cụm lớn nhất trong bộ gen người, được chia thành ba vùng gen chính: lớp I, lớp II và lớp III. Tất cả các vùng đều liên quan đến phản ứng và ức chế miễn dịch. Các vùng gen HLA có tính chất đa hình và đa gen. Vùng lớp I chứa các gen HLA-A, -B và -C “kinh điển” mã hóa chuỗi nặng của phân tử HLA lớp I.

1.3.2. Thụ thể tế bào Lympho T (T Cell Receptor - TCR)

1.3.2.1. Khái niệm

TCR được phát hiện ra vào những năm 1980, là một phân tử trên bề mặt tế bào lympho T, giúp nhận biết các kháng nguyên được gắn trên HLA. Mỗi tế bào T thuộc một dòng nhất định thường chỉ biểu hiện duy nhất một loại TCR. Tập hợp tất cả các TCR trên các tế bào T của một cá thể được gọi bằng thuật ngữ “TCR repertoire” hoặc “TCR profile”. Trong tài

liệu này, “TCR repertoire” sẽ được giữ nguyên để đảm bảo ý nghĩa, và viết tắt là TCR-r.

1.3.2.2. Cấu trúc

TCR là một protein gồm hai phân tử khác loại gắn màng liên kết với nhau bằng liên kết disulfua, thường bao gồm các chuỗi α và β biến đổi cao. TCR cùng với các phân tử CD3 hằng định tạo thành một phức hợp quan trọng đảm bảo chức năng thụ thể miễn dịch của tế bào T. Tế bào T biểu hiện hai chuỗi α và β được gọi là tế bào T $\alpha:\beta$ (hoặc T $\alpha\beta$)

1.3.2.3. Chức năng

Hệ thống miễn dịch có khả năng phát hiện bất thường gần như vô hạn. Khả năng tự thẩm định đáng chú ý này đạt được nhờ cấu trúc liên quan của hai phân tử, globulin miễn dịch và thụ thể tế bào T (TCR). TCR, thông qua các CDR của nó, mang lại cho tế bào T khả năng nhận biết và phản hồi với vật chất lạ hoặc “không phải tự thân”. Tế bào trình diện kháng nguyên (Antigen-Presenting Cell, APC) tiêu hóa mầm bệnh và biểu hiện các mảnh của chúng trên các phân tử phức hợp MHC (HLA). Phức hợp MHC/kháng nguyên này liên kết với TCR trong khi các phân tử đồng kích thích khác (ví dụ CD28) được kích hoạt dẫn đến tế bào T được hoạt hóa, tăng sinh, biệt hóa, chết theo chương trình, hoặc giải phóng cytokine.[53]

- Tương tác TCR-pHLA:
- Phản ứng chéo của tế bào T
- Tương tác TCR với các phối tử không được trình diện bởi HLA

1.3.3. Vai trò của HLA và TCR trong cơ chế bệnh sinh phản ứng da nặng do thuốc

Tế bào T đóng vai trò trung tâm trong quá miễn loại IV. Các thụ thể tế bào T (T Cell Receptor – TCR) nhận diện các peptide lạ được trình diện bởi HLA là bước đầu tiên để hoạt hóa tế bào T. Hoạt động của TCR trong dị ứng thuốc đã nhận được sự quan tâm đặc biệt trong khoảng 20 năm gần đây. Một số dòng tế bào T với các TCR cụ thể đã được xác định có mối liên quan đặc biệt với một số kiểu hình SCAR, bên cạnh vai trò trong các bệnh tự miễn, ung thư và nhiễm trùng khác.

1.4. Tình hình nghiên cứu

1.4.1. Tại Việt Nam

Tỷ lệ dị ứng thuốc tại Việt Nam được ghi nhận trong nghiên cứu tại Trung tâm Dị ứng – Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai: Nghiên cứu của Lê Văn Khang tổng kết tình hình dị ứng thuốc tại Trung tâm trong 10 năm (1981-1990) cho thấy, trong số 241 bệnh nhân được khám

và điều trị ở đây, có 64.53% bệnh nhân dị ứng do kháng sinh.[59] Năm 2014, Lê Thị Thảo đã nghiên cứu về tình hình dị ứng thuốc thông qua ghi nhận tại Trung tâm Dị ứng – Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai và cơ sở dữ liệu báo cáo tự nguyện của Việt Nam. Trong nghiên cứu này, phản ứng bất lợi do thuốc chống động kinh chiếm 5,9% phản ứng bất lợi do tất cả các thuốc, trong đó chủ yếu là carbamazepin. Phản ứng bất lợi do carbamazepin ở các bệnh nhân trong nghiên cứu này SJS (5 bệnh nhân), hội chứng quá mẫn do thuốc (2 bệnh nhân) và hồng ban đa dạng (1 bệnh nhân). Đặc biệt, carbamazepin và allopurinol là nguyên nhân hàng đầu gây SJS trong nghiên cứu này.[60]

Nghiên cứu của Nguyễn Văn Đĩnh và cộng sự (2015) trên 38 bệnh nhân SCARs do carbamazepin so với 25 bệnh nhân động kinh dung nạp với carbamazepin cho thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa allele *HLA-B*15:02* với SCARs (OR 33,78; 95% CI 7,55-151,03), allele *HLA-B*15:02* được phát hiện ở 34 trong số 38 bệnh nhân SCARs do carbamazepin. Năm 2022, nghiên cứu của Trần Quang Tuyền trên 259 bệnh nhân động kinh trưởng thành phát hiện: 25,9% bệnh nhân động kinh mang allele *HLA-B*15:02*, đồng thời, tỉ lệ phản ứng da ở nhóm mang *HLA-B*15:02* là 22,4%, ở nhóm không mang *HLA-B*15:02* là 8,9%, khác biệt ở hai nhóm này có ý nghĩa thống kê.

1.4.2. Trên thế giới

Từ năm 1983 đã có nghiên cứu cho thấy mối liên quan giữa *HLA-B*15* với hồng ban đa dạng do thuốc và nhiễm trùng.[68] Năm 2004, nghiên cứu của Chung và cộng sự đã báo cáo sự xuất hiện của *HLA-B*15:02* ở 100% bệnh nhân người Hán – Trung Quốc mắc SJS do Carbamazepin, trong khi ở bệnh nhân dung nạp với Carbamazepin thì allele này chỉ xuất hiện 3% và 8.6% ở dân số chung. Nghiên cứu của Tai-Ming Ko và cộng sự cung cấp thông tin để xác định các TCR có liên quan đến quá miễn tuýp IV do carbamazepin. Nghiên cứu tiến hành trên 3 nhóm: bệnh nhân SJS/TEN do carbamazepin (18 bệnh nhân đều có *HLA-B*15:02*), nhóm chứng dung nạp tốt với carbamazepin (9 người không có *HLA-B*15:02* và 2 người có *HLA-B*15:02*) và người khỏe mạnh chưa từng sử dụng carbamazepin (29 người có *HLA-B*15:02*). Kết quả phân tích cho thấy dòng TCR VB-11-ISGSY (ISGSI là các kí tự viết tắt đại diện cho acid amin) đã được xác định là dòng ưu thế có mặt ở các bệnh nhân quá mẫn chậm với carbamazepin. Dòng này có mặt ở 16/19 bệnh nhân (84%) SJS/TEN, không xuất hiện ở tất cả 17 bệnh nhân dung nạp, và có mặt ở một vài người khỏe mạnh chưa tiếp xúc với carbamazepin (4/29, ~14%).

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Mục tiêu 1

- Đối tượng nghiên cứu:

Bệnh nhân có phản ứng da liên quan tới thuốc chống động kinh có vòng thơm điều trị nội trú tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 01/2015 đến hết tháng 12/2022.

Bệnh nhân đã dùng thuốc chống động kinh có vòng thơm trên 12 tuần và không có phản ứng.

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:

Tiền sử dùng thuốc chống động kinh có vòng thơm trên 12 tuần và không có phản ứng.

Tiền sử dùng thuốc chống động kinh có vòng thơm trong vòng 12 tuần trước khi khởi phát tình trạng phản ứng da và được chẩn đoán mắc một trong các hội chứng: MPE, SJS-TEN, DRESS, AGEP.

- Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Nhi Trung ương

- Thời gian nghiên cứu: Tháng 01/2015 đến hết tháng 12/2022.

- Phương pháp nghiên cứu

+ Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu bệnh chứng

+ Cỡ mẫu nghiên cứu: công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu

bệnh chứng

Tỷ lệ trẻ mang HLA-B*15:02 dương tính mắc SCAR là 83,33%, có yếu tố nguy cơ cao gấp 7,143 lần so với trẻ không mang HLA-B*15:02. Với mức chọn sai sót $\alpha=0,1$ và $\beta=0,15$. Gọi p_1 là tỉ lệ trẻ mang HLA-B*15:02 trong nhóm bệnh ($p_1=0,83$), với nguy cơ cao gấp 7,143 (OR=7,143) so với nhóm chứng.[79]

Công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu bệnh chứng:

$$p_2 = \frac{p_1 OR}{1 + p_1 (OR - 1)}$$

$$n_{\text{Bệnh}} = n_{\text{Chứng}} \geq \frac{[Z_{1-\alpha/2} \sqrt{2p(1-p)} + Z_{1-\beta} \sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_2 - p_1)^2}$$

$$N_{\text{Tổng}} \geq n_{\text{Bệnh}} + n_{\text{Chứng}}$$

Thay vào công thức:

$$p_2 = \frac{0.833 \times 7.143}{1 + 0.833(7.143 - 1)} = 0.97$$

$$n_{\text{Bệnh}} = n_{\text{Chứng}} \geq \frac{[1.64 \sqrt{2 \times 0.9(1-0.9)} + 1.04 \sqrt{0.833(1-0.833) + 0.97(1-0.97)}]^2}{(0.97 - 0.833)^2} = 64$$

$$N_{\text{Tổng}} \geq n_{\text{Bệnh}} + n_{\text{Chứng}} = 128$$

Cỡ mẫu tối thiểu nhóm bệnh = nhóm chứng = 64

Số mẫu thực tế thu thập được trong quá trình nghiên cứu:

+ 74 Ca bệnh (Trẻ bị phản ứng da do thuốc chống động kinh)

+ 159 Ca chứng (Trẻ dung nạp với thuốc chống động kinh)

- Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện, tất cả các bệnh nhân nhi thỏa mãn tiêu chuẩn trong thời gian nghiên cứu.

Nội dung nghiên cứu

Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu:

Đặc điểm lâm sàng:

Đặc điểm cận lâm sàng:

2.2. Mục tiêu 2

- Đối tượng nghiên cứu:

Bệnh nhân có chỉ định sử dụng thuốc chống động kinh có vòng thơm lần đầu.

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:

Bệnh nhân được chẩn đoán Động kinh. Được chỉ định sử dụng thuốc chống động kinh có vòng thơm lần đầu. Bệnh nhân/Gia đình bệnh nhân đồng ý tự nguyện tham gia nghiên cứu

- Tiêu chuẩn loại trừ:

Bệnh nhân/ Gia đình không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Bệnh nhân có phản ứng da nghi ngờ do thuốc chống động kinh.

Bệnh nhân đang có các bệnh lý như viêm mạch, viêm da cơ địa, mày đay mạn hoặc có tổn thương da, cơ quan.

- Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Nhi Trung ương

- Thời gian nghiên cứu: Tháng 01/2021 đến hết tháng 12/2022.

- Phương pháp nghiên cứu

+ Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả tiến cứu loạt ca bệnh

+ Cỡ mẫu nghiên cứu: Cỡ mẫu được áp dụng cho công thức tính

cỡ mẫu cho nghiên cứu mô tả xác định một tỷ lệ

$$n \geq \frac{z_{1-\frac{\alpha}{2}}^2 \cdot p(1-p)}{\varepsilon^2 p}$$

Tỷ lệ mang HLA-B*15:02 dương tính ở dân số người Việt theo Nguyễn Văn Đĩnh (2015) là 24% ($p=0,24$).[14]

Lấy sai số tương đối cho phép $\varepsilon=0,095$

Cỡ mẫu ước tính: 950

Số mẫu thực tế thu thập được trong quá trình nghiên cứu: 952

- Phương pháp chọn mẫu

Chọn mẫu thuận tiện, tất cả các bệnh nhân nhi thỏa mãn tiêu chuẩn trong thời gian nghiên cứu

- Nội dung nghiên cứu

- Đặc điểm chung của nhóm nghiên cứu:
- Đặc điểm lâm sàng:
- Đặc điểm cận lâm sàng:

2.3. Mục tiêu 3

- Đối tượng nghiên cứu:

Bệnh nhân nhi mắc bệnh động kinh có xét nghiệm HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 dương tính.

- Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân:

- Bệnh nhân bị phản ứng da do thuốc chống động kinh có vòng thơm, có xét nghiệm HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 Dương tính
- Bệnh nhân dung nạp với thuốc chống động kinh có vòng thơm (Dùng thuốc trên 12 tuần không có phản ứng), có xét nghiệm HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 Dương tính

- Tiêu chuẩn loại trừ:

Bệnh nhân/ Gia đình bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu. Bệnh nhân đang có các bệnh lý như viêm mạch, viêm da cơ địa, mày đay mạn hoặc có tổn thương da, cơ quan.

- Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Nhi Trung ương

- Thời gian nghiên cứu: Tháng 01/2021 đến hết tháng 12/2022.

- Phương pháp nghiên cứu

- + Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu bệnh chứng
- + Cỡ mẫu nghiên cứu:

Cỡ mẫu được áp dụng cho công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu bệnh chứng. Tỷ lệ trẻ mang HLA-B*15:02 dương tính không mắc scar là 11,67%. Trẻ mang HLA-B*15:02 dương tính có yếu tố nguy cơ cao gấp 7,143 lần so với trẻ không mang HLA-B*15:02. Với mức chọn sai sót $\alpha=0,25$ và $\beta=0,25$. Gọi p_1 là tỉ lệ trẻ mang HLA-B*15:02 trong nhóm bệnh ($p_1=0,1167$), với nguy cơ cao gấp 7,143 ($OR=7,143$) so với nhóm chứng.[79]

Công thức tính cỡ mẫu cho nghiên cứu bệnh chứng:

$$p_2 = \frac{p_1 OR}{1 + p_1(OR-1)}$$

$$n_{Bệnh} = n_{Chứng} \geq \frac{[Z_{1-\alpha/2}\sqrt{2p(1-p)} + Z_{1-\beta}\sqrt{p_1(1-p_1) + p_2(1-p_2)}]^2}{(p_2 - p_1)^2}$$

$N_{Tổng} \geq n_{Bệnh} + n_{Chứng}$

Thay vào công thức:

$$p_2 = \frac{0.1167 \times 7.143}{1 + 0.1167(7.143 - 1)} = 0.49$$

$$n_{Bệnh} = n_{Chứng} \geq \frac{[1.15\sqrt{2 \times 0.3(1-0.3)} + 0.67\sqrt{0.1167(1-0.1167) + 0.49(1-0.49)}]^2}{(0.49 - 0.1167)^2}$$

$$= 10$$

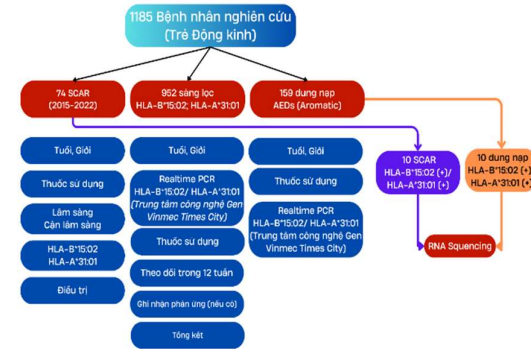
$$N_{Tổng} \geq n_{Bệnh} + n_{Chứng} = 20$$

Cỡ mẫu tối thiểu nhóm bệnh = nhóm chứng = 10

Số mẫu thực tế thu thập được trong quá trình nghiên cứu:

- + 10 Ca bệnh (Phản ứng da do thuốc chống động kinh, có HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 dương tính)
- + 10 Ca chứng (Dung nạp với thuốc chống động kinh, có HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 dương tính)

SƠ ĐỒ NGHIÊN CỨU



2.4. Phương pháp thu thập số liệu

2.4.1. Khai thác bệnh sử và tiền sử dị ứng

Bệnh nhân phản ứng da nặng được khai thác kỹ bệnh sử và tiền sử dị ứng theo mẫu bệnh án nghiên cứu nhằm sáng tỏ các vấn đề sau:

Bệnh sử:

Tiền sử:

2.4.2. Khám lâm sàng

2.4.2.1. Đánh giá thương tổn cơ bản da

2.4.3. Xét nghiệm

2.4.3.1. Các xét nghiệm cơ bản

2.4.3.2. Kỹ thuật real-time PCR xác định typ HLA

Realtime PCR là kỹ thuật nhân bản DNA dựa vào các chu kỳ nhiệt, trong kỹ thuật Realtime PCR tín hiệu khuếch đại sẽ được hiển thị sau mỗi chu kỳ nhiệt và được biểu diễn bằng biểu đồ khuếch đại của

Realtime PCR, các tín hiệu sẽ được biểu thị trên biểu đồ bằng tín hiệu nền, giai đoạn lũy thừa (log phase) và giai đoạn bình nguyên.

- Nguyên lý cơ bản của kỹ thuật real-time PCR là dựa vào sự khuếch đại đặc hiệu của enzyme Taq polymerase trên cơ sở sự bắt cặp chính xác của primer vào DNA trong mẫu và các dNTP tự do và sự phát quang của các probe huỳnh quang và tự đó bộ phận ghi nhận tín hiệu sẽ ghi nhận được tín hiệu phát ra từ các probe này.

- Kết quả được thể hiện dưới dạng biểu đồ quan sát được qua mỗi chu kỳ, từ đó có thể đưa ra đánh giá về hiệu quả khuếch đại DNA mục tiêu. Real-time PCR yêu cầu có thiết bị đo cường độ phát huỳnh quang từ ống mẫu và cài chương trình phần mềm cho phép xử lý kết quả về sự biến đổi cường độ huỳnh quang.

- Chu trình nhiệt của real-time PCR cũng có 3 giai đoạn cơ bản tương tự như PCR bao gồm:

- o Giai đoạn biến tính:
- o Giai đoạn bắt cặp:
- o Giai đoạn kéo dài:

- Các giai đoạn này được thực hiện thông qua sự luân chuyển nhiệt độ giữa các chu kỳ. Qua mỗi chu kỳ, tín hiệu huỳnh quang sẽ được ghi nhận có sự gia tăng tương ứng với lượng bản sao DNA nhân lên theo cấp số lũy thừa.

Xét nghiệm định tuýp HLA thực hiện tại Trung tâm công nghệ Gen, Bệnh viện Đa khoa Quốc tế Vinmec Timecity.

Bước 1: Tách DNA chuẩn bị cho phản ứng Realtime PCR

Bước 2: Thiết lập trình tự môi và đầu dò (probe):

Bước 3: Chuẩn bị thành phần phản ứng

Bước 4: Chu trình nhiệt

Bước 5: Phân tích kết quả

- Chu trình nhiệt của một phản ứng real-time PCR được cài đặt từ 40-45 chu kỳ.

- Các mẫu dương tính muộn có Ct từ 38-45, được đánh giá là dương tính giả hoặc nồng độ quá thấp bộ kit không thể phát hiện được.

- Sau phản ứng, dựa vào phương trình $y=ax+b$ của đường chuẩn sẽ giúp xác định nồng độ DNA mục tiêu có trong mẫu. Như vậy đường chuẩn là một thông số để xác định hàm lượng bản sao DNA có trong mẫu và đánh giá hiệu quả của phản ứng khuếch đại.[80], [81], [82], [83]

2.4.3.3. Kỹ thuật xác định TCR

Sử dụng kỹ thuật PCR đa hình (multiplex PCR – mPCR), các đoạn môi (primer) sẽ tác động đến các gen tế bào dòng tinh V và J (gene C)

nằm trong chuỗi α và β để khuếch đại các hoán vị V(D)J ở vùng CDR3. Sử dụng kit Agilent hoặc Illumina để bắt được các TCR của chuỗi $\alpha\beta$ tế bào T.

Quy trình thu mẫu và phân tích RNA

Tinh chế mRNA: Sử dụng bộ chuyển đổi polyT liên kết với đuôi polyA của mRNA để tách mRNA ra khỏi các loại RNA khác như rRNA, tRNA.

Định lượng RNA: Sử dụng các phương pháp định lượng như quang phổ kế hoặc điện di trên chip để xác định nồng độ và chất lượng RNA.

Phân mảnh: Sử dụng enzym cắt ngẫu nhiên hoặc sonication để phân mảnh mRNA thành các đoạn ngắn hơn.

Chuyển đổi cDNA: Dùng enzyme phiên mã ngược để tổng hợp cDNA từ mRNA.

Ghép kênh: Thêm mã vạch để phân biệt các mẫu trước khi ghép chung.

Khuếch đại cDNA: Sử dụng PCR để nhân lên số lượng cDNA.

Kiểm soát chất lượng: Kiểm tra kích thước, nồng độ và sự tinh sạch của cDNA.

Giải trình tự: Sử dụng máy giải trình tự thế hệ mới để giải trình tự cDNA.

Phân tích dữ liệu: Sử dụng các công cụ sinh tin học để phân tích và so sánh biểu hiện gen.

Công cụ FastQC (v0.12.1) được sử dụng để kiểm soát chất lượng các đoạn đọc từ quá trình giải trình tự.[84] Sau đó sử dụng công cụ fastp (v0.23.4) để thực hiện cắt tía (*trimming*) với các tham số mặc định nhằm cắt bỏ các trình tự bộ chuyển đổi (*adapter sequence*) có thể sót lại sau quá trình giải trình tự và loại bỏ các đoạn đọc ngắn hay kém chất lượng.[85] Các đoạn đọc sau đó được đưa vào công cụ FastQC một lần nữa để kiểm tra chất lượng.

Các đoạn đọc đạt chất lượng được căn chỉnh (*alignment*) dựa trên bộ gen tham chiếu hg38 bằng công cụ Hisat2 (v2.2.1) với các tùy chọn mặc định.[86] Việc định lượng (*quantification*) có bao nhiêu các đoạn đọc căn chỉnh trùng với vị trí của gen được thực hiện bằng công cụ featureCounts (v2.0.1).[87] Kết quả định lượng sau đó được sử dụng để phân tích khác biệt biểu hiện gen với thư viện Deseq2 (v1.41.1) và ngôn ngữ lập trình R.[88]

DESeq2 sử dụng mô hình thống kê để tính toán sự khác biệt trong biểu hiện gen giữa hai hoặc nhiều nhóm mẫu. Nó bắt đầu bằng cách ước tính phương sai của mức độ biểu hiện gen và sau đó điều chỉnh phân phối nhị thức âm và sử dụng kiểm định Wald để đánh giá ý nghĩa thống kê

cho từng gen. Để tránh tránh kết quả dương tính giả khi thực hiện kiểm định thống kê quá nhiều lần, thư viện này cũng cung cấp cho ta giá trị p hiệu chỉnh (p-adj) được tính toán theo phương pháp Stewamini - Hochberg. Giá trị p hiệu chỉnh < 0.5 sẽ được xem là có ý nghĩa thống kê. Kết quả sau tính toán là giá trị Log2FoldChange thể hiện cho chênh lệch mức độ biểu hiện gen giữa nhóm bệnh và nhóm chứng với công thức tính như sau:

$\text{Log2FoldChange} = \log_2(\text{giá trị biểu hiện gen nhóm bệnh}) - \log_2(\text{giá trị biểu hiện gen nhóm chứng})$.

Giá trị $|\text{Log2FoldChange}| > 0.5$ thể hiện gen có sự biểu hiện chênh lệch giữa 2 nhóm và sẽ là chênh lệch đáng kể nếu $|\text{Log2FoldChange}| > 2$.

2.5. Sai số và cách khắc phục sai số

- Sai số có thể gặp trong quá trình thu thập số liệu, phép đo, nhớ lại của bệnh nhân.

- Cách khắc phục sai số: chuẩn hóa quy trình thăm khám lâm sàng, khai thác kỹ tiền sử, bệnh sử. Có kế hoạch kiểm tra ngẫu nhiên số liệu trong quá trình thu thập, nếu có sai sót sẽ chuẩn hóa lại quy trình. Kiểm tra và kiểm soát số liệu trong quá trình thu thập.

2.6. Xử lý số liệu

Các số liệu nghiên cứu được xử lý bằng phương pháp toán thống kê y học, sử dụng chương trình Epi-info 6.2 và STATA 12.0. Tính trung bình, phương sai, độ lệch chuẩn, tỷ lệ, khi so sánh dùng test Student hoặc test " χ^2 ". Ý nghĩa thống kê đạt được khi giá trị của $p < 0,05$.

Tính tỷ suất chênh OR (Odd Ratio): được sử dụng để đo mối liên quan giữa hai biến nhị phân và định tính; đánh giá mối liên quan giữa yếu tố phơi nhiễm và bệnh, theo công thức: $OR = ad/bc$.

Khoảng tin cậy của OR được xác định là 95% CI (Confident Interval).

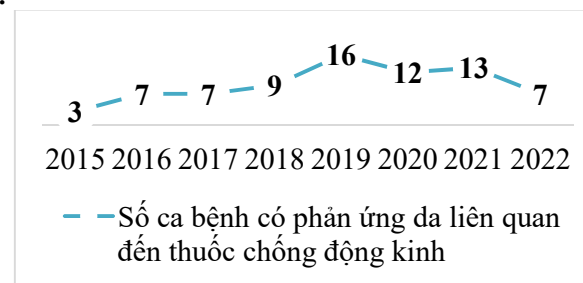
Khi khoảng tin cậy không chứa giá trị 1 hoặc khi giá trị p của test " χ^2 " nhỏ hơn mức ý nghĩa thống kê ($p < 0.05$), ta có thể kết luận là giá trị OR thu được có ý nghĩa thống kê.

2.7. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được thực hiện tại Bệnh viện Nhi Trung ương theo quyết định số 597/QĐ-YDHP ngày 14/05/2021 về việc giao đề tài và cán bộ hướng dẫn của trường Đại học Y Dược Hải Phòng và quyết định số 1419/BVNTU-HĐĐĐ của Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học của Bệnh viện Nhi Trung ương.

Chương 3 KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

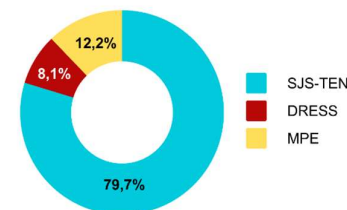
3.1. Mô tả đặc điểm dịch tễ học, lâm sàng, cận lâm sàng dị ứng thuốc chống động kinh tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 01/2015 – 12/2022.



Hình 3.1. Số ca bệnh có phản ứng da liên quan đến thuốc chống động kinh được ghi nhận tại Khoa Miễn dịch – Dị ứng – Khớp – Bệnh viện Nhi trung ương giai đoạn 2015-2022

*Nhận xét: Chúng tôi ghi nhận có 74 bệnh nhân sử dụng thuốc chống động kinh và có phản ứng da thỏa mãn các tiêu chuẩn lựa chọn và được đưa vào nghiên cứu. Năm 2019 có số trường hợp bệnh nhân dị ứng da do thuốc chống động kinh cao nhất là 15 bệnh nhân, ngược lại, năm 2015 có số ca bệnh thấp nhất là 3 bệnh nhân. Vì mục tiêu của nghiên cứu này tập trung trên nhóm đối tượng bệnh nhân có phản ứng da do thuốc chống động kinh, bởi vậy nghiên cứu của chúng tôi tập trung phân tích trên 74 bệnh nhân thỏa điều kiện này.

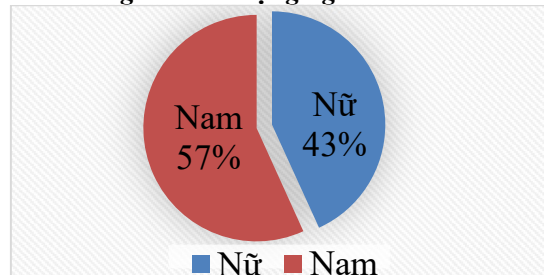
3.1.1. Phân bố bệnh nhân theo thể bệnh



Hình 3.2. Tỷ lệ các thể lâm sàng của đối tượng nghiên cứu (n=74)

*Nhận xét: SJS-TEN chiếm tỷ lệ cao nhất (79,7%), MPE chiếm 12,2%. Thấp nhất là DRESS chiếm 8,1%. Vì các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng là có thể khác nhau giữa các thể bệnh, cho nên phân tích được thực hiện phân tầng cho từng thể bệnh.

3.1.2. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu theo thể bệnh



Hình 3.3. Phân bố theo giới

**Nhận xét:* Kết quả nghiên cứu cho thấy sự khác biệt về giới không có nghĩa thống kê, tỷ lệ giới nam là 57%, giới nữ là 43%.

Bảng 3.2. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu theo thể bệnh (n=74).

| Đặc điểm | Thể bệnh | | | | P |
|-------------------|-----------------------|----------------------|-------------------------|----------------------|--------------------------|
| | Tổng (n=74) | MPE (n=9) | DRESS (n=6) | SJS-TEN (n=59) | |
| Tuổi (năm) | 7 (4-10) ^b | 5 (1-7) ^b | 13 (11-14) ^b | 7 (4-9) ^b | 0,006^a |
| Nhóm tuổi | | | | | |
| Dưới 2 tuổi | 10 (13,5) | 3 (33,3) | 0 (0,0) | 7 (11,8) | 0,004[*] |
| 2-12 tuổi | 55 (74,3) | 6 (66,7) | 2 (33,3) | 47 (79,7) | |
| Trên 12 tuổi | 9 (12,2) | 0 (0,0) | 4 (66,7) | 5 (8,5) | |

*: Kiểm định Fisher's Exact

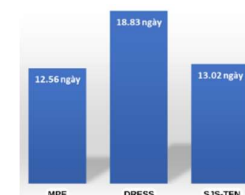
^a: Kiểm định Kruskal-Wallis

^b: Trung vị (Khoảng tứ phân vị)

**Nhận xét:* Kết quả nghiên cứu cho tuổi trung vị của đối tượng nghiên cứu là 7 tuổi. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tuổi khi so sánh giữa các nhóm bệnh (p<0,05). Tuổi trung vị ở nhóm thể bệnh DRESS cao nhất (13 tuổi). Trong khi đó tuổi trung vị thấp nhất là ở nhóm MPE (trung vị là 5 tuổi). Gần ¾ đối tượng nghiên cứu thuộc nhóm tuổi 2-12 tuổi. Điều này tương tự ở thể bệnh MPE và SJS-TEN (lần lượt 66,7% và 79,7%). Trong khi đó ở thể bệnh DRESS, nhóm tuổi trên 12 tuổi chiếm tỉ lệ cao nhất (66,7%). Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ các nhóm tuổi giữa các thể bệnh với nhau (p<0,05).

3.1.3. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của nhóm bệnh

3.1.3.1. Đặc điểm về ngày xuất hiện phản ứng da sau dùng thuốc



Hình 3.4. Đặc điểm ngày xuất hiện phản ứng da theo thể bệnh (n=74)

**Nhận xét:* Kết quả cho thấy MPE có ngày trung bình xuất hiện CAR sớm nhất. DRESS có ngày trung bình xuất hiện CAR trễ nhất. Tuy nhiên nghiên cứu không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về ngày xuất hiện CAR giữa các thể bệnh (p>0,05).

3.1.3.2. Tỉ lệ sử dụng các loại thuốc chống động kinh trong nhóm bệnh

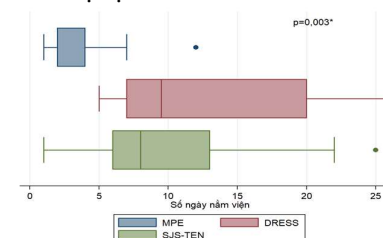
Bảng 3.3. Phân bố giữa thể bệnh và thuốc chống động kinh (n=74).

| Thuốc động kinh | Thể bệnh | | | | P |
|-----------------|-------------|-----------|-------------|----------------|------------------------------|
| | Tổng (n=74) | MPE (n=9) | DRESS (n=6) | SJS-TEN (n=59) | |
| Oxcarbazepin | 29 (39,2) | 8 (88,9) | 1 (16,7) | 20 (33,9) | <0,003[*] |
| Lamotrigine | 10 (13,5) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 10 (16,9) | 0,357 [*] |
| Carbamazepin | 21 (28,4) | 1 (11,1) | 0 (0,0) | 20 (33,9) | 0,149 [*] |
| Phenorbabital | 5 (6,8) | 0 (0,0) | 3 (50,0) | 2 (3,4) | 0,007[*] |
| Phenytoin | 7 (9,5) | 0 (0,0) | 2 (33,3) | 5 (8,5) | 0,130 [*] |
| Valproic acid | 2 (2,7) | 0 (0,0) | 0 (0,0) | 2 (3,4) | 1,000 [*] |

*: Kiểm định Fisher's Exact

**Nhận xét:* Đặc điểm sử dụng thuốc chống động kinh của của đối tượng nghiên cứu theo thể bệnh: Đa số đối tượng nghiên cứu được sử dụng oxcarbazepin (39,2%). Valproic acid được sử dụng ít nhất (2,7%). Nghiên cứu tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỉ lệ sử dụng Oxcarbazepin và Phenorbabital giữa các thể bệnh (p<0,05).

3.1.3.6. Thời gian điều trị nội trú



Hình 3.5. Tương quan giữa số ngày nằm viện và các thể bệnh.

**Nhận xét:* Nghiên cứu tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$) về số ngày nằm viện giữa các thể bệnh với nhau. MPE có số ngày nằm viện thấp nhất (trung vị 2 (2-4)). Đứng thứ 2 là SJS-TEN với số ngày nằm viện trung vị là 8 (6-13). Cao nhất là DRESS với số ngày nằm viện trung vị là 9,5 (7-20).

3.1.4. Mối liên quan giữa HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 với phản ứng da liên quan đến thuốc chống động kinh

Trong phần kết quả tiếp theo, chúng so sánh giữa nhóm bệnh (gồm 74 bệnh nhân có phản ứng da liên quan đến thuốc chống động kinh) và nhóm dung nạp (gồm 159 bệnh nhân dung nạp với thuốc chống động kinh trong tối thiểu 3 tháng).

Bảng 3.4. Mối tương quan giữa HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 với phản ứng da liên quan đến thuốc chống động kinh.

| Đặc điểm | Nhóm bệnh (n=74) | Nhóm dung nạp (n=159) | P | OR (KTC 95%) |
|--------------------|------------------|-----------------------|------------------|------------------------------------|
| HLA-B*15:02 | | | | |
| Dương tính | 21 (61,8) | 26 (16,4) | <0,001 | 7,56 (3,15-18,34) |
| Âm tính | 13 (38,2) | 133 (83,6) | | |
| HLA-A*31:01 | | | | |
| Dương tính | 6 (25,0) | 7 (4,4) | 0,004* | 6,29 (1,58-23,15) |
| Âm tính | 18 (75,0) | 152 (95,6) | | |

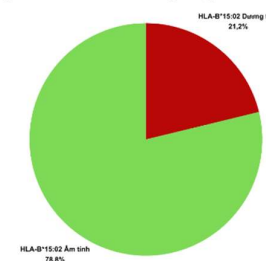
*: Kiểm định Fisher's Exact

**Nhận xét:* Kết quả nghiên cứu cho thấy: Nhóm bệnh nhân có phản ứng da do thuốc chống động kinh có khả năng mang alen HLA-B*15:02 cao hơn gấp 7,56 lần so với nhóm dung nạp (KTC 95%: 3,15-18,34). Ở nhóm bệnh nhân có phản ứng da do thuốc chống động kinh có khả năng mang alen HLA-A*31:01 cao hơn gấp 6,29 lần so với nhóm dung nạp thuốc (KTC 95%: 1,58-23,15).

3.2. Khả năng dự báo bệnh của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 với phản ứng da liên quan đến các thuốc chống động kinh

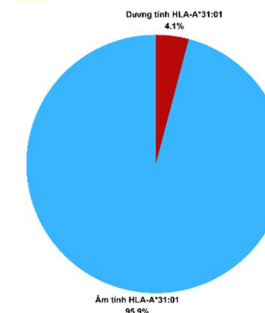
Chúng tôi thực hiện nghiên cứu tiền cứu từ 1/12/2020 – 31/12/2022 với xét nghiệm sàng lọc HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 trên 952 bệnh nhân lần đầu có chỉ định dùng thuốc chống động kinh và so sánh với nhóm chứng 159 bệnh nhân dung nạp thuốc. 159 bệnh nhân này đã sử dụng thuốc chống động kinh có vòng thom trên 12 tuần và không có phản ứng.

3.2.1. Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu



Hình 3.6. Kết quả xét nghiệm HLA-B*15:02

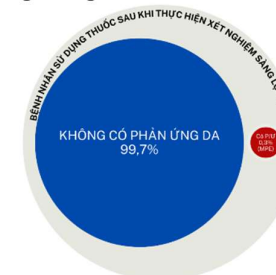
**Nhận xét:* 952 bệnh nhân được thực hiện xét nghiệm HLA-B*15:02. Kết quả cho tỉ lệ dương tính là 21,2% và 16,4%; tỉ lệ âm tính là 78,8%.



Hình 3.7. Kết quả xét nghiệm HLA-A*31:01

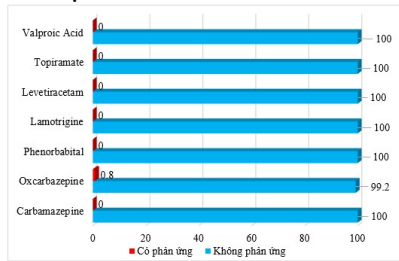
**Nhận xét:* 952 bệnh nhân được thực hiện xét nghiệm HLA-A*31:01. Kết quả cho tỉ lệ mang alen là 4,1%, tỉ lệ âm tính là 95,9%.

3.2.2. Khả năng dự báo của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 trong dự ứng một số thuốc chống động kinh



Hình 3.8. Tỷ lệ xuất hiện phản ứng da liên quan tới thuốc chống động kinh trên nhóm sàng lọc (n=952)

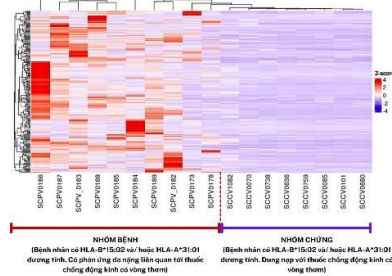
***Nhận xét:** Nghiên cứu phát hiện 3 trường hợp (chiếm 0,3%) xuất hiện phản ứng da liên quan tới thuốc chống động kinh trên 952 bệnh nhân của nhóm sàng lọc (bệnh nhân được theo dõi sau 12 tuần dùng thuốc chống động kinh). 3 bệnh nhân này không có tiền sử dị ứng thuốc, đều có xét nghiệm HLA-A*31:01 và HLA-B*15:02 âm tính, được chỉ định dùng oxcarbazepin và xuất hiện MPE.



Hình 3.9. Tỷ lệ xuất hiện phản ứng da liên quan đến thuốc theo các nhóm thuốc chống động kinh trên nhóm sàng lọc (n=952)

***Nhận xét:** Kết quả nghiên cứu cho thấy, trong nhóm sàng lọc được chỉ định oxcarbazepin thì có 0,8% bệnh nhân xuất hiện phản ứng da. Không phát hiện tình trạng dị ứng với các nhóm thuốc chống động kinh khác (carbamazepin, phenobarbital, lamotrigine, levetiracetam, topiramate, valproic acid).

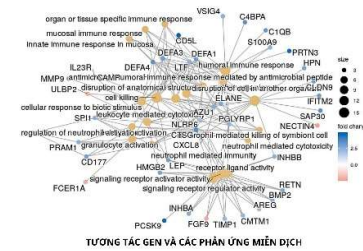
3.3. Đặc điểm tái tổ hợp thụ thể tế bào lympho T (TCR) trong các phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh có vòng thớm



Hình 3.10. Mức độ biểu hiện gen của đối tượng nghiên cứu (mẫu dung nạp có mã SCCV, mẫu dị ứng có mã SCPV)

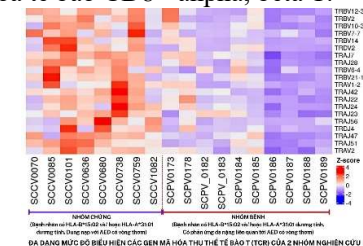
***Nhận xét:** Kết quả mức độ biểu hiện các gen trên 2 nhóm cho thấy rõ sự phân biệt giữa nhóm dung nạp và nhóm dị ứng. Trong nhóm bệnh nhân có phản ứng, các gen có mức độ biểu hiện tăng - Z-score 2 - 4 (màu

đỏ và cam) hoặc có mức độ biểu hiện giảm - Z-score (-) 2; (-) 4 (màu xanh) khác biệt so với bệnh nhân nhóm dung nạp và ngược lại. Điều này cho thấy sự biểu hiện gen là khác nhau ở các nhóm bệnh nhân nghiên cứu dựa trên cơ sở những gen có sự khác biệt có ý nghĩa nhất thuộc 2 nhóm dựa trên chỉ số p-value.



Hình 3.11. Phân tích các con đường tín hiệu liên quan đến tương tác giữa các gen với phản ứng miễn dịch.

***Nhận xét:** Sự khác biệt phản ứng gen giữa 2 nhóm bệnh nhân phần lớn thuộc các con đường tín hiệu liên quan tới phản ứng miễn dịch bao gồm các con đường tín hiệu liên quan đến hoạt hoá bỏ thể, Interleukin, Interferon, Cytokine signaling và đặc biệt nhóm các gen tham gia vào quá trình điều hoà hoạt hoá tế bào T, quá trình tăng sinh tế bào T, quá trình điều hoà và hoạt hoá tế bào CD8+ alpha, beta T.



Hình 3.12. Mức độ biểu hiện gen mã hóa TCR của hai nhóm nghiên cứu

***Nhận xét:** Biểu đồ nhiệt cho thấy sự khác biệt về biểu hiện gen của hai nhóm nghiên cứu, đặc biệt là các gen mã hóa cho thụ thể tế bào T (TCR). Đặc biệt là các nhóm gen TRAV, TRAJ, TRBV là các gen mã hóa cho các chuỗi biến đổi vùng thụ thể tế bào T (TCR). Các gen này đóng vai trò quan trọng trong quá trình nhận diện và đáp ứng miễn dịch của tế bào T đối với các kháng nguyên. Ở nhóm chứng là nhóm có HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 dương tính nhưng dung nạp với thuốc chống động kinh có vòng thớm, các vùng gen có tăng mức độ biểu hiện đáng kể so với nhóm bị dị ứng thuốc.

Chương 4 BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm dịch tễ học, lâm sàng, cận lâm sàng dị ứng thuốc chống động kinh tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ tháng 01/2015 – 12/2022.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, các bệnh nhân có phản ứng da nặng chiếm phần lớn (87,5%). Độ tuổi trung vị của tất cả bệnh nhân trong nhóm bệnh thấp: 7 (4-10) năm. Có 6 loại thuốc chống động kinh có liên quan đến phản ứng da do thuốc ở bệnh nhi tại Việt Nam cho kết quả có phân tương đồng với các tác giả trên thế giới với oxcarbazepin, carbamazepin, lamotrigin và phenytoin là các thuốc gây phản ứng da cao so với các thuốc còn lại, đồng thời, acid valproic chiếm tỉ lệ rất thấp, chỉ 2,7%.

Về các liệu pháp điều trị toàn thân trong nghiên cứu của chúng tôi, điều trị bằng corticosteroid toàn thân được áp dụng phổ biến nhất, tiếp đến là IVIG. Tỷ lệ sử dụng corticosteroid trong 3 nhóm bệnh nhân SJS-TEN, DRESS, MPE lần lượt là 88,1%, 100% và 22,0%, khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 99%. Thời gian điều trị nội trú trung bình của bệnh nhân SJS-TEN và DRESS cao hơn hẳn so với bệnh nhân MPE.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỉ lệ mang HLA-B*15:02 ở nhóm bệnh (cADRs do AED) là 61,8%, trong khi nhóm dung nạp chỉ có 17,6% bệnh nhân mang alen HLA-B*15:02, khác biệt có ý nghĩa thống kê theo kiểm định Chi-Square với độ tin cậy 99%. Chúng tôi tìm thấy mối liên quan giữa HLA-B*15:02 với cADRs liên quan đến AED (OR = 7,56; KTC 95% 3,15–18,34; $p < 0,001$). Kết quả cho thấy người mang HLA-B*15:02 có nguy cơ xuất hiện cADRs liên quan đến AED gấp 7,56 lần so với người không mang alen này.

4.2. Khả năng dự báo bệnh của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 với phản ứng da liên quan đến các thuốc chống động kinh

Chúng tôi ghi nhận tỉ lệ dương tính HLA-B*15:02 trong 952 mẫu nghiên cứu là 21,2%. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các bệnh nhân đã được hưởng lợi rất lớn từ xét nghiệm, không có bệnh nhân nào mang alen HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 mà xuất hiện phản ứng dị ứng. Tỉ lệ xuất hiện phản ứng da ở các bệnh nhân sàng lọc là 0,3% (3 bệnh nhân). Tuy nhiên, 3 bệnh nhân này không mang alen nguy cơ. Ở cả 3 ca bệnh này, bệnh nhân xuất hiện MPE sau dùng oxcarbazepin vài ngày và ngừng biểu hiện ban khi ngừng thuốc.

Tại Việt Nam, nghiên cứu của tác giả Nguyễn Văn Đĩnh và cộng sự đã xác nhận mối liên quan chặt chẽ giữa HLA-B*15:02 và SJS/TEN do carbamazepin với tỷ suất chênh OR là 33,78 (CI 95%, 7,55-151,03),

$p < 0,0001$; độ nhạy 91,4%, độ đặc hiệu 76,0%, giá trị dự báo dương tính 84,2% và giá trị dự báo âm tính 86,4%. Nghiên cứu cho thấy sự hiện diện của HLA-B*15:02 ở người Việt Nam là một yếu tố nguy cơ di truyền dẫn đến phát triển SJS/TEN do carbamazepin. Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Hoa Kỳ (The US Food and Drug Administration – FDA) đã khuyến nghị sàng lọc alen HLA-B*15:02 ở các nhóm dân tộc có nguy cơ trước khi chỉ định carbamazepin và các thuốc chống động kinh khác.

Nhóm bệnh nhân mang HLA-B*15:02 có nguy cơ xuất hiện phản ứng da cao hơn gấp 7,56 lần so với nhóm bệnh nhân không mang alen này (KTC 95%: 3,15-18,34).

Nhóm bệnh nhân có HLA-A*31:01 dương tính có nguy cơ xuất hiện phản ứng da cao hơn gấp 6,29 lần so với nhóm bệnh nhân âm tính (KTC 95%: 1,58-23,15).

Giá trị dự báo âm tính của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01: đều trên 98%

4.3. Đặc điểm tái tổ hợp thụ thể tế bào lympho T (TCR) trong các phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh có vòng thơm

Tế bào lympho T đóng vai trò quan trọng trong quá miễn dịch, với việc thụ thể tế bào T (TCR) nhận dạng các peptit ngoại lai được trình diện bởi HLA khởi đầu quá trình kích hoạt tế bào T. Đối với các phản ứng da nặng gây ra bởi thuốc chống động kinh, phân tích tái tổ hợp thụ thể tế bào lympho T lại cái nhìn sâu sắc về tái tổ hợp TCR và phản ứng miễn dịch, tiết lộ tính chất cụ thể của kháng nguyên. Ngoài các yếu tố HLA, phân tích các chuỗi TCR cụ thể cho phép xác định các kháng nguyên được nhận diện bởi tế bào lympho T và kích hoạt phản ứng miễn dịch. So sánh tái tổ hợp TCR giữa các nhóm bệnh và nhóm chứng thông qua RNA-seq cho thấy sự biến đổi phản ứng gen, cung cấp cái nhìn về cơ chế phản ứng miễn dịch, các chỉ số sinh học và mối liên hệ với các loại thuốc. Sự khác biệt trong gen đoạn V và J đã được quan sát giữa các nhóm dung nạp và dị ứng, ảnh hưởng đến các con đường tín hiệu liên quan đến miễn dịch. Nghiên cứu tập trung vào bệnh nhân phản ứng da nặng do oxcarbazepin và carbamazepin, bao gồm các biểu hiện MPE và SJS/TEN, với một quy mô mẫu vừa phải. Nghiên cứu trong tương lai nên bao gồm các nghiên cứu quy mô lớn hơn để áp dụng lâm sàng, kết hợp đánh giá đa yếu tố để dự đoán chính xác cho từng cá nhân.

Cơ chế mà một số bệnh nhân có gen HLA-B*15:02 dương tính và có tăng phản ứng gen của một số gen TRAJ và TRBV, nhưng vẫn có thể dung nạp được với Carbamazepin, có thể được giải thích như sau: Mỗi cá nhân có một hệ thống miễn dịch độc đáo với sự đa dạng gen TCR. Sự

tăng phản ứng gen của một số gen TRAJ và TRBV ở một số bệnh nhân có thể tạo ra các biến thể TCR đặc biệt, có khả năng nhận diện và phản ứng với Carbamazepine một cách hiệu quả. Mặc dù gen HLA-B*15:02 thường được liên kết với các phản ứng quá mẫn với Carbamazepine, nhưng sự tăng phản ứng gen của các gen TRAJ và TRBV có thể tạo ra một hệ thống miễn dịch có khả năng điều chỉnh để giảm phản ứng quá mẫn với thuốc. Có thể rằng sự biến đổi trong gen TCR có thể ảnh hưởng đến cách hệ thống miễn dịch xử lý và phản ứng với Carbamazepine. Sự tăng phản ứng gen của các gen TRAJ và TRBV có thể dẫn đến việc tạo ra các TCR có khả năng nhận diện và phản ứng với Carbamazepine một cách hiệu quả hơn. Điều này có thể giải thích tại sao mặc dù mang gen HLA-B*15:02, nhưng những bệnh nhân này vẫn có thể dung nạp được với Carbamazepine mà không gây ra phản ứng quá mẫn. Có thể rằng sự tương tác giữa các gen TCR và HLA-B*15:02 trong các bệnh nhân này đã tạo ra một cơ chế đặc biệt, cho phép họ phản ứng tích cực với Carbamazepine mà không gây ra các phản ứng không mong muốn.

KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 1185 bệnh nhân động kinh bao gồm cả nhóm dị ứng thuốc, nhóm dung nạp và nhóm sàng lọc, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

1. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh có vòng thơm tại Bệnh viện Nhi Trung ương từ 01/2015-12/2022.

Tỉ lệ SJS-TEN cao nhất với 79,7%. Các thuốc thường gặp gây phản ứng da gồm 39,2% oxcarbazepine, 28,4% carbamazepine, 13,5% lamotrigine, 9,5% phenytoin, 6,8% phenorbabital, 2,7% valproic acid. SJS-TEN có tổn thương da, niêm mạc nặng nề. DRESS có tổn thương cơ quan (huyết học, gan, thận) mức độ nặng hơn so với các nhóm còn lại. DRESS có thời gian khởi phát muộn nhất là 18,83 ngày, SJS-TEN 13,02 ngày. Thời gian nằm viện của DRESS trung bình là 12,8 ngày; SJS-TEN 9,6 ngày.

Tỉ lệ dương tính alen HLA-B*15:02 ở nhóm bệnh và nhóm dung nạp lần lượt (61,8% và 17,6%) ($p < 0,001$). Tỉ lệ dương tính alen HLA-A*31:01 ở nhóm bệnh và nhóm dung nạp lần lượt (25,0% và 15,0%) ($p = 0,004$).

2. Vai trò của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 trong dự báo phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh.

Kết quả sàng lọc 952 bệnh nhân động kinh trước khi sử dụng thuốc:

21,2% bệnh nhân mang alen HLA-B*15:02.

4,1% bệnh nhân mang alen HLA-A*31:01.

Giá trị dự báo âm tính của HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01: đều trên 98%

Nhóm bệnh nhân mang HLA-B*15:02 dương tính có nguy cơ xuất hiện phản ứng da cao hơn gấp 7,56 lần so với nhóm bệnh nhân không mang alen này (KTC 95%: 3,15-18,34). Tương tự với HLA-A*31:01 là 6,29 lần (KTC 95%: 1,58-23,15).

Tỉ lệ sử dụng các loại thuốc chống động kinh của nhóm sàng lọc: 31,5% valproic acid, 28,6% oxcarbazepin, 28,9% levetiracetam, 4,4% topiramate, 4,2% carbamazepin, 1,3% lamotrigin, 1,0% phenobarbital.

0,3% trường hợp gặp phản sau khi dùng thuốc: 3 bệnh nhân không mang HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01, biểu hiện MPE sau dùng oxcarbazepin.

3. Đặc điểm thụ thể tế bào lympho T trong các phản ứng da nặng do thuốc chống động kinh có vòng thơm

Bệnh nhân có phản ứng da nặng thể hiện sự tăng mức độ biểu hiện gen với Z-score từ 2 - 4, trong khi nhóm dung nạp thì gen không thay đổi hoặc giảm biểu hiện với Z-score từ 0 đến -2.

Các gen ảnh hưởng chủ yếu đến các con đường tín hiệu liên quan đến phản ứng miễn dịch, bao gồm hoạt động bào thể, Interleukin, Interferon, Cytokine signaling và nhóm gen tham gia vào quá trình điều hoà và hoạt động của tế bào T.

Phân tích gen mã hóa cho thụ thể tế bào lympho T (TCR) của bệnh nhân sử dụng thuốc chống động kinh có vòng thơm cho thấy sự khác biệt trong biểu hiện gen ở vùng biên đổi và vùng kết nối của chuỗi alpha và beta giữa nhóm bệnh và nhóm chứng.

Nhóm chứng, dù có HLA-B*15:02 dương tính, khi sử dụng thuốc chống động kinh có vòng thơm, có tăng biểu hiện gen ở vùng kết nối của chuỗi Alpha (TRAJ) và vùng biên đổi của chuỗi Beta (TRBV).

KIẾN NGHỊ

1. Xét nghiệm HLA-B*15:02 và HLA-A*31:01 cho bệnh nhân động kinh trước khi chỉ định thuốc. Nếu mang alen này cần tránh chỉ định Carbamazepin và Oxcarbazepin để hạn chế phản ứng da.
2. Sàng lọc HLA-B*15:02 và/hoặc HLA-A*31:01 trước khi sử dụng thuốc chống động kinh có vòng thơm giúp giảm thiểu đáng kể tỷ lệ phản ứng da nặng do thuốc, giá trị dự báo âm tính lên tới 98,3%.
3. Cần thêm các nghiên cứu lớn hơn để đánh giá vai trò của các phản ứng gen tác động đến TCR trong dự báo SCAR do thuốc chống động kinh.