

P-ISSN 1859-4794 * E-ISSN 2615-9929

TẬP 66, SỐ 7, THÁNG 7 NĂM 2024
VOLUME 66, NUMBER 7, JULY 2024

TẠP CHÍ KHOA HỌC & CÔNG NGHỆ

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST VIỆT NAM



HỘI ĐỒNG BIÊN TẬP

Chủ tịch

Châu Văn Minh - Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Thành viên

Nguyễn Việt Anh - Trường Đại học Xây dựng, Việt Nam

Bùi Chí Bửu - Viện Khoa học Kỹ thuật Nông nghiệp miền Nam, Việt Nam

Vũ Dũng - Hội Tâm lý học Việt Nam, Việt Nam

Trần Thọ Đạt - Trường Đại học Kinh tế Quốc dân, Việt Nam

Nguyễn Đình Đức - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Vũ Minh Giang - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trương Nam Hải - Viện Công nghệ Sinh học, Viện Hàn lâm KH&CN Việt Nam, Việt Nam

Trần Thanh Hải - Trường Đại học Mở - Địa chất, Việt Nam

Phạm Huy Khang - Trường Đại học Giao thông Vận tải, Việt Nam

Phạm Gia Khánh - Hội Ghép tạng Việt Nam, Việt Nam

Hồ Đắc Lộc - Trường Đại học Công nghệ TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Nguyễn Thị Mỹ Lộc - Trường Đại học Giáo dục, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Bành Tiến Long - Đại học Bách khoa Hà Nội, Việt Nam

Lê Quan Nghiêm - Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Mai Trọng Nhuận - Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Trần Hữu Phúc - Hội đồng Giáo sư Nhà nước, Việt Nam

Nguyễn Thanh Phương - Trường Đại học Cần Thơ, Việt Nam

Nguyễn Thanh Thủy - Trường Đại học Công nghệ, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Phạm Hùng Việt - Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, Việt Nam

Tổng biên tập

Nguyễn Thị Hương Giang - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Phó Tổng biên tập

Phạm Thị Minh Nguyệt - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ban biên tập

Phí Công Thường - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Vũ Văn Hưng - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Ninh Văn Diện - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thị Bắc - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Tăng Xuân Bình - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Lê Thị Tuyết Hạnh - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

Trương Thị Thảo Dương - Bộ Khoa học và Công nghệ, Việt Nam

EDITORIAL BOARD

Chairman

Chau Van Minh - Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Members

Nguyen Viet Anh - National University of Civil Engineering, Vietnam

Bui Chi Bui - Institute of Agricultural Science for Southern Vietnam, Vietnam

Vu Dung - Vietnam Association of Social Psychology, Vietnam

Tran Tho Dat - National Economics University, Vietnam

Nguyen Dinh Duc - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Vu Minh Giang - VNU, Hanoi, Vietnam

Truong Nam Hai - Institute of Biotechnology, Vietnam Academy of Science and Technology, Vietnam

Tran Thanh Hai - Hanoi University of Mining and Geology, Vietnam

Pham Huy Khang - University of Transport and Communications, Vietnam

Pham Gia Khanh - Vietnam Society of Organ Transplantation, Vietnam

Ho Duc Loc - Ho Chi Minh City University of Technology, Vietnam

Nguyen Thi My Loc - University of Education, VNU, Hanoi, Vietnam

Banh Tien Long - Hanoi University of Science and Technology, Vietnam

Le Quan Nghiem - University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, Vietnam

Mai Trong Nham - VNU, Hanoi, Vietnam

Tran Huu Phuc - The State Council for Professorship, Vietnam

Nguyen Thanh Phuong - Can Tho University, Vietnam

Nguyen Thanh Thuy - University of Engineering and Technology, VNU, Hanoi, Vietnam

Pham Hung Viet - University of Science, VNU, Hanoi, Vietnam

Editor-in-Chief

Nguyen Thi Huong Giang - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Deputy Editor-in-Chief

Pham Thi Minh Nguyen - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Managing Editors

Phi Cong Thuong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Vu Van Hung - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Ninh Van Dien - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thi Bac - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Tang Xuan Binh - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Le Thi Tuyen Hanh - Ministry of Science and Technology, Vietnam

Truong Thi Thao Duong - Ministry of Science and Technology, Vietnam

TÒA SOẠN

113 Trần Duy Hưng - Cầu Giấy - Hà Nội - Việt Nam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn

Tạp chí điện tử: b.vjst.vn

GIẤY PHÉP XUẤT BẢN

Số 459/GP-BTTTT ngày 20/7/2021

Số 50/GP-BTTTT ngày 01/02/2023

Giá: 18000^d

EDITORIAL OFFICE

113 Tran Duy Hung Str. - Cau Giay Dist. - Hanoi - Vietnam

Tel: (84.24) 39436793; Fax: (84.24) 39436794

Email: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn

E-journal: b.vjst.vn

PUBLICATION LICENCE

No. 459/GP-BTTTT 20th July 2021

No. 50/GP-BTTTT 1st February 2023

Chế tạo vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô và lớp phức giữa ion Fe^{3+} và axit tannic cho hệ bay hơi nước

Phạm Tiến Thành*, Nguyễn Hoàng Oanh

Trường Đại học Việt Nhật, Đại học Quốc gia Hà Nội, đường Lưu Hữu Phước, phường Cầu Diễn, quận Nam Từ Liêm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 24/7/2022; ngày chuyển phản biện 25/7/2022; ngày nhận phản biện 5/9/2022; ngày chấp nhận đăng 22/9/2022

Tóm tắt:

Gần đây, các nghiên cứu phát triển hệ lọc nước mặn thành nước sạch sử dụng phương pháp bay hơi nước ở bề mặt giao diện vật liệu quang nhiệt và không khí bằng năng lượng mặt trời (hệ bay hơi nước) đang thu hút được sự quan tâm của cộng đồng khoa học. Trong các hệ lọc nước mặn này, vật liệu quang nhiệt đóng vai trò chính nhằm nâng cao hiệu suất lọc nước của hệ. Nghiên cứu này đề xuất phương pháp chế tạo vật liệu quang nhiệt bằng cách xử lý thân cây ngô với dung dịch axit tannic và muối Fe^{3+} có giá rẻ và thân thiện với môi trường. Bề mặt vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô có khả năng hấp thụ trên 90% ánh sáng có bước sóng 300-1500 nm nhờ hình thành lớp phức chất giữa ion Fe^{3+} và các nhóm hydroxyl (OH) của axit tannic với kích cỡ 200-1000 nm. Bên cạnh đó, thân cây ngô với cấu trúc gồm hệ mao dẫn và cấu trúc xốp đa lớp như tổ ong giúp cho vật liệu quang nhiệt có khả năng dẫn truyền nước nhanh và giảm hệ số truyền nhiệt của vật liệu quang nhiệt. Do đó, hiệu suất bay hơi nước của hệ bay hơi nước sử dụng vật liệu quang nhiệt nêu trên đạt $1,58 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Hiệu suất này được duy trì ổn định trong thời gian dài nhờ độ bền của vật liệu thân cây ngô trong nhiều điều kiện khác nhau. Kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô với giá thành rẻ và thân thiện môi trường vào các ứng dụng hệ bay hơi nước mặn.

Từ khóa: hệ bay hơi nước, thân cây ngô, vật liệu biomass, vật liệu quang nhiệt.

Chỉ số phân loại: 1.3, 2.5

Corn straw coated with Fe^{3+} -tannic acid bilayers as a photothermal material for solar steam generation

Tien Thanh Pham*, Hoang Oanh Nguyen

Vietnam Japan University, Vietnam National University - Hanoi, Luu Huu Phuoc Street, Cau Dien Ward, Nam Tu Liem District, Hanoi, Vietnam

Received 24 July 2022; revised 5 September 2022; accepted 22 September 2022

Abstract:

Recently, studies on developing a system to filter seawater into clean water using the method of water evaporation at the interface of photothermal materials and air using solar energy (solar steam generation - SSG) have attracted increasing attention from the scientific community. In those SSG systems, photothermal materials play a key role in improving water evaporation rate and efficiency. In this study, a photothermal material was fabricated by treating the corn straw with tannic acid and Fe^{3+} solution (cheap and environmentally friendly). The surface of photothermal material from corn stalks exhibited a good ability to absorb over 90% of light with wavelengths of 300-1500 nm due to the formation of a complex layer between Fe^{3+} ions and hydroxy groups (OH) of tannic acid with sizes of 200-1000 nm. Besides, corn straw consists of many vascular bundles and porous multilayers that exhibit a honeycomb-like structure, which improves the ability of water transportation and reduces the thermal conductivity of the material. Therefore, an SSG system utilising the photothermal material based on corn straw possesses a high-water evaporation efficiency of $1.58 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. This efficiency was stably maintained for a long time due to the durability of corn straw in various conditions. The corn straw-based photothermal material showed high potential for SSG utilising seawater desalination method with affordable fabrication cost and eco-friendly raw materials.

Keywords: biomass material, corn straw, photothermal material, solar steam generation.

Classification numbers: 1.3, 2.5

*Tác giả liên hệ: Email: pt.thanh@vju.ac.vn

1. Đặt vấn đề

Nước có mặt ở mọi nơi, tuy nhiên nước sạch không phải nơi nào cũng có. Vấn đề ô nhiễm nguồn nước, xâm nhập mặn do biến đổi khí hậu đang ảnh hưởng nghiêm trọng đến an ninh nguồn nước của nhiều quốc gia trên thế giới, trong đó có Việt Nam [1]. Với nhiều ưu điểm như sử dụng nguồn năng lượng mặt trời (năng lượng tái tạo), không gây ô nhiễm môi trường, dễ dàng lắp đặt và vận hành, có giá rẻ, phương pháp bay hơi nước mặn thành nước sạch (hệ lọc nước mặn) bằng năng lượng mặt trời được kỳ vọng là giải pháp bền vững để đảm bảo nguồn nước sạch phục vụ sinh hoạt ở các vùng chịu ảnh hưởng của hạn mặn cũng như thiếu nước ở Việt Nam và thế giới [2-4].

Hệ lọc nước mặn sử dụng năng lượng mặt trời gồm 2 phần chính: (1) Vật liệu hấp thụ và chuyển hóa năng lượng mặt trời có vai trò hấp thụ ánh sáng và chuyển thành nhiệt năng và dẫn truyền nước lên bề mặt để bay hơi; (2) Bộ phận thu hơi nước với nhiệm vụ chuyển hóa hơi nước thành dạng lỏng (nước sạch) [5, 6]. Nguyên lý cơ bản của hệ là dùng nhiệt lượng chuyển hóa từ ánh sáng mặt trời làm tăng nhiệt độ bề mặt vật liệu. Ở nhiệt độ thích hợp lớp nước ở bề mặt vật liệu từ dạng lỏng chuyển sang dạng hơi. Lớp nước này được cung cấp liên tục lên bề mặt bằng hệ mao dẫn trong vật liệu để quá trình bay hơi diễn ra liên tục [6]. Bộ phận thu hơi nước ngưng tụ hơi nước và chuyển thành dạng lỏng. Do đó, hiệu suất của một hệ bay hơi nước được quyết định bởi các yếu tố sau: i) Hiệu suất chuyển đổi quang nhiệt; ii) Khả năng giữ nhiệt ở bề mặt vật liệu và giảm mất nhiệt ra môi trường xung quanh; iii) Tốc độ cung cấp nước lên bề mặt của vật liệu [2].

Có thể thấy, vật liệu quang nhiệt là yếu tố chính quyết định hiệu suất của hệ bay hơi nước nhằm lọc nước mặn thành nước sạch [3-6]. Hiệu suất cao của hệ bay hơi đạt được từ thành công trong việc chế tạo vật liệu hấp thụ và chuyển hóa quang năng với hiệu suất cao từ nhiều loại vật liệu khác nhau, như vật liệu hạt nano kim loại, oxit kim loại, polymer, vật liệu bán dẫn, biomass [5-8]. Tuy nhiên, việc ứng dụng các hệ bay hơi nước sử dụng vật liệu nêu trên trong điều kiện thực tế với quy mô lớn còn có nhiều thách thức vì các lý do như quy trình chế tạo vật liệu phức tạp, khó chế tạo quy mô lớn, giá thành cao, độ bền của vật liệu chưa cao và không thân thiện với môi trường [6, 8].

Vật liệu biomass có các đặc tính nổi bật như hệ mao dẫn tự nhiên trong cấu trúc, tính ưa nước cao, hệ số truyền nhiệt và bức xạ nhiệt thấp, độ bền cao và đặc biệt vật liệu biomass là các phế phẩm nông nghiệp nên có giá thành rẻ. Các đặc tính này phù hợp để chế tạo vật liệu quang nhiệt. Rất nhiều các loại thân cây đã được sử dụng để chế tạo vật liệu quang

nhiệt như gỗ, thân cây mía, cây tre... [2, 8]. Bằng nhiều phương pháp khác nhau như xử lý nung ở nhiệt độ cao trong điều kiện khí Argon (Ar), kết hợp vật liệu hạt nano kim loại, phủ lớp phức có khả năng hấp thụ ánh sáng mặt trời. Các vật liệu biomass được chế tạo thành vật liệu quang nhiệt với độ hấp thụ ánh sáng mặt trời trên 95% [4-8]. Do đó vật liệu quang nhiệt có thể đạt được hiệu suất bay hơi 1,3-1,7 kg m⁻² h⁻¹ [8, 9].

Cây ngô được trồng rộng rãi ở Việt Nam, bắp ngô được thu hoạch và sử dụng cho nhiều mục đích khác nhau. Tuy nhiên phần thân cây ngô, là phụ phẩm nông nghiệp, thường bị bỏ đi hoặc làm nguyên vật liệu đun nấu. Trong nghiên cứu này, thân cây ngô được sử dụng để chế tạo vật liệu quang nhiệt bằng phương pháp tạo lớp phức của axit tannic và ion Fe³⁺ trên bề mặt thân cây ngô [10]. Từ đó vật liệu quang nhiệt có khả năng hấp thụ trên 90% đối với ánh sáng mặt trời và có hiệu suất bay hơi nước 1,58 kg m⁻² h⁻¹. Vật liệu quang nhiệt được chế tạo còn cho thấy, độ bền cao nhờ thân cây ngô là vật liệu tự nhiên với thành phần chính là cellulose có thể duy trì cấu trúc trong nhiều điều kiện khác nhau. Với quy trình chế tạo đơn giản và giá thành rẻ, vật liệu quang nhiệt này cho thấy tiềm năng có thể chế tạo ổn định ở quy mô lớn.

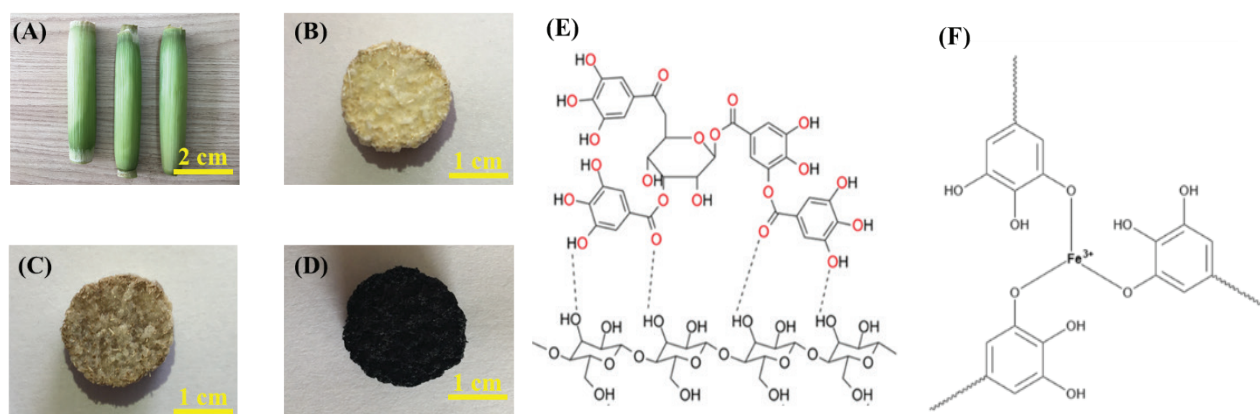
2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Các hóa chất được dùng cho thực nghiệm: Ethanol, axit tannic, FeCl₃.6H₂O (GHTECH, Trung Quốc). Nước biển được lấy từ biển Nghệ An, Việt Nam. Vật liệu thân cây ngô được lấy từ thân cây ngô sau khi thu hoạch bắp ngô.

2.2. Quy trình chế tạo vật liệu

Thân cây ngô (hình 1A) được cắt dọc thành các miếng có độ dày 10 mm (hình 1B) với đường kính 2,2-2,4 cm. Các đoạn thân cây ngô tươi được xử lý bằng dung dịch ethanol trong 60 phút để loại bỏ các chất hữu cơ có trên bề mặt vật liệu này. Sau đó, vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô được chế tạo theo các bước chính như sau [10]: (1) Nhúng miếng ngô sau khi xử lý bằng dung dịch etanol và 100 ml dung dịch axit tannic trong 4 giờ; dung dịch axit tannic được chuẩn bị bằng cách hòa tan 0,4 g axit tannic với 100 ml nước khử ion (nước DI). Sau khi vớt ra và rửa bằng nước DI, chúng ta thu được vật liệu thân cây ngô - tannic (hình 1C); (2) Thân cây ngô - tannic được cho vào 100 ml dung dịch FeCl₃ (hòa tan 0,2 g FeCl₃.6H₂O với 100 ml nước DI) trong 2 giờ; sau đó rửa bằng nước DI và để khô tự nhiên, chúng ta thu được vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô (hình 1D).



Hình 1. Thân cây ngô (A); thân cây ngô được cắt miếng có độ dày 10 mm (B); thân cây ngô sau khi cho vào dung dịch axit tannic (C); vật liệu quang nhiệt từ cây ngô (D); liên kết giữa axit tannic và cellulose ở bề mặt thân cây ngô (E); phức giữa nhóm OH của axit tannic và ion Fe^{3+} (F).

2.3. Phương pháp phân tích vật liệu

Cấu trúc bề mặt của vật liệu được phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét (SEM; Regulus 8100, Hitachi, Nhật Bản), thành phần nguyên tố ở bề mặt vật liệu được phân tích bằng hệ phân tích tia X phân tán năng lượng (XRD, Mini Flex 600, Rigaku, Nhật Bản). Nhóm chức có trên bề mặt vật liệu được phân tích bằng hệ phân tích quang phổ hồng ngoại biến đổi Fourier (FTIR-4600 Jasco, Nhật Bản). Độ hấp thụ của vật liệu được xác định từ kết quả đo độ truyền qua và phản xạ, tán xạ của vật liệu bằng sử dụng phương pháp phân tích quang phổ UV-VIS-NIR (LAMBDA; Perkin Elmer, Mỹ). Nhiệt độ bề mặt của vật liệu được quan sát bằng camera hồng ngoại (FLIR C2; FLIR Systems, Inc., Hoa Kỳ).

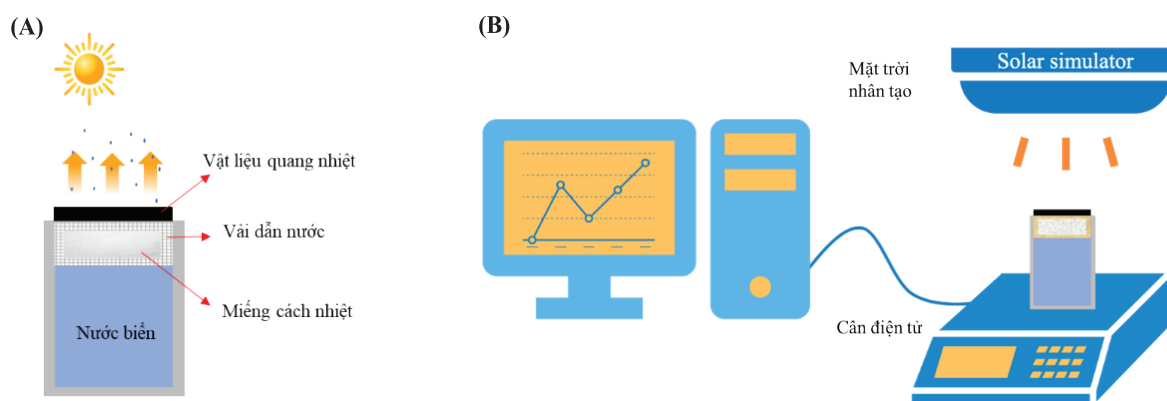
2.4. Thí nghiệm bay hơi nước

Hệ bay hơi nước được thiết kế như ở hình 2A, gồm 1 cốc có đường kính 4 cm được cho đầy nước; tấm polystyrene đặt ở giữa vật liệu quang nhiệt và bề mặt nước có tác dụng giảm thất thoát nhiệt được chuyển hóa từ năng lượng mặt trời từ vật liệu quang nhiệt; tấm vải được phủ kín tấm polystyrene nhằm dẫn nước lên mặt dưới của vật liệu quang nhiệt (hình 2A), từ đó nước được đưa lên bề mặt vật liệu quang nhiệt

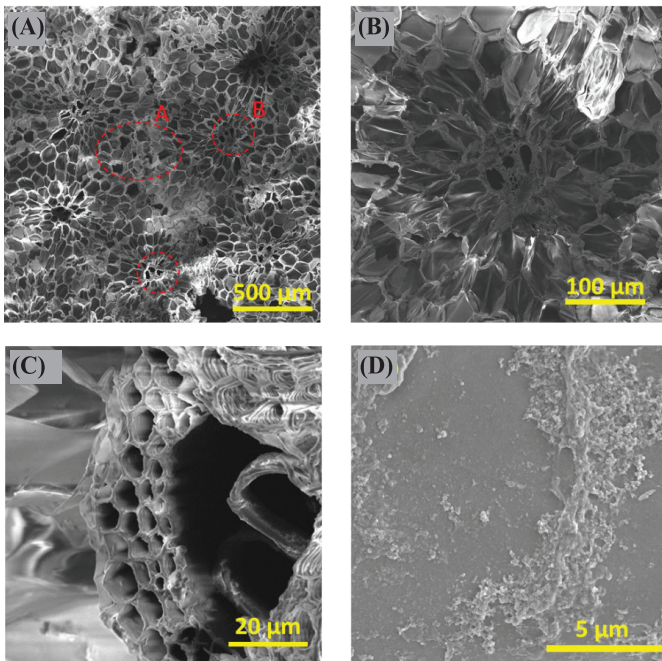
qua hệ mao dẫn có trong vật liệu; vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô với đường kính từ 2,2 cm và độ dày 10 mm được đặt ở trên tấm vải dẫn nước và kín bề mặt cốc. Hệ bay hơi nước được đặt dưới mặt trời nhân tạo ((94021A, Newport Corporation, Hoa Kỳ) như ở hình 2B. Cường độ ánh sáng của mặt trời nhân tạo là 1 kW/m^2 , thời gian chiếu sáng là 60 phút, lượng nước bay hơi được ghi lại bằng cân điện tử như ở hình 2B (Mettler Toledo MS12002TS, Thụy Sĩ). Từ đó có thể xác định được hiệu suất bay hơi và chuyển hóa năng lượng mặt trời của vật liệu quang nhiệt ứng dụng vào hệ bay hơi nước. Để so sánh thí nghiệm bay hơi nước cũng được thực hiện với cốc nước không có vật liệu và cốc nước với vật liệu ngô.

3. Kết quả và bàn luận

Cấu trúc bề mặt của vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô được phân tích bằng kính hiển vi điện tử quét, kết quả thể hiện ở hình 3. Từ hình 3A có thể thấy, cấu trúc của thân cây ngô bao gồm 2 phần chính là cấu trúc xếp đa lớp và cấu trúc hệ mao dẫn (hình 3B). Với cấu trúc xếp, chúng ta có thể thấy giống như cấu trúc tổ ong với kích cỡ mỗi ô khoảng 70-120 μm . Cấu trúc xếp này giúp cho vật liệu có mật độ khối lượng thấp, độ dẫn nhiệt thấp do hình thành các bóng khí từ các ô trong cấu trúc tổ ong này [11]. Cấu trúc xếp này bao



Hình 2. Hệ bay hơi nước (A); hệ thí nghiệm bay hơi nước sử dụng mặt trời nhân tạo (B).



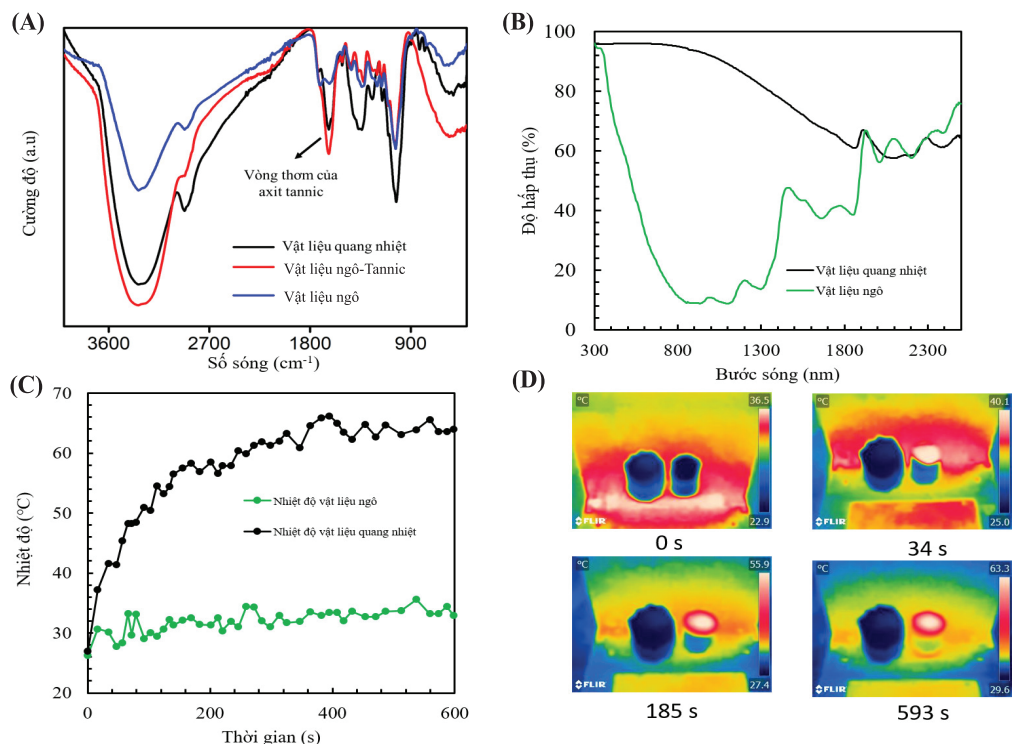
Hình 3. Cấu trúc bề mặt của vật liệu quang nhiệt ngô và hệ mao dẫn (A); phóng đại cấu trúc xốp và mao dẫn (B); hệ mao dẫn (C); lớp phức giữa ion Fe^{3+} và axit tannic có kích cỡ nano (D).

quanh các hệ mao dẫn như ở hình 3B và 3C. Hệ mao dẫn này có kích cỡ khoảng 100 μm , bao gồm các ống mao dẫn nhỏ có kích cỡ 5-10 μm như ở hình 3C. Các hệ mao dẫn này đóng vai trò dẫn truyền nước trong cấu trúc, đưa nước từ khối nước lên bề mặt để bay hơi. Từ hình 3D chúng ta có thể thấy, các hạt phức chất giữa axit tannic và ion Fe^{3+} có kích cỡ từ 500 nm đến 1 μm trên bề mặt cấu trúc xốp cũng như mao dẫn [10]. Lớp phức này được hình thành theo các bước như sau: Khi xử lý vật liệu thân cây ngô bằng axit tannic, các phân tử axit tannic bám vào bề mặt ngô nhờ nhóm OH của axit tannic liên kết với các nhóm OH của cellulose như ở hình 1E [10, 12]. Có thể thấy sau khi xử lý bằng axit tannic, bề mặt ngô chuyển từ màu trắng sang màu vàng do các phân tử axit tannic. Sau đó, khi xử lý mẫu ngô - tannic với dung dịch Fe^{3+} , phức giữa ion Fe^{3+} và nhóm OH của axit tannic hình thành trên bề mặt ngô như ở hình 1F. Các phức chất này phân

bố ngẫu nhiên trên bề mặt và tạo thành lớp hấp thụ ánh sáng, do đó bề mặt ngô chuyển sang màu đen như ở hình 1F. Bên cạnh đó, lớp hấp thụ này phân bố trên cấu trúc xốp với kích cỡ μm của vật liệu thân ngô, do đó hiện tượng phản xạ nhiễu loạn trong cấu trúc dễ dàng xảy ra. Từ đó nâng cao độ hấp thụ của vật liệu quang nhiệt.

Kết quả phân tích thành phần nhóm chức có ở bề mặt vật liệu thân cây ngô và vật liệu quang nhiệt được thể hiện ở hình 4A. Phổ FTIR của vật liệu thân cây ngô có các đỉnh ở vùng số sóng như 3320, 1600, 1000-1200 cm^{-1} . Đây là các số sóng của các dao động đặc trưng cho nhóm chức như OH (3320 cm^{-1}), C=O và vòng thơm (1600 cm^{-1}), C-C và C=O (1000-1200 cm^{-1}) [10, 12]. Các nhóm chức này là thành phần của cellulose, hemi cellulose hay một số hợp chất hữu cơ có vòng thơm có trong thân cây ngô. Sau khi xử lý bằng dung dịch axit tannic, chúng ta có thể thấy đỉnh ở vùng số sóng 1600 cm^{-1} trở nên rõ ràng hơn (hình 4A). Do các phân tử axit tannic với vòng thơm trong cấu trúc phân tử, bám vào bề mặt của vật liệu thân cây ngô tự nhiên. Tuy nhiên, từ phổ FTIR không xác định được sự tồn tại của phức ion Fe^{3+} và nhóm OH của axit tannic ở bề mặt vật liệu quang nhiệt, kết quả này cũng được chỉ ra trong các nghiên cứu về phức của ion Fe^{3+} và polyphenol đã được công bố [13].

Kết quả phân tích EDS mẫu vật liệu thân cây ngô, vật liệu thân cây ngô - tannic, vật liệu quang nhiệt được tổng hợp ở bảng 1. Có thể thấy, đối với vật liệu thân cây ngô, thành phần các nguyên tố chính ở bề mặt là C (48,66%) và



Hình 4. Phổ FTIR của vật liệu (A); phổ hấp thụ của vật liệu quang nhiệt và vật liệu thân cây ngô (B); thay đổi nhiệt độ bề mặt theo thời gian (C); ảnh nhiệt của vật liệu đặt trong mặt trời nhân tạo (D).

O (51,34%), đây là các nguyên tố cấu thành cellulose hay hemi cellulose có trong vật liệu. Đối với vật liệu thân cây ngô - tannic, thành phần phần trăm khối lượng nguyên tố của C (51,17%) và O (48,83%) thay đổi so với vật liệu thân cây ngô là do có các phần tử axit tannic bám vào bề mặt. Từ bảng 1, chúng ta có thể xác định được thành phần nguyên tố Fe (0,11%) có trên bề mặt của vật liệu quang nhiệt. Kết quả này cùng với kết quả SEM của bề mặt vật liệu quang nhiệt (hình 2D) đã chỉ ra sự hình thành của phức giữa Fe^{3+} và nhóm OH của axit tannic ở bề mặt ngô, từ đó giúp cho bề mặt vật liệu chuyển sang màu đen [13].

Bảng 1. Thành phần nguyên tố của vật liệu.

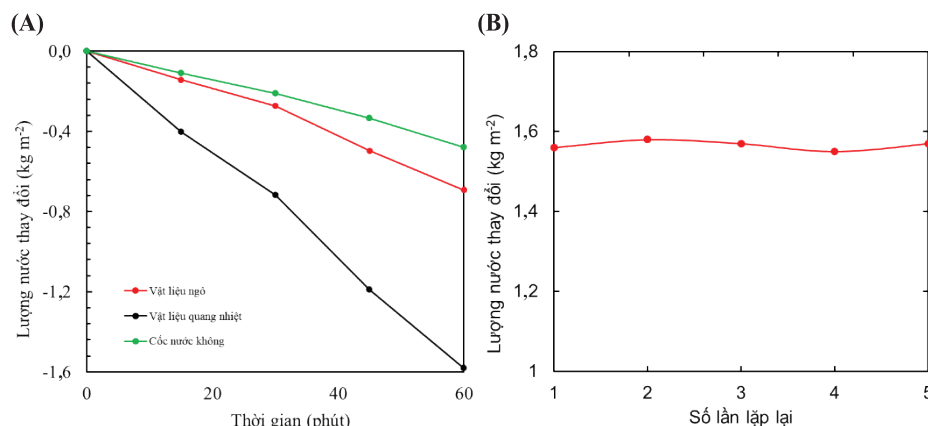
Vật liệu	Thành phần nguyên tố (%)		
	C	O	Fe
Vật liệu thân cây ngô	48,66	51,34	/
Vật liệu thân cây ngô - tannic	51,17	48,83	/
Vật liệu quang nhiệt	54,32	45,57	0,11

Độ hấp thụ của vật liệu được xác định từ kết quả đo độ truyền qua và phản xạ, tán xạ của vật liệu bằng sử dụng phương pháp phân tích quang phổ UV-VIS-NIR. Phổ hấp thụ của vật liệu thân cây ngô và vật liệu quang nhiệt với dải ánh sáng có bước sóng 300-2500 nm được thể hiện ở hình 4B. Có thể thấy, vật liệu thân cây ngô hầu như không hấp thụ ánh sáng ở dải bước sóng 300-1300 nm, độ hấp thụ nhỏ hơn 20%. Khi được phủ lớp phức chất giữa Fe^{3+} và axit tannic, độ hấp thụ của vật liệu quang nhiệt đạt trên 90% với ánh sáng ở dải bước sóng 300-1500 nm. Do năng lượng của ánh sáng mặt trời chủ yếu ở dải bước sóng 300-1500 nm, do đó có thể thấy vật liệu quang nhiệt chế tạo từ vật liệu thân cây ngô có khả năng hấp thụ ánh sáng mặt trời tốt cũng như được dự đoán có khả năng chuyển hóa thành nhiệt năng với hiệu suất cao. Khả năng chuyển hóa quang năng của vật liệu được kiểm chứng bằng cách đặt vật liệu dưới mặt trời nhân tạo trong thời gian 10 phút với cường độ ánh sáng 1 kW/m². Thay đổi nhiệt độ của bề mặt vật liệu được quan sát bằng camera hồng ngoại và được tổng hợp ở hình 4C. Trước khi chiếu sáng nhiệt độ bề mặt của vật liệu thân cây ngô và quang nhiệt khoảng 26,3°C.

Tuy nhiên sau khi chiếu sáng bằng mặt trời nhân tạo, nhiệt độ bề mặt của vật liệu quang nhiệt tăng nhanh. Sau 200 s nhiệt độ bề mặt đạt 60°C, sau đó nhiệt độ bề mặt tăng chậm lại và đạt nhiệt độ 63,2°C sau 600 giây. Khả năng gia tăng nhiệt độ nhanh ở bề mặt vật liệu quang nhiệt là do độ hấp thụ cao của vật liệu quang nhiệt với dải bước sóng 300-1500 nm (hình 4B). Ngược lại, do vật liệu thân cây ngô hầu như

không hấp thụ ánh sáng nên nhiệt độ bề mặt của vật liệu này không có nhiều thay đổi khi đặt trong điều kiện ánh sáng mặt trời nhân tạo. Nhiệt độ bề mặt của vật liệu thân cây ngô là 32,9°C sau 600 s chiếu sáng. Hình 4D là ảnh chụp nhiệt độ bề mặt theo thời gian của 2 loại vật liệu nêu trên. Kết quả này chỉ ra vật liệu quang nhiệt từ vật liệu thân cây ngô có khả năng chuyển hóa nhiệt lượng tốt và có thể sử dụng vào vật liệu quang nhiệt trong hệ bay hơi nước.

Kết quả đo khả năng bay hơi nước của các vật liệu nêu trên, hệ bay hơi như hình 2 đã được đặt trong mặt trời nhân tạo được tổng hợp ở hình 5A. Có thể thấy, với cốc nước không có vật liệu, sau 60 phút chiếu sáng với cường độ ánh sáng 1 kW/m² lượng nước giảm đi (bay hơi) là 0,48 kg m⁻² h⁻¹ ($\pm 0,1$). Trong trường hợp cốc nước được đặt vật liệu thân cây ngô, có thể thấy lượng nước giảm đi tăng lên so với cốc nước không và khối lượng bay hơi là 0,69 kg m⁻² h⁻¹ ($\pm 0,1$). Do năng lượng từ ánh sáng mặt trời chỉ làm bay hơi lượng nước nhỏ ở bề mặt ngô, nước này được đưa lên bề mặt qua hệ mao dẫn tự nhiên có trong thân ngô. Do đó, hiệu suất bay hơi cao hơn khi làm nóng toàn bộ bề mặt nước như trong trường hợp cốc không. Đối với hệ bay hơi nước sử dụng vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô, lượng nước bay hơi được tăng lên và đạt được 1,58 kg m⁻² h⁻¹ ($\pm 0,1$). Chúng ta có thể thấy, lượng nước bay hơi này gấp 3,3 lần so với lượng nước của cốc không và 2,28 lần so với vật liệu thân cây ngô. Lượng nước bay hơi được nâng cao nhờ khả năng hấp thụ ánh sáng ở dải bước sóng rộng của vật liệu quang nhiệt, nhờ đó ánh sáng được chuyển hóa thành nhiệt. Nhiệt lượng này được giữ ở bề mặt vật liệu và làm bay hơi nước được đưa lên bề mặt qua hệ mao dẫn. Khả năng giữ nhiệt ở bề mặt vật liệu quang nhiệt từ vật liệu thân cây ngô tốt là do vật liệu thân cây ngô với cấu trúc xốp sẽ làm giảm độ dẫn nhiệt của vật liệu. Giúp cho nhiệt lượng chuyển hóa từ ánh sáng không bị mất đi nhiều do truyền nhiệt xuống môi trường nước. Đây là yếu tố rất quan trọng để nâng cao lượng bay hơi nước. Tính lặp lại được kiểm chứng bằng cách thực hiện thí nghiệm trong các ngày khác nhau với độ ẩm và nhiệt độ môi trường khác nhau (hình 5B). Có thể thấy, hiệu suất bay hơi nước của vật liệu duy trì trong khoảng 1,56-1,58 kg m⁻²



Hình 5. Hiệu suất bay hơi nước với các điều kiện khác nhau (A) và tính lặp lại của thí nghiệm (B).

$h^{-1} (\pm 0,1)$, sự thay đổi của hiệu suất bay hơi do độ ẩm trong các ngày là khác nhau. Kết quả này cho thấy, vật liệu quang nhiệt từ vật liệu thân cây ngô có thể duy trì hiệu suất bay hơi cao trong nhiều điều kiện khác nhau.

Hiệu suất chuyển hóa năng lượng mặt trời được tính bằng công thức sau [8-12]:

$$\eta_{eq} = \frac{\Delta m h_{LV}}{I} \quad (1)$$

trong đó, Δm là khối lượng bay hơi nước (g), được tính bằng hiệu khối lượng bay hơi dưới mặt trời nhân tạo và bay hơi trong điều kiện tối; h_{LV} là enthalpy cần để nước chuyển từ trạng thái lỏng sang trạng thái hơi (2400 J g^{-1}); I là năng lượng của ánh sáng mặt trời nhân tạo (J).

Lượng nước bay hơi trong điều kiện tối của hệ bay hơi với vật liệu quang nhiệt là $0,11 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1} (\pm 0,1)$. Do đó khi sử dụng công thức (1), hiệu suất chuyển hóa năng lượng của vật liệu quang nhiệt được tính là 98%. Kết quả này cho thấy, vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô có hiệu suất bay hơi là $1,58 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ và hiệu suất chuyển hóa năng lượng là 98%. Hiệu suất này tương đương hoặc cao hơn hiệu suất của các vật liệu quang nhiệt đã được công bố. Ngoài ra, quy trình bay hơi nước này được thực hiện trong 24 lần, vật liệu quang nhiệt duy trì hiệu suất bay hơi ổn định trong khoảng $1,56-1,58 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1} (\pm 0,1)$. Độ bền của vật liệu trong các điều kiện khác nhau cũng như khả năng lọc nước mặn thành nước sinh hoạt của hệ sẽ được kiểm chứng và báo cáo trong thời gian tới. Tuy nhiên, kết quả này cho thấy tiềm năng ứng dụng trong thực tế của vật liệu quang nhiệt từ ngô nhờ các lợi điểm như quy trình chế tạo đơn giản, giá thành rẻ và có thể chế tạo quy mô lớn.

4. Kết luận

Nghiên cứu đã chế tạo thành công vật liệu quang nhiệt bằng phương pháp xử lý bề mặt vật liệu thân cây ngô lần lượt bằng dung dịch axit tannic và dung dịch Fe^{3+} . Nhờ đó, vật liệu có lớp hấp thụ ánh sáng dải rộng nhờ hạt phức giữa ion Fe^{3+} và nhóm OH của axit tannic với kích cỡ nm hình thành trên bề mặt vật liệu thân cây ngô. Bề mặt vật liệu thân cây ngô với cấu trúc xốp có kích cỡ μm khi kết hợp với lớp hấp thụ ánh sáng tăng khả năng hấp thụ ánh sáng mặt trời của vật liệu quang nhiệt. Bên cạnh đó, với hệ mao dẫn và cấu trúc xốp, vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô có khả năng dẫn nước ổn định và hệ số truyền nhiệt thấp. Các đặc tính này giúp cho hệ bay hơi nước sử dụng vật liệu có hiệu suất bay hơi lên đến $1,58 \text{ kg m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ và hiệu suất chuyển hóa năng lượng lên đến 98%. Với quy trình chế tạo ổn định, đơn giản, sử dụng các vật liệu có giá thành rẻ và dễ dàng chuẩn bị khối lượng lớn, vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô cho thấy tiềm năng ứng dụng vào hệ lọc nước mặn thành nước sạch trong điều kiện thực tế.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Trường Đại học Việt Nhật (Đại học Quốc gia Hà Nội) thông qua đề tài mã số VJU.JICA.21.03. Các tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] J.S. Albert, G. Destouni, S.M.D. Sylvester, et al. (2021), "Scientists' warning to humanity on the freshwater biodiversity crisis", *Ambio.*, **50(1)**, pp.85-94, DOI: 10.1007/s13280-020-01318-8.
- [2] T. Arunkumar, H.W. Lim, D. Denkenberger, et al. (2022), "A review on carbonized natural green flora for solar desalination", *Renew. Sustain. Energy Rev.*, **158**, DOI: 10.1016/j.rser.2022.112121.
- [3] M. Wang, P. Wang, J. Zhang, et al. (2019), "A ternary Pt/Au/TiO₂-decorated plasmonic wood carbon for high-efficiency interfacial solar steam generation and photodegradation of tetracycline", *Che. Sus. Chem.*, **12(2)**, pp.467-472, DOI: 10.1002/cssc.201802485.
- [4] F. He, M. Han, J. Zhang, et al. (2020), "A simple, mild and versatile method for preparation of photothermal woods toward highly efficient solar steam generation", *Nano Energy*, **71**, DOI: 10.1016/j.nanoen.2020.104650.
- [5] S. Cao, Q. Jiang, X. Wu, et al. (2019), "Advances in solar evaporator materials for freshwater generation", *J. Mater. Chem. A*, **7**, pp.24092-24123, DOI: 10.1039/C9TA06034K.
- [6] H. Liang, Q. Liao, N. Chen, et al. (2019), "Thermal efficiency of solar steam generation approaching 100% through capillary water transport", *Angew. Chem.*, **58(52)**, pp.19041-19046, DOI: 10.1002/anie.201911457.
- [7] I. Ibrahim, D.H. Seo, A.M. McDonagh, et al. (2021a), "Semiconductor photothermal materials enabling efficient solar steam generation toward desalination and wastewater treatment", *Desalination*, **500**, DOI: 10.1016/j.desal.2020.114853.
- [8] I. Ibrahim, V. Bhoopal, D.H. Seo, et al. (2021b), "Biomass-based photothermal materials for interfacial solar steam generation: A review", *Materialstoday Energy*, **21**, DOI: 10.1016/j.mtener.2021.100716.
- [9] X. Su, D. Hao, M. Sun, et al. (2021), "Nature sunflower stalk pith with zwitterionic hydrogel coating for highly efficient and sustainable solar evaporation", *Adv. Funct. Mater.*, **32(6)**, DOI: 10.1002/adfm.202108135.
- [10] T.T. Pham, T.H. Nguyen, T.A.H. Nguyen, et al. (2021), "Durable, scalable and affordable iron (III) based coconut husk photothermal material for highly efficient solar steam generation", *Desalination*, **518**, DOI: 10.1016/j.desal.2021.115280.
- [11] J. Liu, Q. Liu, D. Ma, et al. (2019), "Simultaneously achieving thermal insulation and rapid water transport in sugarcane stems for efficient solar steam generation", *J. Mater. Chem. A*, **15**, pp.9034-9039, DOI: 10.1039/C9TA00843H.
- [12] H. Gao, M. Yang, B. Dang, et al. (2020), "Natural phenolic compound-iron complexes: Sustainable solar absorbers for wood-based solar steam generation devices", *Royal Society of Chemistry*, **10**, pp.1152-1158, DOI: 10.1039/C9RA08235B.
- [13] R. Zhang, L. Li, J. Liu (2015), "Synthesis and characterization of ferric tannate as a novel porous adsorptive-catalyst for nitrogen removal from wastewater", *RSC Adv.*, **5**, pp.40785-40791, DOI: 10.1039/C5RA02035B.

Tổng hợp và đánh giá tác động ức chế lipase tụy của các dẫn chất aurone thế trên vòng benzylidene

Võ Thị Cẩm Vân^{1*}, Nguyễn Thanh Trang^{1,2}, Lê Thị Mỹ Chi¹, Đặng Ngọc Thiện¹

¹Bộ môn Hoá dược, Khoa Dược, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 41 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Dược, Trường Đại học Kỹ thuật Y - Dược Đà Nẵng, 99 Hùng Vương, phường Hải Châu 1, quận Hải Châu, TP Đà Nẵng, Việt Nam

Ngày nhận bài 28/6/2023; ngày chuyển phản biện 30/6/2023; ngày nhận phản biện 21/7/2023; ngày chấp nhận đăng 26/7/2023

Tóm tắt:

Ức chế enzyme lipase tụy là một trong những hướng nghiên cứu trong điều trị béo phì bằng thuốc. Đến nay, orlistat vẫn là thuốc duy nhất được Cục Quản lý Thực phẩm và Dược phẩm Mỹ (FDA) chấp thuận trong điều trị béo phì theo cơ chế này. Vì vậy, việc tìm kiếm các dẫn chất mới có khung cấu trúc tự nhiên cho tác dụng tương tự nhưng ít tác dụng phụ hơn đang nhận được sự quan tâm trong những năm gần đây. Nghiên cứu này trình bày kết quả tổng hợp và khảo sát tác động ức chế lipase tụy của 10 dẫn chất aurone mang nhóm thế khác nhau trên vòng benzylidene. Các dẫn chất aurone được tổng hợp bằng phản ứng ngưng tụ aldol của benzofuranone và dẫn chất benzaldehyde tương ứng với hiệu suất từ trung bình đến tốt (45-73%). Hoạt tính ức chế lipase tụy của các dẫn chất tổng hợp sau đó được xác định bằng phương pháp quang phổ tử ngoại khả kiến với chất đối chiếu là quercetin và orlistat. Kết quả cho thấy, 3 aurone có phần trăm ức chế tốt hơn quercetin ở cùng nồng độ (50 µg/ml). Dẫn chất 5c (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) cho hoạt tính tốt nhất (I%=60,95), tốt hơn quercetin (I%=27,20%) ở nồng độ 50 µg/ml.

Từ khóa: aurone, benzaldehyde, béo phì, lipase tụy, ngưng tụ aldol.

Chỉ số phân loại: 1.4, 3.4

Synthesis and pancreatic lipase inhibition activity evaluation of aurone derivatives with substituents on benzylidene ring

Thi Cam Van Vo^{1*}, Thanh Trang Nguyen^{1,2}, Thi My Chi Le¹, Ngoc Thien Dang¹

¹Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City,

41 Dinh Tien Hoang Street, Ben Nghe Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Pharmacy, Da Nang University of Medical Technology and Pharmacy, 99 Hung Vuong Street, Hai Chau 1 Ward, Hai Chau District, Da Nang City, Vietnam

Received 28 June 2023; revised 21 July 2023; accepted 26 July 2023

Abstract:

Pancreatic lipase is an essential enzyme for the digestion and absorption of dietary fat. Inhibiting this enzyme is one of the strategies in tackling obesity. To date, orlistat is the only Food and Drug Administration (FDA)-approved drug for obesity treatment via this mechanism. Therefore, there has been a growing interest in exploring novel compounds with natural structural frameworks that can give similar activity with fewer side effects. In this study, we describe the synthesis and pancreatic lipase inhibitory activity evaluation of 10 aurone derivatives with different substituents on the benzylidene ring. Aurone derivatives were synthesised through aldol condensation of benzofuranone and corresponding benzaldehyde derivatives with medium to good yields (45-73%). Pancreatic lipase inhibitory activities of synthesized compounds were determined by UV-Vis spectroscopy with quercetin and orlistat as references. Three aurones were found to have higher I% than quercetin at the same concentration (50 µg/ml). Compound 5c (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) exhibited the greatest activity (I%=60.95%), better than quercetin (I%=27.20%) at the concentration of 50 µg/ml.

Keywords: aldol condensation, aurone, benzaldehyde, obesity, pancreatic lipase.

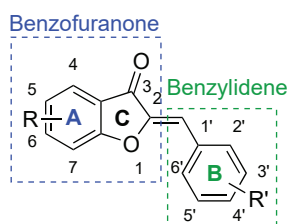
Classification numbers: 1.4, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: vocamvan@ump.edu.vn

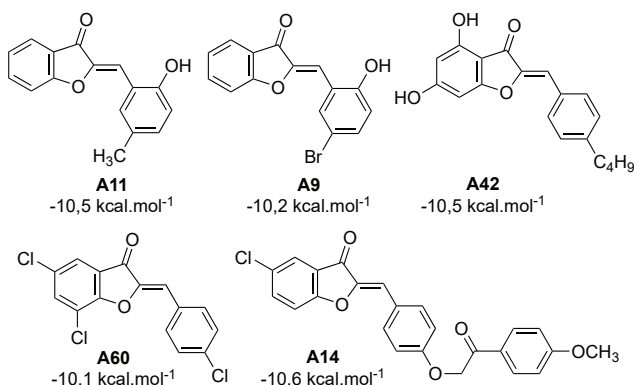
1. Đặt vấn đề

Tỷ lệ người thừa cân và béo phì tiếp tục tăng cao trên toàn thế giới trong nhiều thập kỷ qua, mang đến mối nguy hại cho sức khỏe cộng đồng [1]. Ngoài yếu tố hình thể, béo phì gia tăng nguy cơ các bệnh lý như cao huyết áp, đái tháo đường tuýp 2, ung thư và đột quỵ [2]. Thuốc hoá dược điều trị béo phì cho đến nay là mảng nghiên cứu liên tục với các kết quả trái chiều [3]. Một trong những hướng nghiên cứu tiềm năng là ức chế enzyme lipase tụy - enzyme chịu trách nhiệm trong quá trình hấp thu chất béo [4]. Cho đến nay, orlistat là thuốc điều trị béo phì duy nhất với cơ chế này được FDA chấp nhận [5]. Các nghiên cứu sàng lọc và phát hiện các hợp chất ức chế lipase tụy có nguồn gốc thiên nhiên và tổng hợp đã được tiến hành bởi nhiều nhóm nghiên cứu trên thế giới.

Aurone là nhóm dẫn chất thuộc họ flavonoid, đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành sắc tố của hoa, quả [6] (hình 1). Trong những năm gần đây, aurone thu hút sự chú ý của y học khi một số dẫn chất được báo cáo với nhiều hoạt tính sinh học tiềm năng như kháng virus, kháng khuẩn, kháng nấm, chống oxy hoá, ức chế một số enzyme quan trọng trong chuyển hoá... [7]. Một nghiên cứu công bố năm 2020 tại Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh đã đánh giá khả năng gắn kết *in silico* của 82 dẫn chất aurone vào khoang xúc tác của enzyme lipase tụy người đã cho thấy các kết quả khả quan [8] (hình 2).



Hình 1. Cấu trúc khung dẫn chất aurone.



Hình 2. Cấu trúc một số aurone cho kết quả gắn kết phân tử tốt.

Đến nay, chưa có nghiên cứu thực nghiệm nào về tác động ức chế lipase tụy của nhóm dẫn chất này được báo cáo. Aurone tồn tại trong tự nhiên với số lượng và độ phổ biến không cao; do đó, tổng hợp hoá học sẽ tạo điều kiện

thuận lợi cho việc tiến hành sàng lọc và đánh giá khả năng ức chế lipase tụy của nhóm dẫn chất này. Dẫn chất aurone có thể được điều chế bằng phản ứng đóng vòng dẫn chất chalcone tương ứng với tác nhân $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ hay CuBr_2 [9, 10]. Phản ứng với tác nhân $\text{Hg}(\text{OAc})_2$ ở nhiệt độ cao trong thời gian dài có thể dẫn đến việc tạo thủy ngân kim loại có độc tính cao. Phản ứng đóng vòng với CuBr_2 thực nghiệm cho hiệu suất không cao và nhiều tạp, không thích hợp với các dẫn chất aurone mang nhóm thế linh động như $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$. Ngoài phản ứng đóng vòng, aurone có thể được tổng hợp bằng phản ứng ngưng tụ aldol giữa chất trung gian benzofuranone với dẫn chất benzaldehyde. Đây cũng là phương pháp tổng hợp được lựa chọn để tổng hợp các dẫn chất aurone với các nhóm thế khác nhau trên vòng B trong nghiên cứu này. Dẫn chất aurone tổng hợp sau đó được khảo sát tác động ức chế lipase tụy bằng phương pháp quang phổ UV-Vis, so sánh với chất đối chiếu là quercetin - một flavonoid tự nhiên được báo cáo có hoạt tính ức chế lipase tụy [11] và orlistat - chất ức chế lipase tụy được FDA chấp thuận.

2. Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Vật liệu

Hoá chất, dung môi hữu cơ dùng trong tổng hợp được mua từ ChemSol (Việt Nam), Merck (Đức), AK Scientific (Trung Quốc), Xilong (Trung Quốc) theo tiêu chuẩn tổng hợp và sử dụng trực tiếp. Phản ứng hoá học được tiến hành với dụng cụ thủy tinh (bình cầu, sinh hàn), bếp khuấy từ gia nhiệt. Phản ứng được theo dõi bằng sắc ký lớp mỏng silica gel GF254; phát hiện vết dưới đèn UV 254 và 365 nm. Điểm chảy đo trên máy Stuart SMP10. Phổ IR đo trên máy Tensor 27 Bruker (Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh). Phổ khối MS được đo trên máy Shimadzu LCMS (Viện Kiểm nghiệm Thuốc TP Hồ Chí Minh). Phổ ^1H NMR được đo trên máy Bruker BioSpin GmbH (Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh).

Hoá chất, dung môi dùng trong thử nghiệm sinh học gồm lipase tụy lợn - Porcine pancreatic lipase type II (L-3126), *p*-nitrophenyl palmitate (*p*-NPP), natri deoxycholat (SDC), muối vô cơ được mua từ Sigma-Aldrich (Mỹ), Acros (Bỉ) và Prolabo (Pháp). Orlistat 99,4% từ Công ty Kolli Indra (Ấn Độ). Nước cất hai lần được sử dụng trong toàn bộ thử nghiệm sinh học. Độ hấp thụ UV trong thử nghiệm hoạt tính ức chế lipase tụy được đo bằng máy đọc đĩa 96 giếng Imark Microplate Absorbance Reader (Biorad, Mỹ).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tổng hợp dẫn chất aurone với vòng benzylidene thế

Dẫn chất aurone được tổng hợp từ nguyên liệu đầu 2-hydroxyacetophenone và dẫn chất benzaldehyde thông qua 3 bước [12]. Chất tổng hợp được xác định cấu trúc bằng các phương pháp phổ (^1H -NMR, MS và IR).

2.2.2. Đánh giá tác động ức chế lipase tụy của các dẫn chất aurone tổng hợp

Tác động ức chế lipase tụy *in vitro* của 5a-5j được xác định dựa trên khả năng thủy phân *p*-NPP tạo thành *p*-nitrophenol bằng phương pháp quang phổ UV-Vis ở bước sóng 415 nm. Hệ khảo sát gồm *p*-NPP 200 μ m, lipase 1 mg/ml, đệm phosphate 50 mm pH 8, natri deoxycholate 5 mm, calci chloride 1 mm, natri chloride 5 mm, mẫu thử ở nồng độ 50 μ g/ml trong dung môi hữu cơ DMSO [13]. Tác động ức chế lipase tụy được đánh giá bằng cách xác định và so sánh phần trăm ức chế lipase tụy (I%) của aurone với chất đối chiếu quercetin và orlistat ở cùng nồng độ 50 μ g/ml.

3. Thực nghiệm

3.1. Tổng hợp 2-bromo-2'-hydroxyacetophenone 2

2'-Hydroxyacetophenone **1** (2 g, 14,7 mmol) và CuBr₂ (6,6 g, 29,5 mmol) được phân tán trong 80 ml hỗn hợp dung môi EtOAc:CHCl₃ tỷ lệ 1:1 (tt/tt) và đun hồi lưu trong 24 giờ ở 80°C. Hỗn hợp sau phản ứng được lọc loại bỏ tủa. Dịch lọc được lắc phân bố lần lượt với EDTA 5% và natri thiosulfate 10%. Dịch chiết được cô quay dưới áp suất giảm thu sản phẩm thô. Sản phẩm thô được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại (2,58 g, hiệu suất 81,6%). Sản phẩm 2-bromo-2'-hydroxyacetophenone **2** là bột kết tinh trắng; tan trong methanol, ethanol và ít tan trong nước; R_f=0,6 (*n*-hexane:EtOAc là 6:1); IR ν (cm⁻¹): 3115,04 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1643,35 ($\nu_{\text{C=O}}$); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 11,65 (s, 1H, -OH), 7,67 (dd, 1H, *J*₁ = 0,8 Hz, *J*₂ = 8,2 Hz, H6'), 7,45 (m, 1H, H5'), 6,94 (m, 1H, H3'), 6,86 (m, 1H, H4'), 4,37 (s, 2H, H2). Phổ ¹H NMR phù hợp với công bố trước đây [14].

3.2. Tổng hợp benzofuranone 3

Natri acetate (0,6 g, 7,32 mmol) được phân tán trong 10 ml ethanol và đun ở 60°C. Hỗn hợp gồm 2'-bromo-2-hydroxyacetophenone **2** (1,25 g, 5,81 mmol) và 5 ml ethanol được thêm từ từ vào bình phản ứng. Hỗn hợp được đun ở 60°C thêm 1 giờ. Phản ứng được dừng lại bằng cách thêm khoảng 40 ml nước cất và làm lạnh, sau đó lọc thu tủa thô. Sản phẩm benzofuranone **3** được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại trong hỗn hợp EtOH và *n*-hexane (0,47 g, hiệu suất 60,3%). Benzofuranone **3** là bột kết tinh màu vàng cam; tan trong ethanol, methanol và kém tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 101°C; R_f=0,5 (*n*-hexane:EtOAc là 6:1); IR ν (cm⁻¹): 1705,07 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1211,3 ($\nu_{\text{C-O}}$); ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7,61 (m, 1H, H6), 7,55 (m, 1H, H5), 7,08 (m, 1H, H4), 7,03 (m, 1H, H6), 4,56 (s, 2H, H2). Phổ ¹H NMR phù hợp với công bố trước đây [15].

3.3. Tổng hợp dẫn chất aurone 5a-5i

Quy trình sau đây áp dụng để tổng hợp các dẫn chất aurone **5a-5i** với các nhóm thế khác nhau trên vòng benzyldene: Dẫn chất benzaldehyde **4** (1,1 mmol, 1,1 đương lượng) được hòa tan trong 3 ml ethanol 50% và 2 ml dung dịch acid *p*-toluensulfonic (PTSA) 40% ở 50°C. Sau đó, benzofuranone **3** (1 mmol, 1 đương lượng) được thêm vào và phản ứng trong 6 giờ. Hỗn hợp sau phản ứng được làm lạnh, lọc thu tủa và sấy khô. Sản phẩm được tinh chế bằng phương pháp kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi CHCl₃:EtOH hoặc CHCl₃:*n*-hexane.

Chất **5a** (2-(4'-hydroxybenzyldene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 4-hydroxybenzaldehyde, hiệu suất 59,2%. Sản phẩm thu được tan trong chloroform và ethyl acetate, ít tan trong ethanol và không tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 254°C; R_f=0,6 (*n*-hexane:EtOAc là 2:1); IR ν (cm⁻¹): 3116,97 ($\nu_{\text{C-OH}}$), 1685,79 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1226,73 ($\nu_{\text{C-O}}$); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 10,24 (s, 1H, -OH), 7,89 (d, 2H, *J* = 8,8 Hz, H2', H6'), 7,81-7,77 (m, 2H, H5, H7), 7,56 (m, 1H, H4), 7,31 (m, 1H, H6), 6,92 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H, H3', H5'), 6,91 (s, 1H, =CH); MS (ESI): C₁₅H₁₀O₂ [M+H]⁺ dự kiến là 239,07 m/z, thực tế đo: 239,36 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [16].

Chất **5b** (2-(2'-hydroxybenzyldene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 2-hydroxybenzaldehyde, hiệu suất 72,9%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng nâu, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 225°C, R_f=0,7 (*n*-hexane:EtOAc là 2:1); IR ν (cm⁻¹): 3161,33 ($\nu_{\text{C-OH}}$), 1683,86 ($\nu_{\text{C=O}}$); 1265,30 ($\nu_{\text{C-O}}$); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 10,45 (1H, s, -OH), 8,16 (1H, dd, *J*₁ = 2 Hz, *J*₂ = 1,6 Hz, H4), 7,83-7,79 (2H, m, H6, H7), 7,59-7,56 (1H, m, H5), 7,35-7,28 (2H, m, H4', H6'), 7,25 (1H, s, =CH), 6,99-6,95 (2H, m, H3', H5'). MS (ESI): C₁₅H₁₀O₂ [M+H]⁺ dự kiến là 239,07 m/z, thực tế đo: 239,51 m/z.

Chất **5c** (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzyldene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 5-bromo-2-hydroxybenzaldehyde, hiệu suất 44,8%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 248°C, R_f=0,5 (*n*-hexane:EtOAc là 2:1); IR: ν (cm⁻¹): 3082,25 ($\nu_{\text{O-H}}$), 1691,57 ($\nu_{\text{C=O}}$); ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ (ppm): 10,81 (1H, s, -OH), 8,21 (1H, d, *J* = 2,8 Hz, H6'), 7,84-7,79 (2H, m, H4, H6), 7,64-7,62 (1H, dd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 0,8 Hz, H7), 7,45 (1H, dd, *J*₁ = 6,4 Hz, *J*₂ = 2,4 Hz, H4'), 7,34 (1H, m, H5), 7,12 (1H, s, =CH), 6,94 (1H, d, *J* = 8,8 Hz, H3'); MS

(ESI): $C_{15}H_8BrO_3$ $[M-H]^-$ dự kiến 314,97, thực tế đo 314,94 và $[M-H+2]^-$ dự kiến 316,96 m/z, thực tế đo 317,01 m/z.

Chất 5d (2-(4'-chlorobenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 4-chlorobenzaldehyde, hiệu suất 52,4%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng nhạt, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 166°C, $R_f=0,7$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR ν (cm^{-1}): 1707,00 ($\nu_{C=O}$); 1205,51 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,05 (2H, m, H2', H6'), 7,81 (2H, m, H4, H6), 7,58-7,49 (3H, m, H3', H5', H7), 7,35 (1H, m, H5), 6,86 (1H, s, =CH); MS (ESI): $C_{15}H_9ClO_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 257,04 m/z, thực tế đo 257,29 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [16].

Chất 5e (2-(2'-chlorobenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 2-chlorobenzaldehyde, hiệu suất 70,9%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng nhạt, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan ít trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 140°C, $R_f=0,7$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR ν (cm^{-1}): 1707,00 ($\nu_{C=O}$); 1182,36 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,43 (1H, dd, $J_1=7,7$ Hz, $J_2=1,8$ Hz, H4), 7,83 (m, 2H, H4, H5), 7,59 (dd, 1H, $J_1=7,7$ Hz, $J_2=1,7$ Hz, H6'), 7,56-7,44 (m, 3H, H3', H4', H6), 7,41-7,33 (m, 1H, H5'), 7,22 (s, 1H, =CH); MS (ESI): $C_{15}H_9ClO_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 257,04 m/z, thực tế đo 257,16 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [16].

Chất 5f (2-benzylidenebenzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và benzaldehyde, hiệu suất 45,5%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng rất nhạt, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan một phần trong ethanol và ít tan trong nước, nhiệt độ nóng chảy đo được là 110°C, $R_f=0,7$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR: ν (cm^{-1}): 1710,86 ($\nu_{C=O}$); 1656,85 ($\nu_{C=C}$); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,05-8,03 (2H, m, H2', H6'), 7,84-7,79 (1H, m, H6), 7,80 (1H, dd, $J=0,8$ Hz, H4), 7,55-7,51 (3H, m, H3', H4', H5'), 7,49-7,44 (1H, m, H7), 7,37-7,33 (1H, m, H5), 6,87 (1H, s, =CH). MS (ESI): $C_{15}H_{10}O_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 223,08, thực tế đo 223,41. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [17].

Chất 5g (2-(2'-methoxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 2-methoxybenzaldehyde, hiệu suất 66,9%. Sản phẩm tạo thành dạng tinh thể màu vàng tươi, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, kém tan trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 177°C, $R_f=0,5$ (*n*-hexane: EtOAc 6:1); IR: ν (cm^{-1}): 1697,36 ($\nu_{C=O}$); 1645,28 ($\nu_{C=C}$); 1H NMR (400 MHz, $(CD_3)_2CO$) δ (ppm): 8,31 (1H, dd, $J=7,8$, H4), 7,82-7,78 (2H, m, H6, H6'), 7,50 (1H, dd,

$J_1=8,8$ Hz, $J_2=0,7$ Hz, H7), 7,45 (1H, m, H4'), 7,36-7,32 (1H, m, H5), 7,34 (1H, s, =CH), 7,14-7,08 (2H, m, H3', H5'), 3,97 (3H, s, OCH_3). MS (ESI): $C_{16}H_{12}O_3$ $[M+H]^+$ dự kiến 253,09 m/z, thực tế đo 253,38 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [18].

Chất 5h (2-(4'-nitrobenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ **3** và 4-nitrobenzaldehyde, hiệu suất 51,6%. Sản phẩm thu được dạng bột kết tinh màu vàng cam, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, kém tan trong ethanol và không tan trong nước, có nhiệt độ nóng chảy 214°C, $R_f=0,6$ (*n*-hexane: EtOAc 5:1); IR ν (cm^{-1}): 1701,22 ($\nu_{C=O}$); 1296,16 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8,23 (2H, d, $J=8,9$ Hz, H3', H5'), 7,99 (2H, d, $J=8,8$ Hz, H2', H6'), 7,77 (1H, dd, $J_1=7,6$ Hz, $J_2=0,7$ Hz, H4), 7,69-7,61 (1H, m, H6), 7,31 (1H, d, $J=8,3$ Hz, H7), 7,22 (1H, d, $J=7,5$ Hz, H5), 6,81 (1H, s, =CH); MS (ESI): $C_{15}H_9NO_4$ $[M+H]^+$ dự kiến 268,05 m/z, thực tế đo 268,40 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [18].

Chất 5i (2-(4'-(dimethylamino)benzylidene)benzofuran-3(2H)-one) được tạo thành từ phản ứng giữa **3** và 4-(dimethylamino)benzaldehyde, hiệu suất 63,8%. Sản phẩm thu được dạng bột tinh thể màu đỏ đậm, tan nhiều trong chloroform, ethyl acetate, tan một phần trong ethanol và ít tan trong nước, nhiệt độ nóng chảy 174°C, $R_f=0,5$ (*n*-hexane: EtOAc 4:1); IR ν (cm^{-1}): 1674,21 ($\nu_{C=O}$); 1217,08 (ν_{C-O}); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 7,84-7,76 (2H, m, H2', H6'), 7,74 (1H, m, H4), 7,54 (1H, m, H5), 7,25 (1H, dd, $J_1=8,3$ Hz, $J_2=0,5$ Hz, H7), 7,12 (1H, m, H6), 6,86 (1H, s, =CH), 6,68 (2H, dd, $J_1=8,8$ Hz, $J_2=2,8$ Hz, H3', H5'), 3,01 (6H, s, $N(CH_3)_2$); MS (ESI): $C_{17}H_{15}NO_2$ $[M+H]^+$ dự kiến 266,12 m/z, thực tế đo 266,37 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [19].

3.4. Tổng hợp dẫn chất aurone 5j

2-(4'-Hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one **5a** (0,1 g, 0,42 mmol) và K_2CO_3 (0,1 g, 0,72 mmol) được hòa tan trong 5 ml acetone ở 50°C. 2-Bromo-4'-methoxyacetophenone (0,11 g, 0,48 mmol) sau đó được thêm vào bình cầu. Phản ứng được thực hiện trong 2 giờ. Hỗn hợp được làm lạnh, lọc thu tủa và kết tinh lại trong hỗn hợp dung môi $CHCl_3$:*n*-hexane thu sản phẩm tinh khiết (0,12 g, hiệu suất 74,2%). Sản phẩm **5j** là bột kết tinh màu vàng; tan trong chloroform và ethyl acetate, kém tan trong ethanol và methanol, không tan trong nước; nhiệt độ nóng chảy 181°C; $R_f=0,5$ (*n*-hexane: EtOAc 2:1); IR: ν (cm^{-1}): 1685,79, 1641,42 ($\nu_{C=O}$); 1591,27 ($\nu_{C=C}$); 1H NMR (400 MHz, $CDCl_3$) δ (ppm): 8,06-7,98 (2H, m, H2'', H6''), 7,93-7,85 (2H, m, H2', H6'), 7,80 (1H, m, H4), 7,64 (1H, m, H6), 7,32 (1H, d, $J=8,3$ Hz), 7,21 (1H, m, H5), 7,02 (2H, m, H3'', H5''), 6,98 (2H, m, H3', H5'), 6,87 (1H, s, =CH),

5,30 (2H, s, CH₂), 3,90 (3H, s, OCH₃); MS (ESI): C₂₄H₁₈O₅ [M]⁺ dự kiến 386,12 m/z, thực tế đo 385,69 m/z. Dữ liệu phổ phù hợp với công bố trước đây [20].

3.5. Xác định phần trăm ức chế (I%) của mẫu thử ở nồng độ 50 µg/ml

3.5.1. Giếng chuẩn bị

Mẫu thử: Lần lượt thêm vào dung dịch calci chloride 10 mM (20 µl), chất ức chế 0,5 mg/ml (40 µl), dung dịch enzyme lipase 10 mg/ml (20 µl) và hỗn hợp dung dịch đệm phosphate 50 mM, pH 8, natri deoxycholate 10 mM, natri chloride 10 mM (100 µl), trộn đều.

Mẫu chứng: Thực hiện tương tự mẫu thử nhưng thay chất ức chế bằng 40 µl DMSO.

3.5.2. Giếng thử nghiệm

Trên đĩa 96 giếng lần lượt thêm dung dịch từ các giếng chuẩn bị (90 µl) vào giếng thử đã có sẵn dung dịch *p*-NPP 2 mM (10 µl). Kết quả được ghi nhận bằng máy Elisa ở chế độ đo động học (5 phút mỗi 30 giây) ở bước sóng 415 nm. Mỗi mẫu thực hiện 3 lần, xây dựng đường tuyến tính biểu thị sự tương quan giữa độ hấp thụ và thời gian, xác định vận tốc phản ứng hay hệ số góc (k) của mẫu thử và tính giá trị trung bình (K). %I được tính dựa trên giá trị K của mẫu chứng DMSO (K_C) và mẫu thử (K_T):

$$I\% = \frac{K_C - K_T}{K_C} \times 100\%$$

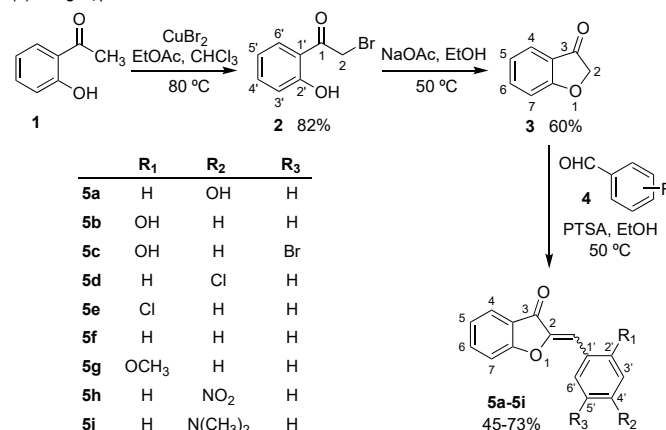
4. Kết quả và bàn luận

4.1. Tổng hợp dẫn chất aurone với nhóm thế trên vòng benzylidene

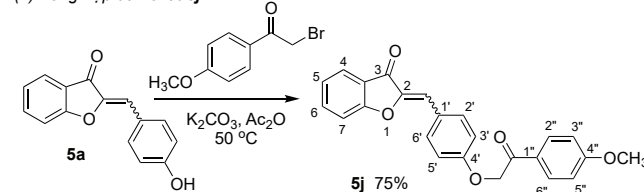
10 dẫn chất aurone mang các nhóm thế với bản chất điện tử và kích thước khác nhau được tổng hợp thông qua quy trình gồm 3 bước (hình 3). Brom hoá nguyên liệu 2-hydroxyacetophenone **1** bằng tác nhân CuBr₂ tạo hợp chất 2-bromo-2'-hydroxyacetophenone **2**. Hợp chất này sau đó đóng vòng với tác nhân natri acetate tạo chất trung gian benzofuranone **3**. Dẫn xuất aurone với các nhóm thế khác nhau là kết quả của phản ứng ngưng tụ giữa chất trung gian benzofuranone **3** và dẫn chất benzaldehyde **4** tương ứng. Quy trình tổng hợp này so với quy trình đóng vòng oxy hóa chalcone mang nhiều ưu điểm. Nhiệt độ phản ứng ít khắc nghiệt hơn so với quy trình đi từ chalcone (nhiệt độ 50-80°C so với 189°C). Các phản ứng thành phần đều xảy ra với hiệu suất từ trung bình đến cao. Chất trung gian benzofuranone **3** là một chất có độ bền cao, có thể tổng hợp với lượng lớn và bảo quản ở nhiệt độ phòng. Phản ứng ngưng tụ tạo dẫn xuất

aurone xảy ra với các dẫn xuất benzaldehyde **4** mang nhiều loại nhóm thế khác nhau có bản chất điện tử và kích thước khác nhau như halogeno (**5c**, **5d**, **5e**), amino (**5i**), nitro (**5h**), ether (**5g**, **5j**) và nhóm hydroxy tự do (**5a-5c**) với hiệu suất khá đến tốt.

(1) Tổng hợp dẫn chất 5a-5i



(2) Tổng hợp dẫn chất 5j



Hình 3. Quy trình tổng hợp các dẫn chất aurone.

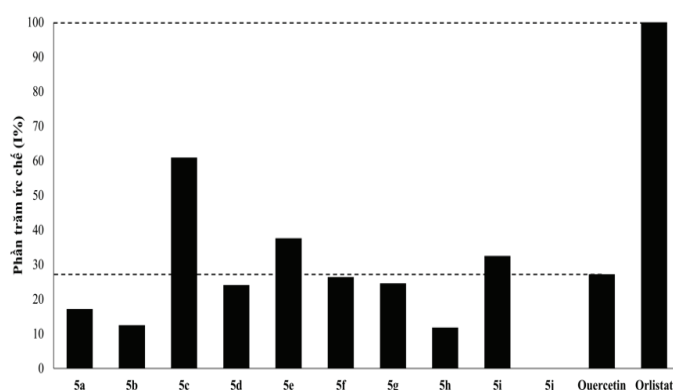
Cấu trúc 10 dẫn chất aurone được xác định bằng các phương pháp quang phổ (¹H-NMR, IR và MS). Phổ IR có đỉnh của các nhóm chức đặc trưng như C=O và C-OH, C-O. Khối phổ thực nghiệm phù hợp với dự kiến. ¹H-NMR của các dẫn chất cho các đỉnh tương ứng. Theo công bố trước đây, đồng phân (*E*) hay (*Z*) của dẫn chất aurone có thể được phân biệt qua độ dịch chuyển hóa học (δ) của hydro tại CH=olefin. Trong đó, hydro tại CH=olefin của đồng phân (*Z*) có δ~6,70 ppm và khi δ>7 ppm có thể là đồng phân (*Z*) hoặc (*E*) [12, 21]. Dẫn chất **5a**, **5d**, **5f**, **5h**, **5i** và **5j** có độ dịch chuyển của -CH=δ trong khoảng 6,81-6,87 ppm, tương ứng đồng phân (*Z*). Dữ liệu phổ ¹H-NMR của các hợp chất này cũng phù hợp với dữ liệu phổ trong các công bố trước đây với cấu hình báo cáo là đồng phân (*Z*) [16-20]. Dẫn chất **5b**, **5c**, **5e**, **5g** có độ dịch chuyển của -CH=δ>7 ppm. Theo tài liệu thì đây có thể là đồng phân (*E*) hay (*Z*). **5e** và **5g** có dữ liệu phổ khớp với công bố trước đây cũng báo cáo -CH=δ>7 ppm và cấu hình (*Z*) [16, 18]. Do đó, **5e** và **5g** là đồng phân (*Z*). Riêng **5b**, **5c** có nhóm thế ở vị trí *ortho* dữ liệu -CH=δ không trùng với báo cáo trước đây nên khả năng đây là đồng phân (*E*) [16, 22].

4.2. Xác định tác động ức chế lipase tụy

Từ I% thực nghiệm thu được (bảng 1, hình 4) nhận thấy, 3 dẫn chất **5c**, **5e**, **5i** có khả năng ức chế lipase tụy cao hơn quercetin (I%=27,20%) và tất cả đều thấp hơn so với orlistat (I%=100%) ở cùng nồng độ 50 µg/ml. Trong đó, **5c** có hoạt tính ức chế lipase tụy cao nhất trong các aurone thử nghiệm và cao hơn 50%. Điều này phù hợp với kết quả điểm số gần kết (-10,2 kcal/mol) đã được nghiên cứu trước đó [8]. Các kết quả thử sinh học hiện dừng lại ở I% mà chưa tiến hành xác định được IC₅₀ của từng dẫn chất tổng hợp. Một trong những nguyên nhân là độ tan của các dẫn chất aurone trong môi trường thân nước rất kém. Mặc dù thử nghiệm đã tăng nồng độ dung môi hữu cơ DMSO nhưng các aurone này vẫn rất khó tan, làm đục giếng đo dẫn đến giá trị độ hấp thụ ghi nhận không chính xác khi xác định I% ở các nồng độ cao hơn 50 µg/ml. Hướng cải tiến tiếp theo có thể là thêm nhiều nhóm OH trên các vòng A và B để tăng khả năng tan trong nước của aurone tạo điều kiện cho thử nghiệm hoạt tính sinh học.

Bảng 1. Phần trăm ức chế của các dẫn chất aurone tổng hợp ở nồng độ 50 µg/ml.

Chất thử	I%
5a	17,21
5b	12,51
5c	60,95
5d	24,13
5e	37,61
5f	26,42
5g	24,58
5h	11,83
5i	32,54
5j	0
Quercetin	27,20
Orlistat	100



Hình 4. Phần trăm ức chế của các dẫn chất aurone tổng hợp ở nồng độ 50 µg/ml.

5. Kết luận

Trong nghiên cứu này, 10 dẫn chất aurone với nhóm thế khác nhau trên vòng benzylidene đã được tổng hợp từ 2-hydroxyacetophenone và dẫn chất benzaldehyde với hiệu suất khá tốt. Các dẫn chất tổng hợp được kiểm tra độ tinh khiết, xác định cấu trúc bằng phương pháp phổ hoá và đánh giá tác động ức chế lipase tụy. Kết quả thử cho thấy, các dẫn chất aurone trên thực nghiệm có tiềm năng ức chế lipase tụy và có thể tốt hơn so với quercetin. Dẫn chất **5c** (2-(5'-bromo-2'-hydroxybenzylidene)benzofuran-3(2H)-one) cho hoạt tính tốt nhất (I%=60,95 ở nồng độ 50 µg/ml), tốt hơn quercetin (I%=27,20% ở nồng độ 50 µg/ml).

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin cảm ơn tài trợ của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF). Nguyễn Thanh Trang được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sỹ, tiến sỹ trong nước của VINIF, mã số VINIF.2022.ThS.093.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] E.P. Williams, M. Mesidor, K. Winters, et al. (2015), "Overweight and obesity: Prevalence, consequences, and causes of a growing public health problem", *Current Obesity Reports*, **4**(3), pp.363-370, DOI: 10.1007/s13679-015-0169-4.
- [2] K.G. Alberti, P.Z. Zimmet (1998), "Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: Diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation", *Diabetic Medicine*, **15**(7), pp.539-553, DOI: 10.1002/(SICI)1096-9136(199807)15:7<539::AID-DIA668>3.0.CO;2-S.
- [3] V.M. Jackson, D.M. Breen, J.P. Fortin, et al. (2015), "Latest approaches for the treatment of obesity", *Expert Opinion on Drug Discovery*, **10**(8), pp.825-839, DOI: 10.1517/17460441.2015.1044966.
- [4] F.K. Winkler, A. D'Arcy, W. Hunziker (1990), "Structure of human pancreatic lipase", *Nature*, **343**(6260), pp.771-774, DOI: 10.1038/343771a0.
- [5] J.P. Chaput, S.S. Pierre, A. Tremblay (2007), "Currently available drugs for the treatment of obesity: Sibutramine and orlistat", *Mini Rev. Med. Chem.*, **7**(1), pp.3-10, DOI: 10.2174/138955707779317849.
- [6] M. Ninomiya, M. Koketsu (2013), "Minor flavonoids (chalcones, flavanones, dihydrochalcones, and aurones)", *Natural Products*, pp.1867-1900, DOI: 10.1007/978-3-642-22144-6_62.
- [7] G. Sui, T. Li, B. Zhang, et al. (2021), "Recent advances on synthesis and biological activities of aurones", *Biorg. Med. Chem.*, **29**, DOI: 10.1016/j.bmc.2020.115895.

- [8] P.T.V. Nguyen, H.A. Huynh, D.V. Truong, et al. (2020), "Exploring aurone derivatives as potential human pancreatic lipase inhibitors through molecular docking and molecular dynamics simulations", *Molecules*, **25**(20), DOI: 10.3390/molecules25204657.
- [9] N.N. Agrawal, P.A. Soni (2006), "A new process for the synthesis of aurones by using mercury (II) acetate in pyridine and cupric bromide in dimethyl sulfoxide", *ChemInform*, **37**(39), DOI: 10.1002/chin.200639120.
- [10] A.A. Elhadi, H. Osman, M.A. Iqbal, et al. (2015), "Synthesis and structural elucidation of two new series of aurone derivatives as potent inhibitors against the proliferation of human cancer cells", *Medicinal Chemistry Research*, **24**, pp.3504-3515, DOI: 10.1007/s00044-015-1400-2.
- [11] A.I.M. Gonzalez, E.A. Parrilla, A.G.D. Sánchez, et al. (2017), "In vitro inhibition of pancreatic lipase by polyphenols: A kinetic, fluorescence spectroscopy and molecular docking study", *Food Technol. Biotechnol.*, **55**(4), pp.519-530, DOI: 10.17113/ftb.55.04.17.5138.
- [12] C.Y. Lee, E.H. Chew, M.L. Go (2010), "Functionalised aurones as inducers of NAD(P)H:quinone oxidoreductase 1 that activate AhR/XRE and Nrf2/ARE signaling pathways: Synthesis, evaluation and SAR", *Eur. J. Med. Chem.*, **45**(7), pp.2957-2971, DOI: 10.1016/j.ejmech.2010.03.023.
- [13] D.R. Lewis, D.J. Liu (2012), "Direct measurement of lipase inhibition by orlistat using a dissolution linked *in vitro* assay", *Clinical Pharmacology & Biopharmaceutics*, **1**, DOI: 10.4172/2167-065X.1000103.
- [14] L.C. King, G.K. Ostrum (1964), "Selective bromination with copper (II) bromide", *The Journal of Organic Chemistry*, **29**(12), pp.3459-3461, DOI: 10.1021/jo01035a003.
- [15] PubChem (2005), "Compound summary: Benzofuran-3(2H)-one", https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Benzofuran-3_2H_-one, accessed 9 April 2023.
- [16] T.M. Kadayat, S. Banskota, P. Gurung, et al. (2017), "Discovery and structure-activity relationship studies of 2-benzylidene-2,3-dihydro-1H-inden-1-one and benzofuran-3(2H)-one derivatives as a novel class of potential therapeutics for inflammatory bowel disease", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **137**, pp.575-597, DOI: 10.1016/j.ejmech.2017.06.018.
- [17] H. Olleik, S. Yahiaoui, B. Roulier, et al. (2019), "Aurone derivatives as promising antibacterial agents against resistant gram-positive pathogens", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **165**, pp.133-141, DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.01.022.
- [18] A.S. Chintakrindi, D.J. Gohil, A.S. Chowdhary, et al. (2020), "Design, synthesis and biological evaluation of substituted flavones and aurones as potential anti-influenza agents", *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **28**(1), DOI: 10.1016/j.bmc.2019.115191.
- [19] M.P. Carrasco, A.S. Newton, L. Gonçalves, et al. (2014), "Probing the aurone scaffold against *Plasmodium falciparum*: Design, synthesis and antimalarial activity", *European Journal of Medicinal Chemistry*, **80**, pp.523-534, DOI: 10.1016/j.ejmech.2014.04.076.
- [20] S. Demirayak, L. Yurttas, N.G. Karaburun, et al. (2015), "Synthesis and anti-cancer activity evaluation of new aurone derivatives", *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **30**(5), pp.816-825, DOI: 10.3109/14756366.2014.976568.
- [21] S. Venkateswarlu, G.K. Panchagnula, A.L. Gottumukkala, et al. (2007), "Synthesis, structural revision, and biological activities of 4'-chloroaurone, a metabolite of marine brown alga *Spatoglossum variabile*", *Tetrahedron*, **63**(29), pp.6909-6914, DOI: 10.1016/j.tet.2007.04.048.
- [22] K. Manjulatha, S. Srinivas, N. Mulakayala, et al. (2012), "Ethylenediamine diacetate (EDDA) mediated synthesis of aurones under ultrasound: Their evaluation as inhibitors of SIRT1", *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **22**(19), pp.6160-6165, DOI: 10.1016/j.bmcl.2012.08.017.

Tạo tế bào thần kinh tiết Orexin-A từ tế bào gốc vạn năng cảm ứng của người Việt Nam

Đặng Thị Minh Anh^{1,2}, Đỗ Minh Hiếu^{2,3}, Nguyễn Thị Hồng Nhung², Nguyễn Xuân Hưng^{2,4*}

¹Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội, 334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Trung tâm Công nghệ cao Vinmec, 458 Minh Khai, phường Vĩnh Tuy, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

³Đại học Bách khoa Hà Nội, 1 Đại Cồ Việt, phường Bách Khoa, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

⁴Khối Khoa học Sức khỏe, Trường Đại học VinUni, xã Đa Tốn, huyện Gia Lâm, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 8/5/2023; ngày chuyển phản biện 10/5/2023; ngày nhận phản biện 30/5/2023; ngày chấp nhận đăng 5/6/2023

Tóm tắt:

Bệnh ngủ rũ tuýp 1 là hội chứng rối loạn thần kinh ảnh hưởng nghiêm trọng đến việc kiểm soát giấc ngủ, gây ra bởi sự suy giảm số lượng tế bào thần kinh tiết Orexin. Mặc dù có ý nghĩa quan trọng đối với khoa học và đời sống, các nghiên cứu về bệnh thần kinh nói chung và bệnh ngủ rũ nói riêng vẫn bị hạn chế bởi việc không thể tiếp cận nguồn mẫu từ não bộ người cũng như khó khăn trong việc nuôi cấy các dòng tế bào thần kinh. Với mục đích khắc phục rào cản này, chúng tôi tiến hành tạo tế bào thần kinh tiết Orexin-A từ tế bào gốc vạn năng cảm ứng (hiPSCs), sử dụng môi trường biệt hóa có bổ sung N-acetyl-D-mannosamine (ManNAc) và Bone morphogenetic protein 4 (BMP4). Chúng tôi đánh giá đặc tính các tế bào biệt hóa được bằng phương pháp nhuộm miễn dịch huỳnh quang, phản ứng real-time PCR và kỹ thuật ELISA cạnh tranh. Kết quả cho thấy, nghiên cứu đã tạo thành công dòng hiPSC mang những đặc trưng của tế bào gốc vạn năng. Tế bào thần kinh tiết Orexin-A tạo thành từ hiPSCs đã cho kết quả biểu hiện dương tính với NCAM1 và TUBB3, tăng biểu hiện gen hypocretin (*HCRT*) và có khả năng tiết Orexin-A. Dựa trên tiền đề này, tế bào thần kinh tiết Orexin-A được tạo ra sẽ là cơ sở cho việc xây dựng mô hình bệnh trên tế bào và các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế các bệnh thần kinh liên quan.

Từ khóa: biệt hóa, orexin, tế bào gốc vạn năng cảm ứng, tế bào thần kinh.

Chỉ số phân loại: 1.6, 2.6, 3.5

Establishment of Vietnamese human induced pluripotent stem cell-derived Orexin-A neurons

Thi Minh Anh Dang^{1,2}, Minh Hieu Do^{2,3}, Thi Hong Nhung Nguyen², Xuan Hung Nguyen^{2,4*}

¹University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²Vinmec Hi-Tech Center, 458 Minh Khai Street, Vinh Tuy Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

³Hanoi University of Science and Technology, 1 Dai Co Viet Street, Bach Khoa Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

⁴College of Health Sciences, VinUniversity, Da Ton Commune, Gia Lam District, Hanoi, Vietnam

Received 8 May 2023; revised 30 May 2023; accepted 5 June 2023

Abstract:

Narcolepsy type 1 is a neurological disorder that severely affects sleep control due to a decrease in orexin neurons. Although research on neurological diseases, including narcolepsy, is vital for advancing science and improving human life, progress is hindered by the challenge of obtaining human brain samples as well as the difficulty in culturing neuronal cell lines. To overcome this obstacle, we generated Orexin-A neurons from human induced pluripotent stem cells (hiPSCs) by utilising a differentiation medium supplemented with N-acetyl-D-mannosamine (ManNAc) and Bone morphogenetic protein 4 (BMP4). The cells obtained from our study were characterised using immunofluorescence staining, real-time PCR, and competitive ELISA technique. The results show that our research successfully generated a hiPSC line with pluripotent stem cell characteristics. Furthermore, Orexin-A neurons derived from hiPSCs showed positive results for NCAM1 and TUBB3 markers, an increase in *HCRT* gene expression, and the capacity to secrete Orexin-A. These promising findings suggest that our hiPSC-derived Orexin-A neurons could serve as a foundation for cell-based disease modelling and further investigations into the underlying mechanisms of related neurological disorders.

Keywords: differentiation, human induced pluripotent stem cells, neuron, orexin.

Classification numbers: 1.6, 2.6, 3.5

*Tác giả liên hệ: Email: v.hungnx1@vinmec.com

1. Đặt vấn đề

Bệnh ngủ rũ tuýp 1 là hội chứng rối loạn thần kinh hiếm gặp với đặc trưng là mất trương lực cơ, buồn ngủ quá mức vào ban ngày và rối loạn giấc ngủ vào ban đêm [1]. Cho tới nay, các nhà khoa học vẫn chưa tìm ra phương pháp đặc trị cho bệnh, do đó bệnh nhân phải điều trị triệu chứng bằng thuốc suốt đời [2], gây ảnh hưởng xấu đến cuộc sống và sức khỏe của người bệnh cũng như gánh nặng kinh tế cho gia đình [3]. Về mặt bệnh lý, các nghiên cứu đã chỉ ra rằng sự suy giảm hoặc mất chức năng của tế bào thần kinh tiết Orexin là nguyên nhân chính dẫn đến bệnh ngủ rũ tuýp 1 [1].

Mặc dù nguyên nhân của bệnh ngủ rũ đã được biết đến từ lâu, song cơ chế phát sinh bệnh ở cấp độ phân tử và tế bào vẫn chưa thực sự rõ ràng, một trong các nguyên nhân là do khó tiếp cận nguồn tế bào thần kinh tiết Orexin trong não người để phục vụ cho nghiên cứu. Để khắc phục trở ngại này, công nghệ hiPSCs - được phát triển từ năm 2007 bởi K. Takahashi và cs (2007) [4], đã mang lại cơ hội chưa từng có cho nghiên cứu cơ chế gây bệnh ở người. hiPSCs với những ưu điểm về nguồn tế bào phong phú và dễ dàng tiếp cận, không gặp phải những rào cản về đạo đức và quan trọng nhất là tiềm năng biệt hóa thành hầu hết các loại tế bào trong cơ thể, trở thành công cụ hữu ích giúp thiết lập các mô hình bệnh trong phòng thí nghiệm [5].

Trên thế giới, những nghiên cứu liên quan đến biệt hóa hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin còn tương đối hạn chế. Hầu hết các mô hình đánh giá bệnh *in vitro* và *in vivo* sử dụng tế bào thần kinh tiết Orexin đều được thực hiện trên động vật, phổ biến là chuột [6-8]. Những mô hình này tuy dễ tiếp cận nhưng hạn chế bởi nhiều khác biệt giữa người và động vật khác, do vậy, việc thiết lập và sử dụng tế bào có nguồn gốc từ người trở nên cần thiết hơn bao giờ hết. Về lĩnh vực này, ngoài nghiên cứu của F.T. Merkle và cs (2015) [9], K. Hayakawa và cs (2017) [10], cho tới nay vẫn chưa có công bố mới hơn. Tại Việt Nam, ứng dụng công nghệ tế bào gốc trong điều trị bệnh đang có những bước tiến đáng kể, tuy nhiên vẫn đang giới hạn trong việc sử dụng tế bào gốc đa năng với khả năng biệt hóa thành số lượng hữu hạn các tế bào khác nhau. Đối với hiPSCs, nghiên cứu mới chỉ bắt đầu trên chuột năm 2016. Hiện tại, chúng tôi chưa ghi nhận có công bố của nhóm nghiên cứu nào về hướng biệt hóa hiPSCs của người Việt Nam thành tế bào thần kinh tiết Orexin.

Nhận thức được tầm quan trọng trong nghiên cứu tế bào thần kinh, chúng tôi hướng đến mục tiêu tạo ra tế bào thần kinh tiết Orexin-A sử dụng dòng hiPSC có nguồn gốc từ máu cuống rốn với ưu điểm về hàm lượng, thủ thuật ít xâm lấn và dễ tiếp cận hơn so với các nguồn tế bào gốc khác [11]. Kết quả công bố trong nghiên cứu hy vọng sẽ đóng góp trong việc xây dựng ngân hàng tế bào gốc của người Việt Nam, trở thành nguồn tài nguyên quý giá để hỗ trợ những

nghiên cứu chuyên sâu hơn về bệnh ngủ rũ cũng như các bệnh lý liên quan khác trong tương lai.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Dòng hiPSCs có nguồn gốc từ máu cuống rốn được tạo ra bằng phương pháp chuyển gen thông qua virus Sendai tại Trung tâm Công nghệ cao Vinmec.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Tạo tế bào gốc vạn năng cảm ứng

Các hiPSCs được tái lập trình từ tế bào gốc tạo máu theo quy trình tương tự như công bố trước đó [12]. Trước hết, chúng tôi phân lập tế bào đơn nhân từ máu cuống rốn của một thai phụ khỏe mạnh 32 tuổi bằng phương pháp ly tâm tỷ trọng sử dụng Ficoll (GE, Mỹ) và nuôi cấy chọn lọc tăng sinh các tế bào gốc tạo máu trong môi trường StemMACS™ HSC Expansion (Miltenyi, Mỹ) trên đĩa 6 giếng (Corning, Mỹ) trong 9 ngày. Các tế bào được đánh giá khả năng sống và độ tinh khiết bằng phương pháp phân tích tế bào theo dòng chảy (BD FACSLyric™ Flow Cytometry, Becton Dickinson, Mỹ). Khi tỷ lệ tế bào gốc tạo máu dương tính với dấu ấn bề mặt CD34 trên 85%, 3 véc tơ virus Sendai (Sendai Cytotune™ 2.0, Invitrogen - Mỹ) mang 4 yếu tố tái lập trình c-MYC, SOX2, KLF4 và OCT4 sẽ được đưa vào tế bào để tạo dòng hiPSCs. 2 tuần sau khi tái lập trình, các cụm tế bào gốc sơ khai được cấy chuyển và nuôi tăng sinh trong môi trường mTeSR1 (StemCELL, Canada) và dòng hiPSCs (VRISGi003-A) bộc lộ hình thái giống như tế bào gốc phôi đã được chọn để kiểm tra đặc tính hoàn chỉnh. Dòng hiPSC tạo thành được kiểm tra đặc tính thông qua nhuộm alkaline phosphatase (Alkaline Phosphatase Staining Kit - Abcam, Anh); nhuộm miễn dịch huỳnh quang với các chỉ thị đặc trưng cho tính vạn năng là SOX2, OCT4, NANOG, TRA 1-60 và xác nhận khả năng biệt hóa thành 3 lớp phôi thông qua nhuộm miễn dịch huỳnh quang với chỉ thị đặc trưng: OTX-2 (lớp ngoại bì), BRACHYURY (lớp trung bì), SOX17 (lớp nội bì).

2.2.2. Biệt hóa tế bào gốc vạn năng cảm ứng thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A

Khi mật độ bao phủ bề mặt của hiPSCs đạt 70-80%, chúng tôi tiến hành tách tế bào bằng Accutase (StemCELL, Canada). Sau đó, hiPSCs được đồng nuôi cấy trên lớp dưỡng bào từ tế bào mô đệm của chuột - PA6 (Riken, Nhật Bản) trong môi trường mTeSR1 (StemCELL, Canada) có bổ sung Y-27632 (Sigma, Mỹ) trong 24 giờ. Môi trường biệt hóa cơ bản (SDIA) bao gồm: môi trường Glasgow's minimum essential medium (GMEM, Gibco, Mỹ) chứa 25 nM đường glucose, 10% Knockout serum replacement (KSR, Invitrogen, Mỹ), 0,1 mM axit amin không thiết yếu (Non-essential amino acid, NEAA, Gibco, Mỹ) và 0,1 mM dung môi β -mercaptoethanol

(Invitrogen, Mỹ). Môi trường biệt hóa được thay cách ngày. Từ ngày thứ 7, bổ sung 0,6 μ M N-acetyl-D-mannosamine (Sigma, Mỹ) và 5 nM BMP4 (Peprotech, Mỹ) vào môi trường SDIA để kích thích quá trình biệt hóa hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin [10]. Sau 20 ngày, chúng tôi tiến hành thu tế bào để đánh giá đặc tính.

2.2.3. Xác định nồng độ Orexin-A bằng phương pháp ELISA

Chúng tôi sử dụng kỹ thuật ELISA để xác định nồng độ peptit Orexin-A tiết ra từ tế bào thần kinh tiết Orexin-A như đã mô tả trong nghiên cứu của K. Hayakawa và cs (2017) [10]. Sau 20 ngày biệt hóa, tế bào sẽ được ủ trong 500 μ l môi trường SDIA có bổ sung Leptin và Ghrelin (Sigma, Mỹ) tại 37°C trong 3 giờ để kích thích tế bào tiết Orexin-A. Cuối cùng, chúng tôi xác định nồng độ peptit Orexin-A trong dịch nuôi cấy bằng bộ kit OREXIN-A Fluorescent EIA (Phoenix Pharmaceuticals, Mỹ).

2.2.4. Nhuộm miễn dịch huỳnh quang

Sau 20 ngày biệt hóa, chúng tôi tiến hành cố định tế bào bằng dung dịch IC Fixation (Invitrogen, Mỹ) ngay trên đĩa nuôi cấy trong 15 phút tại nhiệt độ phòng, tăng tính thẩm thấu bằng dung dịch Permeabilization Buffer (Invitrogen, Mỹ) trong 30 phút và chặn các liên kết không đặc hiệu bằng dung dịch PBS (đệm phosphate buffered saline - Gibco, Mỹ) + 5% BSA (Sigma, Mỹ) trong 1 giờ. Sau đó, các tế bào được nhuộm bằng kháng thể đặc hiệu: SOX2, OCT4, NANOG, TRA 1-60 (Miltenyi, Đức); OTX-2, BRACHYURY, SOX17 (R&D Systems, Mỹ); NCAM1, TUBB3 (Abcam, Anh) ủ qua đêm ở 4°C và nhận tế bào được nhuộm bằng DAPI trong 5 phút. Sau đó, tiến hành chụp ảnh tế bào bằng kính hiển vi đồng tiêu (Confocal - Molecular devices, Mỹ). Các hình ảnh được xử lý bằng phần mềm ImageJ.

2.2.5. Kiểm tra biểu hiện gen HCRT bằng real-time PCR

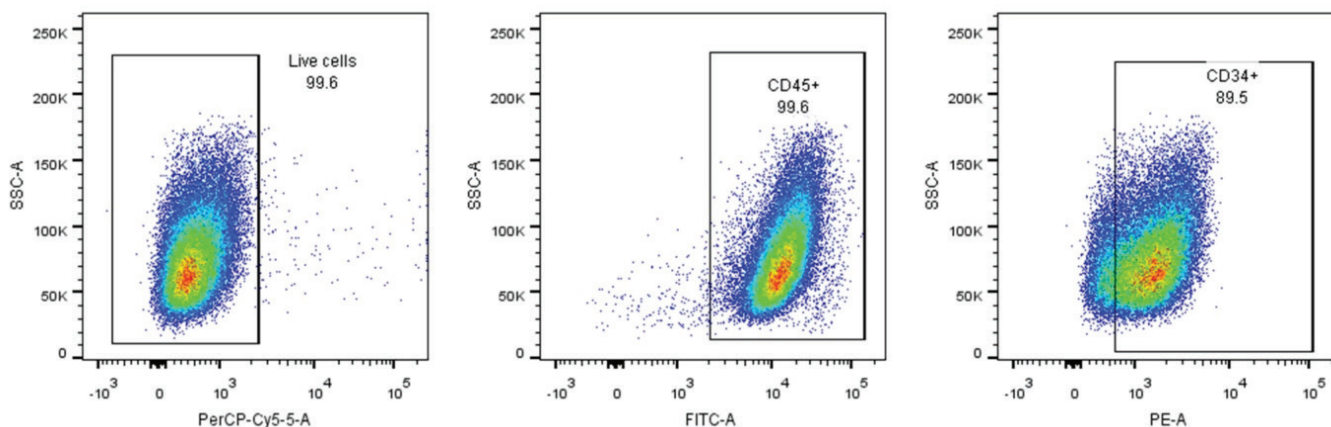
Tế bào được thu vào ngày thứ 20 sau quá trình biệt hóa để tách RNA (Ribonucleic acid) sử dụng kit RNEasy Mini (Quantabio, Mỹ), sau đó phiên mã ngược thành cDNA

(complementary Deoxyribonucleic acid) sử dụng kit qScript cDNA Synthesis (Quantabio, Mỹ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. cDNA được dùng làm khuôn cho phản ứng khuếch đại gen thời gian thực, sử dụng kit PerfeCTA SYBR Green SuperMix (Quantabio, Mỹ) và thu tín hiệu trên máy 7500 real-time PCR system (Applied Biosystems). Xác định mức độ biểu hiện của gen *HCRT* trên mRNA (messenger RNA) đích sau khi chuẩn hoá với gen nội kiểm *GAPDH* (Glyceraldehyde 3-phosphate). Trình tự các cặp mồi sử dụng: mồi cho gen *HCRT* gồm 5'-TGA TTA TGG GTC GTC GCG TA-3' (mồi xuôi) và 5'-AAC TAT CCT CCG AAC GCG AC-3' (mồi ngược) [13]; mồi cho gen *GAPDH* gồm 5'-GGC ATG GAC TGT GGT CAT GAG-3' (mồi xuôi) và 5'-TGC ACC ACC AAC TGC TTA GC-3' (mồi ngược) [12, 14].

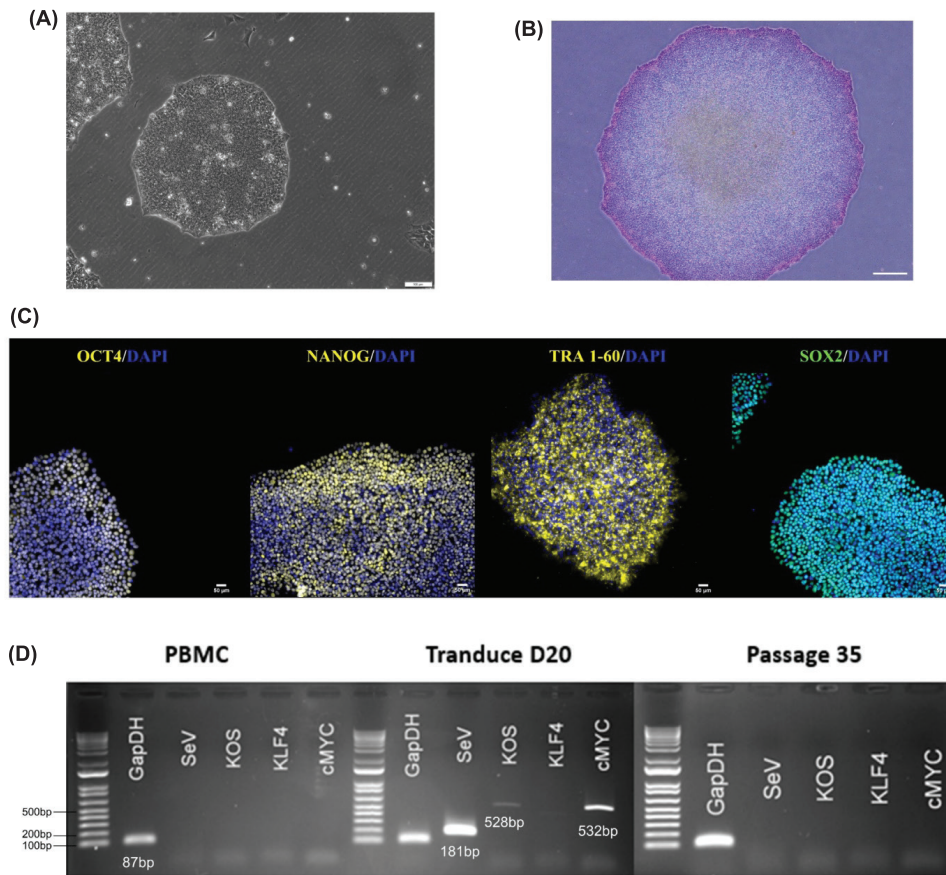
3. Kết quả

3.1. Tạo dòng hiPSC từ tế bào gốc tạo máu

Các tế bào gốc tạo máu được tinh sạch, nuôi cấy tăng sinh trong vòng 9 ngày với một lần cấy chuyển và được chuyển gen khi tỷ lệ tế bào dương tính với CD34 đạt 89,5% (hình 1). Cụm tế bào gốc hình thành sau 3 tuần chuyển gen (hình 2A) và sự phát triển của các cụm tế bào gốc được xác định thông qua biểu hiện dương tính với chỉ thị alkaline phosphatase (hình 2B). hiPSCs đời cấy chuyển thứ 6 biểu hiện dương tính với các chỉ thị bề mặt đặc trưng của tế bào gốc vạn năng, cụ thể là: SOX2, OCT4, NANOG và TRA 1-60 (hình 2C). Sau nhiều đời cấy chuyển, hiPSCs được tiến hành kiểm tra sự tồn tại của virus Sendai thông qua gen SeV bằng phản ứng khuếch đại gen (RT-PCR). Hình ảnh từ kết quả điện di cho thấy, gen SeV xuất hiện ở đời cấy chuyển đầu tiên và biến mất hoàn toàn sau đời cấy chuyển thứ 35 (hình 2D). Sau cùng, sự nguyên vẹn về hình thái và số lượng bộ nhiễm sắc thể của hiPSCs qua nhiều đời sau chuyển gen được xác nhận thông qua nhiễm sắc thể đồ (không thể hiện ở bảng kết quả). Như vậy, chúng tôi đã tạo thành công dòng hiPSCs mang đầy đủ các đặc tính đặc trưng của tế bào gốc phôi.



Hình 1. Tỷ lệ dương tính của tế bào với CD34 trước khi chuyển gen. Sau 9 ngày nuôi cấy, ít nhất 10^5 tế bào đã được thêm vào ống chứa kháng thể 7AAD-PerCP-Cy5 + CD45-FITC + CD34-PE và tỷ lệ tế bào dương tính được xác định bằng phương pháp phân tích tế bào theo dòng chảy.



Hình 2. Kiểm tra đặc tính của dòng tế bào gốc vạn năng cảm ứng tạo thành. (A) Hình thái cụm tế bào gốc sau 3 tuần chuyển gen, thước đo 100 μm , độ phóng đại 10X; (B) Biểu hiện dương tính trên bề mặt hiPSCs khi nhuộm alkaline phosphatase (ALP), thước đo 100 μm , độ phóng đại 10X; (C) Biểu hiện dương tính các chỉ thị đặc trưng cho tính vạn năng của hiPSCs: human anti-SOX2 - FITC, human anti-OCT4 - PE, human anti-NANOG - PE, human anti-TRA 1-60 - PE, thước đo 50 μm , độ phóng đại 20X; (D) Kết quả phản ứng khuếch đại gen (RT-PCR) đối với gen SeV của virus Sendai và các gen tái lập trình (KOS, cMYC, KLF4) xuất hiện ở dòng hiPSC sau 20 ngày chuyển gen (Transduce D20) và biến mất sau khi tế bào được cấy chuyển liên tục 35 đời (Passage 35) với gen *GAPDH* là gen nội kiểm. Thang chuẩn: 1 kb.

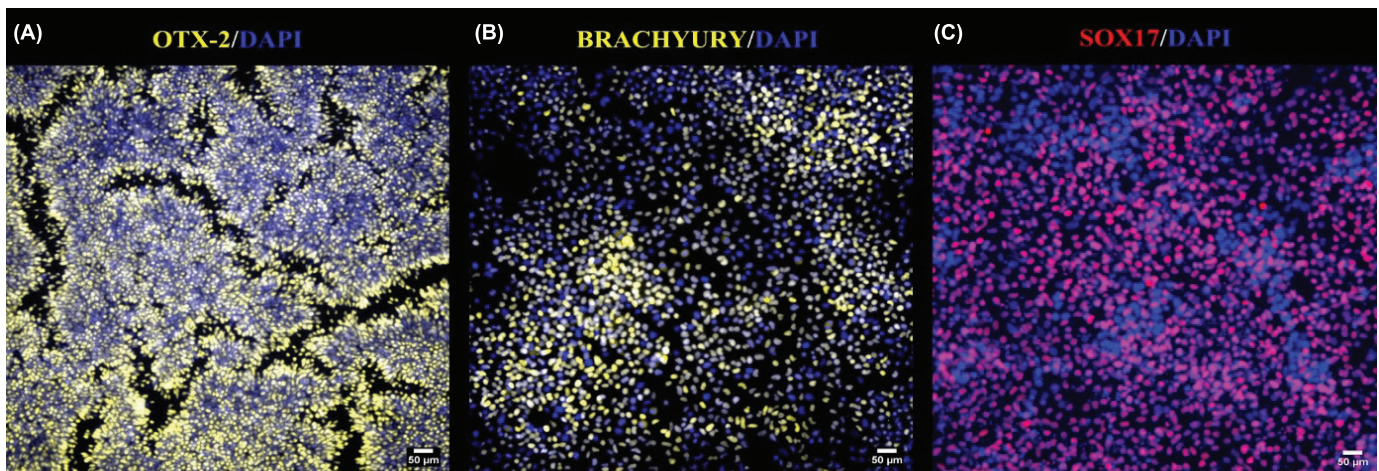
3.2. Khả năng biệt hóa của hiPSCs thành 3 lớp phôi

Khả năng biệt hóa thành các tế bào thuộc 3 lớp phôi là một trong những chỉ tiêu giúp xác định tính vạn năng của hiPSCs *in vitro*. Dòng hiPSCs tạo thành sau khi biệt hóa với môi trường đặc hiệu đã cho kết quả dương tính với các chỉ thị đặc trưng của 3 lớp phôi: OTX-2 ở lớp ngoại bì, BRACHYURY ở lớp trung bì và SOX17 ở lớp nội bì (hình 3).

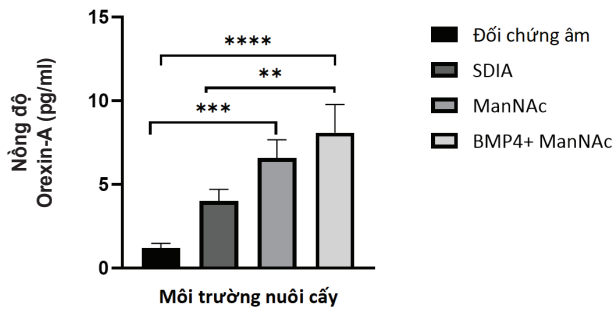
3.3. Biệt hóa tế bào gốc vạn năng cảm ứng thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A

3.3.1. Nồng độ Orexin-A thông qua phương pháp ELISA

Khả năng tiết Orexin-A là đặc tính quan trọng của tế bào thần kinh tiết Orexin-A. Số liệu thu được từ phản ứng ELISA cho thấy, nồng độ Orexin-A ở các tế bào được nuôi trong môi trường biệt hóa cơ bản (SDIA) có bổ sung ManNAc và môi trường SDIA có bổ sung ManNAc + BMP4 cho kết quả cao hơn hẳn



Hình 3. Các tế bào gốc vạn năng cảm ứng thể hiện khả năng biệt hóa thành 3 lớp phôi. Tế bào gốc vạn năng cảm ứng được nuôi trong môi trường biệt hóa thành các lớp phôi tương ứng (ngoại bì, trung bì và nội bì). Sau 5 ngày biệt hóa (đối với lớp trung bì và nội bì) hoặc 7 ngày biệt hóa (đối với lớp ngoại bì), tế bào được nhuộm miễn dịch huỳnh quang với các chỉ thị: OTX-2 đặc trưng cho lớp ngoại bì (A), BRACHYURY đặc trưng cho lớp trung bì (B), SOX17 đặc trưng cho lớp nội bì (C). Thước đo: 50 μm , độ phóng đại 20X.

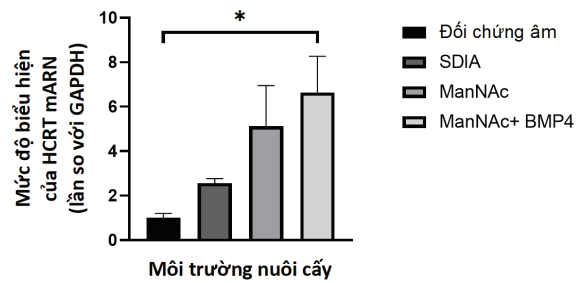


Hình 4. Nồng độ Orexin-A đo được từ môi trường nuôi cấy. Tiến hành biệt hoá hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A theo quy trình 20 ngày dùng các môi trường khác nhau: môi trường nuôi cấy tế bào gốc - mTeSR1 (đối chứng âm), môi trường biệt hóa cơ bản (SDIA), môi trường SDIA bổ sung ManNAc (ManNAc), môi trường SDIA bổ sung cả ManNAc và BMP4 (ManNAc + BMP4). Các tế bào được kích thích bởi Ghrelin, Leptin trong 3 giờ và đo nồng độ Orexin-A bằng ELISA (n= 6), sử dụng phương pháp thống kê one-way ANOVA (****: p<0,0001; ***: p<0,001; **: p<0,01). Xử lý thống kê trên phần mềm Graphpad Prism 8.

so với mẫu tế bào chỉ nuôi bằng môi trường SDIA không bổ sung ManNAc hoặc BMP4. Trong đó, nồng độ Orexin-A trung bình đo được từ môi trường SDIA, SDIA + ManNAc, SDIA + ManNAc + BMP4 lần lượt là $4 \pm 0,71$, $6,57 \pm 1,10$ và $8,09 \pm 1,69$ pg/ml. Hơn nữa, khi so sánh với mẫu đối chứng được nuôi trong môi trường nuôi cấy tế bào gốc thông thường (mTeSR1) với nồng độ Orexin-A trung bình là 1,2 pg/ml thì tất cả các mẫu dịch nuôi cấy từ tế bào biệt hóa đều cho kết quả cao vượt trội (hình 4). Đặc biệt, so với mẫu đối chứng, 2 mẫu biệt hóa trong môi trường SDIA có bổ sung ManNAc và môi trường SDIA bổ sung ManNAc + BMP4 đều đo được nồng độ Orexin-A cao hơn từ 6 đến 8 lần với giá trị p lần lượt nhỏ hơn 0,001 và 0,0001. Như vậy, môi trường biệt hóa chúng tôi sử dụng đã có tác dụng rõ rệt lên khả năng biệt hóa hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A, thể hiện bằng việc tế bào có khả năng tiết ra Orexin-A khi được kích thích bằng Ghrelin và Leptin.

3.3.2. Biểu hiện gen *HCRT* bằng phương pháp RT-PCR

Để kiểm tra liệu ManNAc có thật sự ảnh hưởng đến sự biểu hiện gen *HCRT* - đặc trưng cho tế bào thần kinh tiết Orexin-A, chúng tôi tiến hành so sánh biểu hiện gen *HCRT* trong các mẫu tế bào được nuôi trong các môi trường khác nhau tại ngày thứ 20 của quá trình biệt hóa, bằng phản ứng khuếch đại gen thời gian thực RT-qPCR (hình 5). Có thể thấy, mẫu tế bào được nuôi trong môi trường SDIA bổ sung ManNAc và môi trường SDIA bổ sung ManNAc + BMP4 có sự khác biệt vượt trội so với môi trường SDIA trong việc tăng biểu hiện gen *HCRT* (sử dụng gen nội kiểm *GAPDH*). Trong đó, mẫu thu từ môi trường SDIA bổ sung ManNAc và môi trường SDIA bổ sung ManNAc + BMP4 lần lượt có



Hình 5. Biểu hiện gen *HCRT* trong các mẫu tế bào sau biệt hóa. hiPSCs sau 20 ngày nuôi cấy trong môi trường nuôi cấy tế bào gốc - mTeSR1 (đối chứng âm); môi trường biệt hóa cơ bản (SDIA); môi trường SDIA bổ sung ManNAc (ManNAc); và môi trường SDIA bổ sung cả ManNAc và BMP4 (ManNAc + BMP4) được tách RNA, thu cDNA và kiểm tra biểu hiện gen *HCRT* sử dụng gen nội kiểm *GAPDH*. Sử dụng kiểm định thống kê Kruskal-Wallis (n=3, p<0,05). Xử lý thống kê trên phần mềm Graphpad Prism 8.

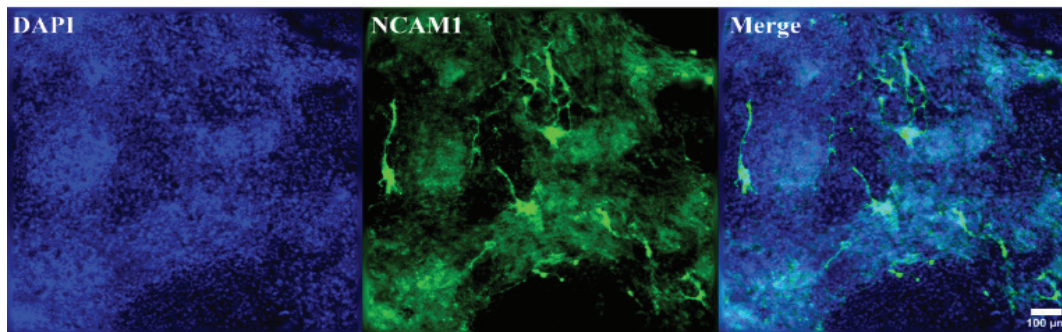
biểu hiện gen *HCRT* gấp khoảng 5 và 6,6 lần biểu hiện gen nội kiểm *GAPDH*, so sánh với mẫu thu từ môi trường SDIA có biểu hiện gen *HCRT* gấp khoảng 2,5 lần gen nội kiểm *GAPDH*. Bên cạnh đó, không có sự khác biệt lớn trong biểu hiện gen *HCRT* giữa 2 môi trường được bổ sung ManNAc và ManNAc + BMP4. Vì vậy, chúng tôi đưa ra kết luận ManNAc làm tăng cường biểu hiện gen *HCRT* của tế bào và góp phần quan trọng trong quá trình biệt hóa tạo tế bào thần kinh tiết Orexin-A từ hiPSCs.

3.3.3. Kiểm tra các chỉ thị bề mặt đặc trưng thông qua nhuộm miễn dịch huỳnh quang

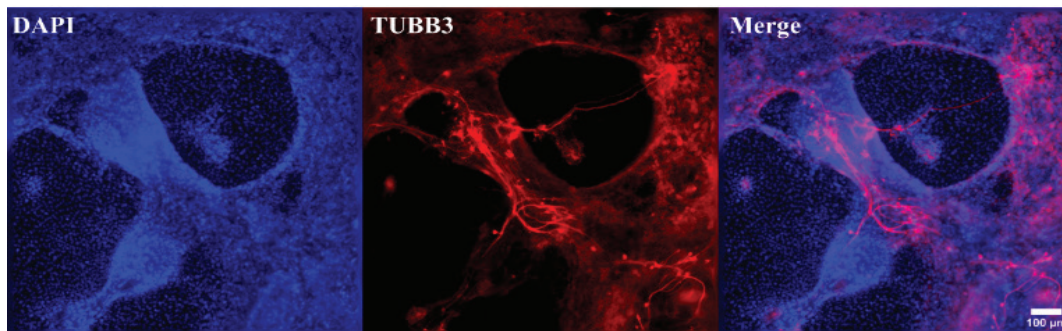
β -tubulin III (TUBB3) là một thành phần vi ống thuộc họ tubulin hầu như chỉ được tìm thấy trong các tế bào thần kinh [15, 16]. Bên cạnh đó, phân tử liên kết tế bào thần kinh - 1 (neural cell adhesion molecule 1 - NCAM1) tham gia vào việc hình thành và duy trì các khớp thần kinh, là các kết nối giữa các tế bào thần kinh cho phép giao tiếp và truyền tín hiệu trong não [17]. Do TUBB3 và NCAM1 phần lớn chỉ xuất hiện ở tế bào thần kinh nên chúng thường được sử dụng làm chỉ thị đặc trưng cho loại tế bào này. Để chắc chắn về khả năng hình thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A từ hiPSCs, chúng tôi tiến hành nhuộm miễn dịch huỳnh quang mẫu tế bào với TUBB3 và NCAM1. Kết quả cho thấy, tế bào sau biệt hóa biểu hiện dương tính với cả 2 chỉ thị đặc trưng NCAM1 (hình 6A) và TUBB3 (hình 6B).

Với các kết quả trên, chúng tôi có thể khẳng định nghiên cứu đã bước đầu thành công trong việc biệt hóa hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A mang những đặc tính cơ bản nhất của tế bào thần kinh.

(A)



(B)



Hình 6. Biểu hiện dương tính của các chỉ thị TUBB3 và NCAM1 đặc trưng cho tế bào thần kinh. hiPSCs được biệt hóa trong môi trường SDIA có bổ sung ManNAc + BMP4. Mẫu tế bào được thu tại ngày biệt hóa thứ 20 và tiến hành nhuộm miễn dịch huỳnh quang với chỉ thị đặc trưng cho tế bào thần kinh: NCAM1 (A) và TUBB3 (B). Thước đo 100 μ m, độ phóng đại 10X.

4. Bàn luận

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã tiến hành biệt hóa hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A và thu được kết quả khả quan. Cụ thể, tế bào sau biệt hóa mang những đặc tính điển hình của tế bào thần kinh tiết Orexin-A như biểu hiện dương tính với các chỉ thị đặc trưng NCAM1 và TUBB3, có khả năng tiết Orexin-A và tăng biểu hiện gen *HCRT*. Nồng độ Orexin-A trung bình chúng tôi đo được từ mẫu nuôi trong môi trường SDIA có bổ sung ManNAc + BMP4 là $8,09 \pm 1,69$ pg/ml, thấp hơn so với công bố của K. Hayakawa và cs (2017) [10] (khoảng 10 pg/ml). Mặc dù vậy, kết quả nghiên cứu của chúng tôi nhận thấy có sự thay đổi rõ rệt về biểu hiện gen *HCRT* và nồng độ Orexin-A của tế bào khi bổ sung ManNAc vào môi trường biệt hóa, tương đồng với công bố trước đó [10]. Qua đó, khẳng định vai trò của chất này đối với quá trình biệt hóa tạo tế bào thần kinh tiết Orexin-A từ hiPSCs. Về cơ chế hoạt động của ManNAc trong tế bào, K. Hayakawa và cs (2013) [6] đã đưa ra giả thiết rằng ManNAc có tác dụng chuyển những yếu tố kích thích quá trình acetyl hóa histone H3/H4 và khử methyl hóa DNA như Mgea5, p300, CBP đến locus gen *HCRT*, làm thay đổi trạng thái biểu sinh và góp phần tăng biểu hiện

của gen này. Mặc dù chúng tôi chưa thực hiện nghiên cứu để kiểm tra giả thiết trên, nhưng từ kết quả thu được kết hợp với những công bố trước đó, giả thiết của nhóm tác giả này đưa ra hoàn toàn có cơ sở [6].

Từ các kết quả của nghiên cứu này, chúng tôi sẽ tiến gần hơn đến mục tiêu y học cá thể hóa tại Việt Nam, bắt đầu từ việc tạo hiPSCs từ máu ngoại vi [14], biệt hóa thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A và sử dụng các tế bào này như mô hình trong nghiên cứu các bệnh thần kinh. Về vấn đề cải tiến để nâng cao hiệu suất và khả năng ứng dụng thực tiễn, nghiên

cứ của K. Hayakawa và cs (2017) [10] đã chứng minh rằng ngoài ManNAc, các dẫn xuất của chất này (ManNFAc, ManNCOOMe, ManNCOOEt...) không những có khả năng kích thích hiPSCs biệt hóa thành tế bào thần kinh tiết orexin mà còn tăng đáng kể hiệu quả biệt hóa. Bên cạnh đó, việc sử dụng tế bào nền PA6 mặc dù có những ưu điểm như quy trình đơn giản và hiệu quả biệt hóa tốt nhờ khả năng cảm ứng của tế bào mô đệm [18], nhưng các tế bào thần kinh tiết orexin tạo thành sẽ mang yếu tố động vật khiến các nghiên cứu xa hơn như thử nghiệm lâm sàng, cấy ghép tế bào vào cơ thể người trở nên khó khăn hơn. Vì vậy, chúng tôi sẽ tiến hành các phương pháp cải tiến để thay thế lớp tế bào nền PA6. Ngoài ra, sự khác biệt về mặt sinh lý giữa tế bào thần kinh tiết orexin trưởng thành trong não bộ và tế bào biệt hóa *in vitro* cũng là điểm hạn chế trong nghiên cứu này [19].

Mặc dù nghiên cứu vẫn còn tồn tại nhiều hạn chế và cần tối ưu thêm về mặt quy trình nhưng các kết quả thu được bước đầu đã cho thấy tiềm năng của việc sử dụng hiPSCs trong biệt hóa tạo tế bào thần kinh tiết orexin *in vitro*. Kết quả này đồng thời góp phần xây dựng tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về cơ chế hoạt động, tương tác với các loại tế

bào khác của tế bào thần kinh tiết orexin, cũng như thiết lập mô hình bệnh liên quan đến tổn thương, suy giảm tế bào này. Trong tương lai, chúng tôi sẽ tiếp tục tối ưu và thực hiện thêm các nghiên cứu chuyên sâu với mong muốn tạo ra dòng tế bào thần kinh tiết orexin có thể ứng dụng trong tạo mô hình nghiên cứu cơ chế bệnh và hướng tới các liệu pháp đặc trị cho bệnh ngủ rũ nói riêng và các bệnh thần kinh nói chung.

5. Kết luận

Nghiên cứu đã thành công trong việc tái lập trình tế bào gốc tạo máu thành hiPSCs ở người Việt Nam, từ đó biệt hoá hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A. Tế bào thu được sau biệt hóa có khả năng tiết Orexin-A ra môi trường, biểu hiện gen *HCRT* tăng, đồng thời tế bào biểu hiện dương tính với các chỉ thị bề mặt đặc trưng NCAM1, TUBB3. Môi trường SDIA có bổ sung ManNAc và BMP4 kết hợp với lớp nền tế bào PA6 thể hiện vai trò đáng kể trong quá trình biệt hoá hiPSCs thành tế bào thần kinh tiết Orexin-A, với nồng độ Orexin-A đo được từ mẫu môi trường là 8,09 pg/ml và biểu hiện gen *HCRT* tăng gấp 6,6 lần so với gen *GAPDH*.

LỜI CẢM ƠN

Chúng tôi xin chân thành cảm ơn Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ quốc gia (NAFOSTED) đã cấp kinh phí cho việc thực hiện đề tài với mã số 108.06-2018.309.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] T.E. Scammell (2015), “Narcolepsy”, *N. Engl. J. Med.*, **373**(27), pp.2654-2662, DOI: 10.1056/NEJMra1500587.
- [2] L. Barateau, R. Liblau, C. Peyron, et al. (2017), “Narcolepsy type 1 as an autoimmune disorder: Evidence, and implications for pharmacological treatment”, *CNS Drugs*, **31**(10), pp.821-834, DOI: 10.1007/s40263-017-0464-6.
- [3] P. Jennum, R. Ibsen, S. Knudsen, et al. (2013), “Comorbidity and mortality of narcolepsy: A controlled retro- and prospective national study”, *Sleep*, **36**(6), pp.835-840, DOI: 10.5665/sleep.2706.
- [4] K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki, et al. (2007), “Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors”, *Cell*, **131**(5), pp.861-872, DOI: 10.1016/j.cell.2007.11.019.
- [5] J. Gorecka, V. Kostiuk, A. Fereydooni, et al. (2019), “The potential and limitations of induced pluripotent stem cells to achieve wound healing”, *Stem Cell Res. Ther.*, **10**(1), DOI: 10.1186/s13287-019-1185-1.
- [6] K. Hayakawa, M. Hirosawa, Y. Tabei, et al. (2013), “Epigenetic switching by the metabolism-sensing factors in the generation of orexin neurons from mouse embryonic stem cells”, *J. Biol. Chem.*, **288**(24), pp.17099-17110, DOI: 10.1074/jbc.M113.455899.

- [7] R.K. Tisdale, A. Yamanaka, T.S. Kilduff (2021), “Animal models of narcolepsy and the hypocretin/orexin system: Past, present, and future”, *Sleep*, **44**(6), DOI: 10.1093/sleep/zsaa278.
- [8] R.B. Valnet, L. Yshii, C. Queriaux, et al. (2016), “CD8 T cell-mediated killing of orexinergic neurons induces a narcolepsy-like phenotype in mice”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **113**(39), pp.10956-10961, DOI: 10.1073/pnas.1603325113.
- [9] F.T. Merkle, A. Maroof, T. Wataya, et al. (2015), “Generation of neuropeptidergic hypothalamic neurons from human pluripotent stem cells”, *Development*, **142**(4), pp.633-643, DOI: 10.1242/dev.117978.
- [10] K. Hayakawa, Y. Sakamoto, O. Kanie, et al. (2017), “Reactivation of hyperglycemia-induced hypocretin (HCRT) gene silencing by N-acetyl-d-mannosamine in the orexin neurons derived from human iPS cells”, *Epigenetics*, **12**(9), pp.764-778, DOI: 10.1080/15592294.2017.1346775.
- [11] H. Koh, X. Zhen, J. Kim, et al. (2022), “Generation and characterization of human umbilical cord blood-derived induced pluripotent stem cells (KRIBBi005-A)”, *Stem Cell Res.*, **60**, DOI: 10.1016/j.scr.2022.102674.
- [12] T.T.T. Tran, T.H.N. Nguyen, T.T. Nguyen, et al. (2021), “Establishment of a Vietnamese ethnicity induced pluripotent stem cell line (VRISGi001-A) from umbilical cord blood hematopoietic stem cells under a feeder-free system”, *Stem Cell Research*, **53**, DOI: 10.1016/j.scr.2021.102345.
- [13] K. Misawa, D. Mochizuki, A. Imai, et al. (2018), “Analysis of site-specific methylation of tumor-related genes in head and neck cancer: Potential utility as biomarkers for prognosis”, *Cancers*, **10**(1), DOI: 10.3390/cancers10010027.
- [14] T.H.N. Nguyen, T.T.T. Tran, T.H. Luong, et al. (2022), “Generation of an erythroid progenitor-derived iPSC line, VRISGi002-A, from a healthy 27-year-old Vietnamese donor under a feeder-free system”, *Stem Cell Research*, **62**, DOI: 10.1016/j.scr.2022.102824.
- [15] K.F. Sullivan, D.W. Cleveland (1986), “Identification of conserved isotype-defining variable region sequences for four vertebrate beta tubulin polypeptide classes”, *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, **83**(12), pp.4327-4331, DOI: 10.1073/pnas.83.12.4327.
- [16] D.V. Caccamo, M.M. Herman, A. Frankfurter, et al. (1989), “An immunohistochemical study of neuropeptides and neuronal cytoskeletal proteins in the neuroepithelial component of a spontaneous murine ovarian teratoma. Primitive neuroepithelium displays immunoreactivity for neuropeptides and neuron-associated beta-tubulin isotype”, *The American Journal of Pathology*, **135**(5), pp.801-813.
- [17] V. Vukojevic, P. Mastrandreas, A. Arnold, et al. (2020), “Evolutionary conserved role of neural cell adhesion molecule-1 in memory”, *Transl. Psychiatry*, **10**(1), DOI: 10.1038/s41398-020-00899-y.
- [18] H. Kawasaki, K. Mizuseki, S. Nishikawa, et al. (2000), “Induction of midbrain dopaminergic neurons from ES cells by stromal cell-derived inducing activity”, *Neuron*, **28**(1), pp.31-40, DOI: 10.1016/s0896-6273(00)00083-0.
- [19] R. Dolmetsch, D.H. Geschwind (2011), “The human brain in a dish: The promise of iPSC-derived neurons”, *Cell*, **145**(6), pp.831-834, DOI: 10.1016/j.cell.2011.05.034.

Biểu hiện giảm của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ

Nguyễn Thị Tú Linh^{1,2}, Vũ Thị Trinh¹, Lê Lan Phương¹, Lê Trung Thọ³, Trịnh Hồng Thái^{1,2*}

¹Khoa Sinh học, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

²Phòng Thí nghiệm trọng điểm Công nghệ Enzyme và Protein, Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội,
334 Nguyễn Trãi, phường Thanh Xuân Trung, quận Thanh Xuân, Hà Nội, Việt Nam

³Bệnh viện Phổi Trung ương, 463 Hoàng Hoa Thám, phường Vĩnh Phúc, quận Ba Đình, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 4/8/2022; ngày chuyển phản biện 8/8/2022; ngày nhận phản biện 10/9/2022; ngày chấp nhận đăng 17/9/2022

Tóm tắt:

Các phân tử RNA dài không ghi mã (lncRNA) có chủ yếu trong nhân của tế bào và tham gia vào nhiều quá trình điều hoà biểu hiện gen khác nhau. Mức độ biểu hiện bất thường của các phân tử lncRNA được cho là có vai trò đối với hoạt động di căn, xâm lấn và tăng sinh của khối u, trong đó có ung thư phổi không tế bào nhỏ (UTPKTBN). Các lncRNA cũng được phát hiện thấy có biểu hiện tăng hoặc giảm trong các exosome do tế bào ung thư tiết ra, do đó chúng có tiềm năng được sử dụng như một chỉ thị sinh học ung thư không xâm lấn. Trong nghiên cứu này, mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương được xác định trên 29 mẫu bệnh nhân được chẩn đoán mắc UTPKTBN và 29 mẫu huyết tương đối chứng được lấy từ người không mắc bệnh UTPKTBN và các bệnh liên quan đến phổi bằng phương pháp PCR định lượng (qPCR) sử dụng SYBR Green. Sau đó, các phương pháp phân tích thống kê được sử dụng để đánh giá mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 với các đặc điểm bệnh học của UTPKTBN. Kết quả cho thấy, lncRNA UCA1 có biểu hiện giảm trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN so với nhóm đối chứng ($p=0,05$), đặc biệt là giảm ở giai đoạn sớm (giai đoạn I + II). Tuy nhiên, biểu hiện của lncRNA UCA1 không có mối liên quan với các đặc điểm bệnh học của UTPKTBN như độ tuổi, giới tính, tình trạng hút thuốc lá và uống rượu, kích thước khối u, giai đoạn bệnh, mức độ xâm lấn, mức độ hạch và mức độ di căn của khối u. Nghiên cứu đã cung cấp các số liệu ban đầu về biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN người Việt Nam làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về lncRNA trên nhóm bệnh nhân này.

Từ khoá: các phân tử RNA dài không ghi mã, các phân tử RNA dài không ghi mã UCA1, exosome, ung thư phổi không tế bào nhỏ.

Chỉ số phân loại: 1.6, 3.1

*Tác giả liên hệ: Email: thaith@vnu.edu.vn

Downregulated expression of exosomal long non-coding RNA UCA1 in plasma of patients with non-small cell lung cancer

Thi Tu Linh Nguyen^{1,2}, Thi Trinh Vu¹, Lan Phuong Le¹, Trung Tho Le³, Hong Thai Trinh^{1,2*}

¹Faculty of Biology, University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

²Key Laboratory of Enzyme and Protein Technology, University of Science, Vietnam National University - Hanoi, 334 Nguyen Trai Street, Thanh Xuan Trung Ward, Thanh Xuan District, Hanoi, Vietnam

³National Lung Hospital, 463 Hoang Hoa Tham Street, Vinh Phuc Ward, Ba Dinh District, Hanoi, Vietnam

Received 4 August 2022; revised 10 September 2022; accepted 17 September 2022

Abstract:

Long non-coding RNAs (lncRNAs), mainly found in the nucleus of cells, are involved in different gene expression and regulation processes. Growing evidence has shown that abnormalities in the expression levels of lncRNAs play an important role in tumour metastasis, invasion, and proliferation, especially in non-small cell lung cancer (NSCLC). lncRNAs were also found to be upregulated or downregulated in exosomes secreted by cancer cells, thus they have the potential to be used as a non-invasive cancer biomarker. In this study, the expression of exosomal lncRNA UCA1 was determined on 29 plasma samples of patients with NSCLC and 29 controls who did not have NSCLC or related lung diseases by quantitative PCR using SYBR Green. Then, statistical analyses were used to evaluate the association between the expression of lncRNA UCA1 and some pathological features of NSCLC. The results showed that lncRNA UCA1 was downregulated in the exosomes of NSCLC patients compared with the control group ($p=0.050$), especially in the early stage (stage I + II). However, there was no association between the expression of lncRNA UCA1 and some pathological features of NSCLC, such as age, sex, smoking, alcohol consumption, tumour size, disease stage, lymph nodes, or tumour metastasis. This study provided the initial data on the expression of exosomal lncRNA UCA1 in the plasma of Vietnamese patients with NSCLC and further studies on the larger samples are needed to be continued.

Keywords: exosome, long non-coding RNA, long non-coding RNA UCA1, non-small cell lung cancer.

Classification numbers: 1.6, 3.1

1. Đặt vấn đề

Các RNA dài không ghi mã là một họ các phân tử RNA không mã hóa cho protein, có chiều dài >200 nucleotide (thường có kích thước 1.000-10.000 nucleotide), tham gia vào điều hòa biểu hiện gen ở mức độ sau phiên mã và các quá trình sinh học khác của tế bào như cải biến sợi nhiễm sắc, dịch mã, cải biến protein... [1, 2]. Các lncRNA có thể tạo thành cấu trúc bậc 2 hoặc 3 nên có thể đóng vai trò vừa như RNA, vừa như protein. Không giống như mRNA, các lncRNA có chủ yếu trong nhân của tế bào với mức độ biểu hiện thấp và đặc hiệu cho loại tế bào [3]. Bất thường trong mức độ biểu hiện của các phân tử lncRNA có thể gây ra nhiều bệnh, trong đó có ung thư [4]. lncRNA được chia thành 2 loại: lncRNA gây ung thư và lncRNA ức chế khối u. Các lncRNA có thể kích hoạt hoặc ức chế biểu hiện gen thông qua nhiều cơ chế khác nhau, hoạt động đơn lẻ hoặc kết hợp với các phân tử microRNA (miRNA) và các phân tử khác như một phần của các con đường trao đổi chất khác nhau. Trong những năm gần đây, một số lượng lớn các lncRNA đã được tìm thấy trong UTPKTBN và được cho là có vai trò trong di căn, xâm lấn và tăng sinh khối u [5, 6].

Biểu hiện của các lncRNA cũng được phát hiện thấy trong huyết thanh của bệnh nhân ung thư và trong các exosome được tiết ra từ tế bào ung thư [7]. Exosome là các bóng ngoại bào có đường kính 30-100 nm và có tỷ khối 1,10-1,18 g/ml [8]. Vỏ ngoài của exosome là màng lipid kép có cấu trúc tương tự như màng tế bào, bên trong có chứa nhiều thành phần bao gồm các protein bề mặt, lipid, các chất chuyển hóa và vật liệu di truyền (DNA, mRNA, lncRNA, miRNA...) đặc trưng cho loại tế bào tiết ra, do đó có thể phản ánh nguồn gốc và trạng thái sinh lý của tế bào giải phóng ra exosome [9, 10]. lncRNA trong exosome có thể do tế bào ung thư tiết ra và nhập với tế bào nhận. Giải trình tự RNA cho thấy các RNA trong exosome phản ánh các thành phần RNA nội bào và có sự khác biệt giữa tế bào bình thường và tế bào ung thư [11]. Các nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra rằng, một số lncRNA có mức độ biểu hiện thấp trong tế bào nhưng lại được làm giàu trong exosome được tiết ra. Hoặc ngược lại, một số lncRNA được thấy có biểu hiện tăng trong mô ung thư nhưng lại có biểu hiện giảm trong exosome tách từ huyết tương [12]. Điều này cho thấy, các lncRNA được đóng gói chọn lọc vào trong exosome và có thể tác động hiệu quả đến các tế bào nhận cũng như quá trình phát sinh ung thư. Do đó, các phân tử lncRNA trong exosome có tiềm năng được sử dụng như một chỉ thị sinh học ung thư không xâm lấn [13].

lncRNA UCA1 nằm ở vị trí 19p13.12 trên nhiễm sắc thể số 19 của người, có kích thước 1,4 kb bao gồm 3 exon và 2 intron với nhiều mã bộ ba kết thúc và không có khung đọc mở [14]. lncRNA UCA1 được báo cáo có vai trò thúc đẩy quá trình tăng sinh tế bào, xâm lấn và di căn xa [15]. Trong các nghiên cứu trước đây, lncRNA UCA1 đã được xác định là một chỉ thị tiên lượng cho sự di căn của ung thư bàng quang và có mối liên quan với một số dạng ung thư khác ở người như ung thư vú, đại trực tràng và ung thư phổi [16]. Các nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, biểu hiện cao quá mức của lncRNA UCA1 trong mẫu mô UTPKTBN so với các mô không ung thư lân cận làm tăng nguy cơ có tiên lượng xấu ở bệnh nhân và có mối liên quan với một số đặc điểm bệnh học của bệnh UTPKTBN [17-19]. Mặc dù vậy, vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN. Do vậy trong nghiên cứu này, chúng tôi tiến hành phân tích mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN, từ đó xác định mối liên quan giữa biểu hiện của lncRNA UCA1 với một số đặc điểm bệnh học của bệnh UTPKTBN.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Mẫu nghiên cứu gồm huyết tương của 29 bệnh nhân được chẩn đoán mắc UTPKTBN chưa trải qua điều trị, trong đó có 15 nam và 14 nữ với độ tuổi trung bình là 61,62 tuổi do Bệnh viện Phổi Trung ương cung cấp kèm các thông tin về đặc điểm bệnh học. Dựa trên chẩn đoán mô bệnh học về kích thước khối u và mức độ di căn theo phân loại khối u, hạch, di căn (TNM, trong đó: T - Tumour là khối u, N - Nodes là mức độ lan của khối u đến các hạch bạch huyết gần đó, M - Metastasis là di căn), nhóm bệnh nhân UTPKTBN được chia thành 2 nhóm: 16 bệnh nhân ở giai đoạn sớm I + II và 13 bệnh nhân ở giai đoạn muộn III + IV. Bệnh nhân đã trải qua hóa trị, xạ trị hoặc dùng thuốc điều trị không được lấy mẫu sử dụng cho nghiên cứu.

Mẫu đối chứng gồm 29 mẫu huyết tương được lấy từ người khỏe mạnh, không mắc bệnh UTPKTBN và các bệnh liên quan đến phổi (có cùng thành phần về tuổi và giới tính với bệnh nhân UTPKTBN) do Bệnh viện Đại học Quốc gia Hà Nội cung cấp.

Tất cả bệnh nhân đều được biết về mục đích và đồng ý tham gia nghiên cứu. Việc lấy mẫu được tuân theo các quy định hiện hành về đạo đức trong nghiên cứu y học.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

- Phân tách exosome từ huyết tương: 300 μ l mẫu huyết tương của mỗi bệnh nhân được ly tâm 10.000 vòng/phút trong 5 phút ở 4°C và lọc qua màng lọc 0,22 μ m (Satorius, Đức). Bổ sung 300 μ l đệm PBS pH 7,4 (đã được lọc qua màng lọc 0,22 μ m), trộn đều và tiến hành siêu ly tâm lần thứ nhất ở 120.000 vòng/phút, 4°C trong 70 phút bằng máy Optima TLX Ultracentrifuge (Beckman Coulter, Hoa Kỳ) sử dụng rotor góc cố định MLA-130. Lặp lại bước này lần thứ hai và loại bỏ dịch nổi, thu cặn exosome cho các bước tiếp theo.

- Tách chiết RNA tổng số: RNA tổng số trong exosome huyết tương được tách chiết bằng Total Exosome RNA & Protein Isolation Kit (Thermo Scientific, Hoa Kỳ) theo quy trình của nhà sản xuất. Dịch sau tách chiết được cô đặc bằng máy cô chân không (Speedvac - Thermo Scientific, Hoa Kỳ) từ thể tích 100 xuống còn 20 μ l. Nồng độ RNA tổng số được định lượng bằng đo mật độ hấp thụ ánh sáng tử ngoại của acid nucleic ở bước sóng 260 nm (A260) sử dụng máy NanoDrop 2000c (Thermo Scientific, Hoa Kỳ). Độ tinh sạch của RNA tách chiết được xác định bằng tỷ số A260/A280 trong khoảng 1,8-2,0. RNA tổng số được bảo quản ở -20°C cho đến khi sử dụng.

- Chuyển RNA thành cDNA: RNA được phiên mã ngược thành cDNA bằng bộ kit GoScript (Promega, Hoa Kỳ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Trộn 10 μ l dung dịch chứa RNA với các môi ngẫu nhiên và ủ ở 70°C trong 5 phút. Đệm phản ứng có tổng thể tích 15 μ l, bao gồm 2 μ l đệm GoScript™ x5; 0,6 μ l MgCl₂ (25 mM); 0,5 μ l PCR hỗn hợp nucleotide; 0,25 μ l chất ức chế ribonuclease tái tổ hợp; 0,5 μ l enzyme phiên mã ngược GoScript™ và nước. Chu trình nhiệt gồm gắn môi ở 25°C, 5 phút; kéo dài chuỗi ở 42°C, 60 phút; bất hoạt enzyme ở 70°C, 15 phút trước khi đưa về 20°C, 1 phút.

- Phương pháp PCR định lượng: Biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương được so sánh với biểu hiện của gen nội chuẩn β -ACTIN và được xác định bằng phương pháp PCR định lượng (qPCR) sử dụng SYBR Green làm chất phát huỳnh quang. Các cặp môi dùng cho phản ứng qPCR được thiết kế nằm giữa vị trí nối của 2 exon tương ứng với lncRNA UCA1 hoặc β -ACTIN. Trình tự các cặp môi sử dụng (IDT, Singapore) được trình bày ở bảng 1. Phản ứng khuếch đại sử dụng kit iTaq™ Universal SYBR® Green Super mix (Bio-Rad, Hoa Kỳ) với thành phần bao gồm: 5 μ l SYBR Green; 0,5 μ l mỗi xuôi; 0,5 μ l

mỗi ngược; 1 μ l cDNA (pha loãng 100 lần đối với khuôn cDNA tổng hợp từ RNA tổng số của exosome) và H₂O trong tổng thể tích 10 μ l phản ứng. Hỗn hợp phản ứng được trộn đều và chu trình nhiệt được thực hiện trên máy Realtime PCR 7500 fast (Applied Biosystems, Hoa Kỳ) với điều kiện: 95°C, 2 phút và 40 chu kỳ (95°C, 15 giây; 60°C, 30 giây). Đường cong nóng chảy được phân tích sau mỗi lần chạy để xác định độ đặc hiệu của sản phẩm. Sau khi hoàn thành phản ứng, mức độ biểu hiện của UCA1 so với β -ACTIN được xác định bằng công thức $2^{-\Delta C_t}$, trong đó $\Delta C_t = C_{t \text{ UCA1}} - C_{t \beta\text{-ACTIN}}$. Mức độ biểu hiện của UCA1 trong tế bào ung thư so với tế bào bình thường được tính bằng công thức $2^{-\Delta\Delta C_t}$ theo K.J. Livak và cs (2001) [20], trong đó $\Delta\Delta C_t = \Delta C_t$ (mẫu ung thư) - ΔC_t (mẫu đối chứng).

Bảng 1. Trình tự các cặp môi sử dụng trong phản ứng qPCR.

Tên môi	Trình tự môi (5'-3')	Kích thước sản phẩm
β -ACTIN	F - CTTAGTTGCGTTACACCTTTCTTG	156 bp
	R - CTGTCACCTTCACCGTTCCAGTTT	
UCA1	F - ACGCTAACTGGCACCTTGTT	153 bp
	R - TGGGGATTACTGGGGTAGGG	

- Xử lý số liệu và phân tích thống kê: Sử dụng các phần mềm Excel 2010, SPSS 20 và GraphPad Prism 8.4.2 để phân tích và biểu diễn số liệu theo các kiểm định thống kê thường dùng. Các biến định lượng được biểu diễn bằng trung vị kèm theo khoảng tứ phân vị 25-75%. So sánh thống kê với các biến định lượng độc lập được thực hiện bằng kiểm định Mann-Whitney U, với các biến định tính được thực hiện bằng kiểm định χ^2 hoặc Fisher. Tất cả các kiểm định thống kê được ghi nhận theo 2 chiều và được coi là khác biệt có ý nghĩa thống kê với giá trị $p < 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Đặc điểm nghiên cứu của nhóm bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ và nhóm đối chứng

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê nào được ghi nhận về độ tuổi, giới tính, thói quen hút thuốc lá hoặc uống rượu giữa nhóm bệnh nhân UTPKTBN và nhóm đối chứng ($p > 0,05$). Bên cạnh đó, không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh nhân UTPKTBN ở giai đoạn sớm (I + II) và giai đoạn muộn (III + IV) về một số đặc điểm bệnh học của ung thư phổi như kích thước khối u, giai đoạn bệnh, giai đoạn T và mức độ di căn (giai đoạn M). Chi tiết về dữ liệu của các nhóm nghiên cứu và đặc điểm lâm sàng của nhóm bệnh và đối chứng được trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Đặc điểm nghiên cứu của nhóm bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ và nhóm đối chứng.

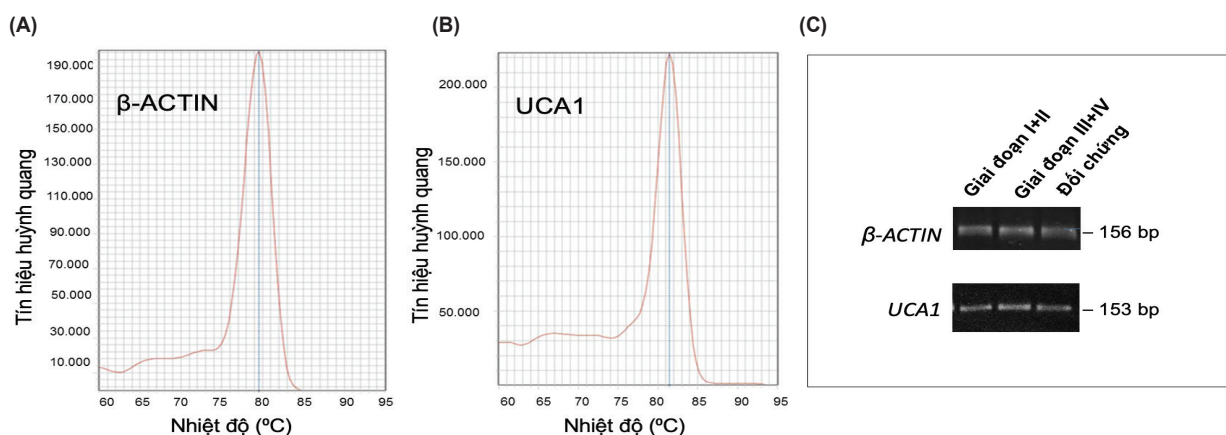
Đặc điểm	Bệnh nhân UTPKTBN (n=29)		Đối chứng (n=29)		p
	Số mẫu (n)	Tỷ lệ %	Số mẫu (n)	Tỷ lệ %	
Độ tuổi					
≤60 tuổi	12	41,38	14	48,28	0,5975
>60 tuổi	17	58,62	15	51,72	
Giới tính					
Nam	15	51,72	15	51,72	>0,999
Nữ	14	48,28	14	48,28	
Hút thuốc lá					
Có	12	41,38	8	27,59	0,2692
Không	17	58,62	21	72,41	
Uống rượu					
Có	10	34,48	9	31,03	0,7797
Không	19	65,52	20	68,97	
Kích thước u					
≤3 cm	13	44,83			
>3 cm	16	55,17			
Giai đoạn bệnh					
I + II	16	55,17			
III + IV	13	44,83			
Giai đoạn T					
I + II	16	55,17			
III + IV	13	44,83			
Giai đoạn N					
N ₀	14	48,28			
N ₁₋₃	15	51,72			
Giai đoạn M					
M ₀	20	68,97			
M ₁	9	31,03			

3.2. Biểu hiện của các RNA dài không ghi mã UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ

Mức độ biểu hiện của UCA1 trong exosome huyết tương được xác định bằng phương pháp qPCR sử dụng SYBR Green. Để xác định vùng tuyến tính và giới hạn phát hiện của mẫu, phân tích qPCR được thực hiện với các nồng độ khác nhau của cDNA (mẫu gốc không pha loãng, pha loãng 10 và 100 lần). Kết quả cho thấy, nồng độ cDNA từ exosome huyết tương thích hợp cho phản ứng qPCR là 1 µl mẫu được pha loãng 100 lần.

Phân tích đường cong nóng chảy đã xác định được nhiệt độ nóng chảy của β -ACTIN và lncRNA UCA1 tương ứng là 79,29 và 81,16 (hình 1A, 1B). Bên cạnh đó, kết quả điện di các sản phẩm PCR trên gel agarose 3% cũng cho thấy các băng thu được sáng rõ nét, đặc hiệu, không có sản phẩm phụ (hình 1C). Điều này chứng tỏ các cặp mồi đã nhân bản đặc hiệu và có thể sử dụng trong PCR định lượng với SYBR Green.

Mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 so với β -ACTIN trong mẫu nghiên cứu được phân tích thống kê dựa vào các giá trị C_t thu được (bảng 3). Kết quả cho thấy, lncRNA UCA1 có biểu hiện giảm trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN so với nhóm đối chứng ($p=0,05$). Phân tích theo giai đoạn của bệnh cho thấy, lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN giai đoạn sớm (giai đoạn I + II) thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm đối chứng ($p=0,052$) trong khi ở giai đoạn muộn (III + IV) thì không có sự khác biệt (hình 2).

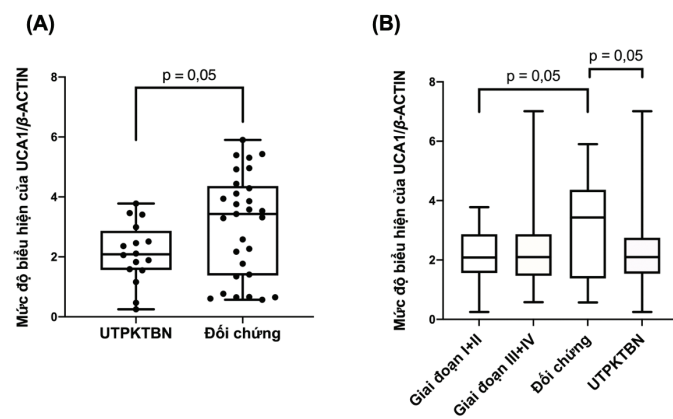


Hình 1. Đường biểu diễn nhiệt độ nóng chảy của sản phẩm khuếch đại β -ACTIN (A) và các phân tử RNA dài không ghi mã UCA1 (B) bằng qPCR trong mẫu exosome huyết tương và kết quả điện di sản phẩm qPCR trên gel agarose 3% (C).

Bảng 3. Mức độ biểu hiện của các RNA dài không ghi mã UCA1 trong exosome huyết tương của các nhóm nghiên cứu.

Nhóm nghiên cứu	Số lượng (n)	lncRNA UCA1 Me (25-75%)	p
Nhóm đối chứng	29	3,430 (1,380-4,365)	
Nhóm bệnh nhân UTPKTBN	Giai đoạn I + II	2,085 (1,560-2,870)	0,052
	Giai đoạn III + IV	2,100 (1,470-2,870)	0,237
	Giai đoạn I - IV	2,100 (1,540-2,750)	0,050

Trung vị (Me) và khoảng tứ phân vị 25-75%; p nhận được từ kiểm định Mann-Whitney U; giá trị p có ý nghĩa thống kê được in đậm.



Hình 2. Mức độ biểu hiện của các phân tử RNA dài không ghi mã UCA1 trong exosome huyết tương. (A) Biểu hiện của các phân tử RNA dài không ghi mã UCA1 của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ và đối chứng; **(B)** Biểu hiện của các phân tử RNA dài không ghi mã UCA1 của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ giai đoạn I + II, giai đoạn III + IV và nhóm đối chứng.

3.3. Mối liên quan giữa biểu hiện của các phân tử RNA dài không ghi mã UCA1 trong exosome huyết tương với một số đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ

Mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN được phân tích theo các nhóm khác nhau về độ tuổi (≤ 60 và > 60 tuổi), giới tính (nam/nữ), tình trạng hút thuốc lá (có/không), tình trạng uống rượu (có/không), kích thước u (≤ 3 cm và > 3 cm), giai đoạn bệnh (giai đoạn I + II và III + IV), mức độ xâm lấn (giai đoạn $T_1 + T_2$ so với $T_3 + T_4$), mức độ hạch (giai đoạn N_0 so với N_{1-3}) và mức độ di căn của khối u (giai đoạn M_0 so với M_1). Sử dụng giá trị trung vị mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 để chia thành 2 nhóm: nhóm có mức độ biểu hiện thấp (có giá trị thấp hơn trung vị) và nhóm có mức độ biểu hiện cao (có giá trị cao hơn trung vị). Kết quả phân tích cho thấy, mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN không phụ thuộc vào các đặc điểm bệnh học của bệnh UTPKTBN (bảng 4).

Bảng 4. Mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của các RNA dài không ghi mã UCA1 trong exosome huyết tương với một số đặc điểm bệnh học của bệnh ung thư phổi không tế bào nhỏ.

Đặc điểm	Số mẫu (n, %)	Biểu hiện thấp (dưới trung vị)	Biểu hiện cao (trên trung vị)	p
Tuổi	≤ 60 tuổi	12 (41,4%)	6 (50%)	0,876 ^a
	> 60 tuổi	17 (58,6%)	9 (52,9%)	
Giới	Nam	15 (51,7%)	7 (46,7%)	0,858 ^a
	Nữ	14 (48,3%)	7 (50%)	
Hút thuốc lá	Có	12 (41,4%)	5 (41,7%)	0,55 ^a
	Không	17 (58,6%)	9 (52,9%)	
Uống rượu	Có	10 (34,5%)	5 (50%)	1 ^b
	Không	19 (65,5%)	9 (47,4%)	
Kích thước u	≤ 3 cm	13 (46,4%)	5 (38,5%)	0,256 ^a
	> 3 cm	15 (53,6%)	9 (60%)	
Giai đoạn bệnh	I + II	16 (55,2%)	8 (50%)	0,837 ^a
	III + IV	13 (44,8%)	6 (46,2%)	
Giai đoạn T	$T_1 + T_2$	15 (51,7%)	8 (53,3%)	0,573 ^a
	$T_3 + T_4$	14 (48,3%)	6 (42,9%)	
Giai đoạn N	N_0	14 (48,3%)	8 (57,1%)	0,356 ^a
	N_{1-3}	15 (51,7%)	6 (40,0%)	
Giai đoạn M	M_0	20 (69%)	9 (45%)	0,7 ^b
	M_1	9 (31%)	5 (55,6%)	

p nhận được từ kiểm định Chi bình phương (a) và kiểm định Fisher (b).

Tế bào ung thư sử dụng nhiều cơ chế giao tiếp giữa các tế bào khác nhau để có thể thích nghi với điều kiện môi trường nội bào, kiểm soát hệ thống miễn dịch và tạo điều kiện thuận lợi cho tế bào ung thư di căn. Việc giải phóng ra các exosome là một cơ chế giao tiếp tế bào mới đã được công bố trong những năm gần đây [21]. Exosome có thể chứa nhiều dạng phân tử khác nhau như các protein, DNA, mRNA, miRNA và các lncRNA đặc trưng của tế bào tiết ra và nhập với tế bào nhận, do đó có thể trao đổi được thông tin di truyền và ngoại di truyền giữa các tế bào nằm cách xa nhau. Một số nghiên cứu chỉ ra rằng, các phân tử lncRNA do tế bào ung thư tiết ra có vai trò quan trọng và có thể truyền đến các tế bào lân cận khả năng kháng thuốc hoặc thúc đẩy sự tạo thành mạch mới, kích thích sự phát triển của khối u [21, 22].

LncRNA UCA1 là phân tử RNA dài không ghi mã được phát hiện đầu tiên năm 2006 ở ung thư bàng quang và được coi là chỉ thị cho quá trình xâm lấn và di căn xa của tế bào ung thư [23]. Ngày càng có nhiều bằng chứng cho thấy lncRNA UCA1 bị rối loạn điều hòa trong mô ung thư, trong hầu hết các trường hợp UCA1 có biểu hiện tăng trong mô ung thư so với mô lành liền kề của bệnh nhân, do đó tham gia vào tiến triển ác tính của nhiều dạng ung thư như ung thư bàng quang, ung thư vú, ung thư đại trực tràng, ung thư phổi... [15]. Đối với UTPKTBN, lncRNA UCA1 được cho là có vai trò thúc đẩy di căn và là một yếu tố tiên lượng cho sự sống cho bệnh nhân ở giai đoạn I [15]. Mặc dù vậy, biểu hiện và mối liên quan của lncRNA UCA1 với các đặc điểm bệnh học của UTPKTBN, cũng như biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương do tế bào ung thư tiết ra vẫn chưa được hiểu biết đầy đủ và cần phải tiếp tục được nghiên cứu.

Trong nghiên cứu của H.M. Wang và cs (2015) [18] trên 60 cặp mô UTPKTBN và mô liền kề không ung thư trên đối tượng bệnh nhân Trung Quốc cho thấy sự biểu hiện của lncRNA UCA1 trong các mô ung thư cao hơn so với các mô không ung thư lân cận ($p < 0,001$) và mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 có liên quan với độ mô học của khối u ($p < 0,001$) và giai đoạn TNM ($p < 0,001$). Kết quả cho thấy, không có mối liên quan giữa biểu hiện của lncRNA UCA1 với độ tuổi, giới tính hoặc kích thước khối u. Các bệnh nhân có biểu hiện lncRNA UCA1 cao hơn thì có tiên lượng sống kém hơn so với các bệnh nhân có lncRNA UCA1 biểu hiện ở mức độ thấp. lncRNA UCA1 cũng được biểu hiện tăng trong mẫu huyết tương của bệnh nhân và có mối tương quan chặt với biểu hiện của lncRNA UCA1 trong mẫu mô ung thư. Tương tự, nghiên cứu của W. Nie và cs (2016) [19] trên 112 cặp mẫu mô ung thư và mô liền kề nhóm bệnh nhân Trung Quốc cũng cho thấy biểu hiện tăng cao của lncRNA UCA1 ở mô u so với các mô bình thường liền kề ($p < 0,001$). Khác với nghiên cứu của H.M. Wang và cs (2015) [18], nghiên cứu này cho thấy biểu hiện cao của lncRNA UCA1 tương quan đáng kể với kích thước khối u ($p = 0,011$) và giai đoạn TNM ($p = 0,042$). Bên cạnh đó, X. Chen và cs (2020) [24] khi nghiên cứu trên 86 cặp mẫu mô ung thư, mô bình thường liền kề và 86 mẫu huyết tương của cùng bệnh nhân UTPKTBN người Trung Quốc cũng cho thấy lncRNA UCA1 được biểu hiện tăng trong mô ung thư so với mô bình thường liền kề. Biểu hiện tăng của lncRNA UCA1 có liên quan với kích thước khối u ($p = 0,001$) và giai đoạn TNM ($p = 0,003$) và cho tiên lượng xấu đối với bệnh nhân UTPKTBN. Nghiên cứu này chỉ ra rằng, lncRNA UCA1 là một đích tác động điều trị có tiềm năng đối với UTPKTBN.

Liên quan đến biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh UTPKTBN, cho đến nay mới chỉ có một số ít nghiên cứu đã được công bố. Nghiên cứu của X. Chen và cs (2020) [24] phát hiện thấy lncRNA UCA1 tăng biểu hiện trong nhóm bệnh nhân UTPKTBN được chẩn đoán kháng gefitinib so với nhóm dung nạp gefitinib ($p < 0,001$) và biểu hiện tăng trong cả exosome do các dòng tế bào kháng gefitinib tiết ra. lncRNA UCA1 được chứng minh ức chế biểu hiện của miR-143, do đó có thể thúc đẩy tăng sinh và chống lại chết theo chu trình của tế bào cảm ứng bởi gefitinib [24, 25]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, lncRNA UCA1 biểu hiện giảm trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN, đặc biệt là bệnh nhân giai đoạn sớm I + II. Kết quả này tương tự với nghiên cứu của C. Barbagallo và cs (2018) [12] trên đối tượng bệnh nhân ung thư đại trực tràng cũng cho thấy lncRNA UCA1 có biểu hiện giảm trong exosome tách từ huyết tương của bệnh nhân.

Lý giải cho biểu hiện giảm của các lncRNA trong exosome của bệnh nhân so với nhóm đối chứng mặc dù được coi là có vai trò quan trọng trong thúc đẩy di căn và tiến triển của khối u, nghiên cứu của G.M.G.E. Din và cs (2022) [26] về biểu hiện của lncRNA RP11-510M2.10 trong exosome cũng thấy có biểu hiện giảm trong nhóm bệnh nhân ung thư phổi so với nhóm đối chứng. Tuy nhiên, lại có sự tăng có ý nghĩa thống kê về mức độ biểu hiện của phân tử mRNA RAB27A trên nhóm bệnh nhân này. Điều này cho thấy tác động âm của phân tử lncRNA đến biểu hiện của mRNA đích, thông qua bắt cặp với mRNA đích, hoặc có thể hoạt động như một RNA cạnh tranh nội sinh và tương tác nội sinh với các phân tử miRNA. Giả thuyết khác là lncRNA này có thể ức chế biểu hiện của mRNA bằng cách gắn với các yếu tố phiên mã và RNA polymerase, hoặc hoạt động như tiền chất của miRNA và gây phân hủy mRNA. Do đó, biểu hiện tăng của lncRNA RP11-510M2.10 trong nhóm đối chứng có thể liên quan đến vai trò ức chế biểu hiện của mRNA RAB27A, do đó thúc đẩy quá trình tiết của exosome [26]. Điều này cho thấy các lncRNA được đóng gói chọn lọc vào trong exosome và có thể tác động hiệu quả đến các tế bào nhận cũng như quá trình phát sinh ung thư [13]. Tuy nhiên, các cơ chế sinh học chính xác và các con đường liên quan đến giải phóng lncRNA từ các tế bào ung thư vào tuần hoàn và trong exosome vẫn còn chưa được làm sáng tỏ.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu đã cho thấy mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân UTPKTBN giảm so với đối chứng ($p = 0,05$), đặc biệt là giảm ở giai đoạn sớm I + II so với nhóm đối chứng. Không có mối liên quan giữa mức độ biểu hiện của lncRNA UCA1 trong

exosome huyết tương với tuổi và một số đặc điểm bệnh học như kích thước u, độ mô học, mức độ xâm lấn, mức độ hạch ở bệnh nhân UTPKTBN. Nghiên cứu đã cung cấp các số liệu ban đầu về biểu hiện của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương ở bệnh nhân UTPKTBN người Việt Nam làm tiền đề cho các nghiên cứu sâu hơn về lncRNA trên nhóm bệnh nhân này.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện với sự hỗ trợ kinh phí từ đề tài cấp Đại học Quốc gia Hà Nội mã số QG.22.02. Các tác giả trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] A.E. Kornienko, P.M. Guenzl, D.P. Barlow, et al. (2013), "Gene regulation by the act of long non-coding RNA transcription", *BMC Biol.*, **11**, DOI: 10.1186/1741-7007-11-59.

[2] J. Cao (2014), "The functional role of long non-coding RNAs and epigenetics", *Biol. Proced. Online*, **16**, DOI: 10.1186/1480-9222-16-11.

[3] I.V. Novikova, S.P. Hennelly, K.Y. Sanbonmatsu (2013), "Tackling structures of long noncoding RNAs", *Int. J. Mol. Sci.*, **14**(12), pp.23672-23684, DOI: 10.3390/ijms141223672.

[4] S.W. Cheetham, F. Gruhl, J.S. Mattick, et al. (2013), "Long noncoding RNAs and the genetics of cancer", *Br. J. Cancer*, **108**(12), pp.2419-2425, DOI: 10.1038/bjc.2013.233.

[5] H. Yu, Q. Xu, F. Liu, et al. (2015), "Identification and validation of long noncoding RNA biomarkers in human non-small-cell lung carcinomas", *J. Thorac. Oncol.*, **10**(4), pp.645-654, DOI: 10.1097/JTO.0000000000000470.

[6] L.H. Schmidt, T. Spieker, S. Koschmieder, et al. (2011), "The long noncoding MALAT-1 RNA indicates a poor prognosis in non-small cell lung cancer and induces migration and tumor growth", *J. Thorac. Oncol.*, **6**(12), pp.1984-1992, DOI: 10.1097/JTO.0b013e3182307eac.

[7] F. Wu, Z. Yin, L. Yang, et al. (2019), "Smoking induced extracellular vesicles release and their distinct properties in non-small cell lung cancer", *J. Cancer*, **10**(15), pp.3435-3443, DOI: 10.7150/jca.30425.

[8] G. Raposo, W. Stoorvogel (2013), "Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends", *J. Cell Biol.*, **200**(4), pp.373-383, DOI: 10.1083/jcb.201211138.

[9] S. Keerthikumar, D. Chisanga, D. Ariyaratne, et al. (2016), "ExoCarta: A web-based compendium of exosomal cargo", *J. Mol. Biol.*, **428**(4), pp.688-692, DOI: 10.1016/j.jmb.2015.09.019.

[10] M. Pathan, P. Fonseka, S.V. Chitti, et al. (2019), "Vesiclepedia 2019: A compendium of RNA, proteins, lipids and metabolites in extracellular vesicles", *Nucleic Acids Res.*, **47**(D1), pp.D516-D519, DOI: 10.1093/nar/gky1029.

[11] U. Gezer, E. Özgür, M. Cetinkaya, et al. (2014), "Long non-coding RNAs with low expression levels in cells are enriched in secreted exosomes", *Cell Biol. Int.*, **38**(9), pp.1076-1079, DOI: 10.1002/cbin.10301.

[12] C. Barbagallo, D. Brex, A. Caponnetto, et al. (2018), "LncRNA UCA1, upregulated in CRC biopsies and downregulated in serum exosomes, controls mRNA expression by RNA-RNA interactions", *Mol. Ther. Nucleic Acids*, **12**, pp.229-241, DOI: 10.1016/j.omtn.2018.05.009.

[13] W. Zhao, Y. Liu, C. Zhang, et al. (2019), "Multiple roles of exosomal long noncoding RNAs in cancers", *Biomed Res. Int.*, **2019**, DOI: 10.1155/2019/1460572.

[14] H. Wang, Z. Guan, K. He, et al. (2017), "LncRNA UCA1 in anti-cancer drug resistance", *Oncotarget*, **8**(38), pp.64638-64650, DOI: 10.18632/oncotarget.18344.

[15] F. Li, C.P. Hu (2015), "Long non-coding RNA urothelial carcinoma associated 1 (UCA1): Insight into its role in human diseases", *Crit. Rev. Eukaryot. Gene Expr.*, **25**(3), pp.191-197, DOI: 10.1615/critrev-eukaryotgeneexpr.2015013770.

[16] M. Xue, W. Chen, X. Li (2016), "Urothelial cancer associated 1: A long noncoding RNA with a crucial role in cancer", *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **142**(7), pp.1407-1419, DOI: 10.1007/s00432-015-2042-y.

[17] X. Wang, F. Peng, L. Cheng, et al. (2017), "Prognostic and clinicopathological role of long non-coding RNA UCA1 in various carcinomas", *Oncotarget*, **8**(17), pp.28373-28384, DOI: 10.18632/oncotarget.16059.

[18] H.M. Wang, J.H. Lu, W.Y. Chen, et al. (2015), "Upregulated lncRNA-UCA1 contributes to progression of lung cancer and is closely related to clinical diagnosis as a predictive biomarker in plasma", *Int. J. Clin. Exp. Med.*, **8**(7), pp.11824-11830.

[19] W. Nie, H.J. Ge, X.Q. Yang, et al. (2016), "LncRNA-UCA1 exerts oncogenic functions in non-small cell lung cancer by targeting miR-193a-3p", *Cancer Lett.*, **371**(1), pp.99-106, DOI: 10.1016/j.canlet.2015.11.024.

[20] K.J. Livak, T.D. Schmittgen (2001), "Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-delta delta C(T)) method", *Methods*, **25**(4), pp.402-408, DOI: 10.1006/meth.2001.1262.

[21] M. Dragomir, B. Chen, G.A. Calin (2018), "Exosomal lncRNAs as new players in cell-to-cell communication", *Transl. Cancer Res.*, **7**, Suppl 2, pp.S243-S252, DOI: 10.21037/tcr.2017.10.46.

[22] D. Kołat, R. Hammouz, A.K. Bednarek, et al. (2019), "Exosomes as carriers transporting long non-coding RNAs: Molecular characteristics and their function in cancer", *Mol. Med. Rep.*, **20**(2), pp.851-862, DOI: 10.3892/mmr.2019.10340.

[23] X.S. Wang, Z. Zhang, H.C. Wang, et al. (2006), "Rapid identification of UCA1 as a very sensitive and specific unique marker for human bladder carcinoma", *Clin. Cancer Res.*, **12**(16), pp.4851-4858, DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0134.

[24] X. Chen, Z. Wang, F. Tong, et al. (2020), "LncRNA UCA1 promotes gefitinib resistance as a ceRNA to target FOSL2 by sponging miR-143 in non-small cell lung cancer", *Mol. Ther. Nucleic Acids*, **19**, pp.643-653, DOI: 10.1016/j.omtn.2019.10.047.

[25] C. Poulet, M.S. Njock, C. Moermans, et al. (2020), "Exosomal long non-coding RNAs in lung diseases", *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(10), DOI: 10.3390/ijms21103580.

[26] G.M.G.E. Din, F.K. Ibrahim, H.H. Shehata, et al. (2022), "Exosomal expression of RAB27A and its related lncRNA lnc-RNA-RP11-510M2 in lung cancer", *Arch. Physiol. Biochem.*, **128**(6), pp.1479-1485, DOI: 10.1080/13813455.2020.1778036.

Tác dụng hạ đường huyết của các cao chiết từ Rau trai (*Commelina diffusa*) trên mô hình chuột đái tháo đường

Chương Thị Ngọc Hiếu¹, Hà Quang Thanh¹, Nguyễn Hoàng Minh²,
Trịnh Minh Thiên², Mai Thành Chung³, Chung Thị Mỹ Duyên^{4*}

¹Trung tâm Công nghệ sinh học TP Hồ Chí Minh, 2374 quốc lộ 1A, khu phố 2, phường Trung Mỹ Tây, quận 12, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Trung tâm Sâm và Dược liệu TP Hồ Chí Minh, 41 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Trường Đại học Quốc tế Hồng Bàng, 215 Điện Biên Phủ, phường 15, quận Bình Thạnh, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Khoa Y học Cổ truyền, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 221B Hoàng Văn Thụ, phường 8, quận Phú Nhuận, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 31/7/2023; ngày chuyển phản biện 3/8/2023; ngày nhận phản biện 28/8/2023; ngày chấp nhận đăng 31/8/2023

Tóm tắt:

Nghiên cứu này nhằm khảo sát tác dụng ổn định đường huyết của các cao chiết từ Rau trai trên thực nghiệm dung nạp glucose và thực nghiệm gây bệnh đái tháo đường ở chuột nhắt trắng bằng streptozotocin. Chuột được gây tăng glucose máu bằng cách tiêm phúc mạc streptozotocin một liều duy nhất (170 mg/kg thể trọng chuột). Cao chiết nước, ethanol 96% và cao chiết ethanol 50% Rau trai được cho uống 7 ngày và thuốc đối chiếu glibenclamid được cho uống một lần duy nhất vào ngày thực nghiệm thứ 7. Đánh giá tác dụng hạ đường huyết thông qua định lượng nồng độ glucose trong huyết tương lúc đói và nghiệm pháp dung nạp glucose. Kết quả cao chiết ethanol 96% Rau trai ở 2 liều uống 0,21 và 0,42 g/kg thể hiện tác dụng hạ đường huyết điển hình hơn cao chiết nước (0,36 và 0,72 g/kg) và cao chiết ethanol 50% (0,49 và 0,98 g/kg) trên cả 2 thực nghiệm xác định glucose máu lúc đói và nghiệm pháp dung nạp glucose. Tác dụng hạ đường huyết của cao chiết ethanol 96% Rau trai tương đương với glibenclamid liều 5 mg/kg được đo lúc đói và tác dụng yếu hơn glibenclamid trên thực nghiệm dung nạp glucose.

Từ khóa: cao chiết Rau trai, glibenclamid, hạ đường huyết, nghiệm pháp dung nạp glucose, streptozotocin.

Chỉ số phân loại: 1.6, 3.4

Anti-hyperglycemic effect of *Commelina diffusa* extracts on diabetic mice model

Thi Ngoc Hieu Chuong¹, Quang Thanh Ha¹, Hoang Minh Nguyen², Minh Thien Trinh², Thanh Chung Mai³, Thi My Duyên Chung^{4*}

¹Biotechnology Centre of Ho Chi Minh City, 2374 National Highway 1A, Quarter 2, Trung My Tay Ward, District 12, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Research Center of Ginseng and Medicinal Materials, 41 Dinh Tien Hoang Street, Ben Nghe Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Hong Bang International University, 215 Dien Bien Phu Street, Ward 15, Binh Thanh District, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 221B Hoang Van Thu Street, Ward 8, Phu Nhuan District, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 31 July 2023; revised 28 August 2023; accepted 31 August 2023

Abstract:

This study aimed to investigate the blood glucose stabilising effect of extracts from *Commelina diffusa* Burm.f. on glucose tolerance test and diabetes test in white mice by streptozotocin. The diabetic mice were induced to hyperglycemia by intraperitoneal injection of streptozotocin in a single dose (170 mg/kg). Water extract, 96% ethanol extract, and 50% ethanol extract of *C. diffusa* were given orally for 7 days and the reference drug glibenclamide was given orally once on the 7th experimental day. The hypoglycemic effect was evaluated by quantifying fasting plasma glucose concentration and glucose tolerance test. The results of 96% ethanol extract of *C. diffusa* at two oral doses of 0.21 and 0.42 g/kg showed a more typical hypoglycemic effect than the water extract (0.36 and 0.72 g/kg) and 50% ethanol extract (0.49 and 0.98 g/kg) in both fasting blood glucose and glucose tolerance tests. The hypoglycemic effect of 96% ethanol extract of *C. diffusa* was equivalent to glibenclamide at a dose of 5 mg/kg measured in fasting state and was weaker than glibenclamide in the glucose tolerance test.

Keywords: anti-hyperglycemic, *Commelina diffusa* extracts, glibenclamide, glucose tolerance test, streptozotocin.

Classification numbers: 1.6, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: duychung.86@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Theo công bố năm 2021 của Liên đoàn Đái tháo đường Thế giới (IDF), thế giới có tới 537 triệu người mắc bệnh đái tháo đường. Tại Việt Nam, kết quả điều tra của Bộ Y tế năm 2021 cho thấy, tỷ lệ mắc đái tháo đường ở người trưởng thành ước tính là 7,1%. Đái tháo đường là một trong những căn bệnh mạn tính phổ biến gây tàn tật và tử vong sớm, đồng thời là nguyên nhân hàng đầu gây mù loà, bệnh tim mạch, suy thận và viêm loét chi phải cắt cụt [1].

Trong các cây họ Thài lài (*Commelina*), loài Rau trai thường (*Commelina communis* L.) đã được nghiên cứu về hoạt tính hạ đường huyết cả *in vitro* và *in vivo* [2]. Nghiên cứu của J.Y. Youn và cs (2004) [3] cho thấy, cây Rau trai thường có tác dụng ức chế hoạt động của α -glucosidase *in vitro* và *in vivo* trên chuột bình thường và chuột bị đái tháo đường do streptozotocin. Bên cạnh đó, loài Rau trai thường có thể làm giảm lượng đường trong máu sau khi dung nạp maltose hoặc tinh bột ở chuột bình thường và chuột đái tháo đường với hiệu quả tốt hơn so với đối chứng acarbose. Ngoài ra, Rau trai thường còn giúp cải thiện thành phần lipid, ngăn ngừa stress oxy hóa và viêm nhiễm, đồng thời bảo vệ các tế bào β của tuyến tụy khỏi bị hư hại ở chuột đái tháo đường [3]. Các kết quả này cho thấy tiềm năng điều trị đái tháo đường của cây thuộc họ Thài lài.

Đối tượng của nghiên cứu này là Rau trai (*Commelina diffusa*) hay còn gọi là Thài lài trắng hay Ấp cước thảo, là một loài cây hoang dại, mọc nhiều ở các làng quê Việt Nam [4]. Theo đông y, Rau trai có tác dụng giải nhiệt, kháng sinh, chống viêm, lợi tiểu, tiêu sưng và thường được dùng toàn cây để làm thuốc. Trong nghiên cứu gần đây của D.L. Vu và cs (2023) [5], Rau trai có tác dụng điển hình hạ đường huyết *in vitro* cụ thể là ức chế α -glucosidase và α -amylase. Hiện nay, ở Việt Nam chưa có nhiều công bố nghiên cứu về tác dụng của loài cây này trên mô hình bệnh đái tháo đường. Do đó, nghiên cứu này được tiến hành nhằm đánh giá tác dụng điều hòa đường huyết của Rau trai trên mô hình mô phỏng bệnh đái tháo đường, từ đó góp phần định hướng phát triển các sản phẩm hỗ trợ điều trị bệnh từ dược liệu này.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Cây Rau trai được thu hái vào tháng 3/2019 tại huyện Hóc Môn, TP Hồ Chí Minh, được định danh loài Rau trai có tên khoa học là *Commelina diffusa* bởi ThS Ngô Thị Minh Huyền, Bộ môn Tài nguyên Dược liệu, Trung tâm Sâm và Dược liệu TP Hồ Chí Minh. Mẫu tiêu bản số TB-032019DL được lưu giữ tại Bộ môn Tài nguyên Dược liệu, Trung tâm Sâm và Dược liệu TP Hồ Chí Minh.

Nguyên liệu sau khi hái được rửa sạch, sau đó sơ chế bằng cách cắt nhỏ, phơi khô tự nhiên, đem mẫu khô đi xay thành bột có kích thước phù hợp (qua rây 0,2 mm) và độ ẩm đạt 11,57%. Bột dược liệu được chiết nóng với nước cất tỷ lệ 1:15 ở nhiệt độ sôi trong 30 phút và lặp lại 3 lần, sau đó được cô cách thủy 60°C thu cao đặc; đối với cao còn được chiết ngâm kiệt với cô cách thủy 60°C. Các cao chiết thu được đạt chuẩn là cao đặc, có độ ẩm <20% (theo Phụ lục 1, Dược điển Việt Nam V).

2.2. Động vật thí nghiệm

Chuột nhắt trắng giống đực chủng *Swiss albino* (*Mus musculus* var *albino*) 5-6 tuần tuổi, được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế (Nha Trang, Khánh Hòa). Chuột được nuôi ở nhiệt độ phòng và cho ăn cám viên chuyên biệt dành cho chuột thí nghiệm được cung cấp bởi Viện Vắc xin và Sinh phẩm Y tế, cho uống nước đầy đủ. Chuột được nuôi ổn định trong vòng một tuần trước khi tiến hành thí nghiệm.

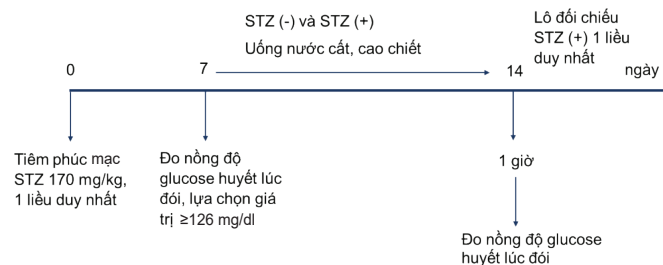
2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Mô hình chuột gây tăng đường huyết bằng streptozotocin

Chuột được gây tăng đường huyết bằng streptozotocin (pha trong đệm natri citrat pH 4,5) với một liều duy nhất 170 mg/kg thể trọng, tiêm phúc mạc (STZ+). Tỷ lệ gây chuột bị đái tháo đường thành công là 75%. Sau 7 ngày tiêm, chuột được lấy máu tĩnh mạch đuôi để đánh giá đường huyết. Những chuột có giá trị đường huyết đo lúc đói (chuột nhịn đói ít nhất 12 giờ) ≥ 126 mg/dl được lựa chọn vào thí nghiệm khảo sát tác dụng hạ đường huyết [6].

2.3.2. Thiết kế thí nghiệm

Chuột thí nghiệm được chia thành 2 nhóm với mỗi lô 6-8 con. Thể tích cho uống một lần/ngày là 10 ml/kg thể trọng chuột. Nhóm chuột gây tăng đường huyết bằng streptozotocin (STZ+) được cho uống nước cất, cao chiết nước (0,36 và 0,72 g/kg), cao chiết ethanol 50% (0,49 và 0,98 g/kg) và cao chiết ethanol 96% (0,21 và 0,42 g/kg) từ Rau trai và lô đối chiếu (STZ+) cho uống glibenclamid liều 5 mg/kg một liều duy nhất. Cho các lô uống liên tục trong 7 ngày. Nhóm chuột bình thường (STZ-) được bố trí tương tự như trên (sơ đồ 1).



Sơ đồ 1. Thiết kế thí nghiệm gây đái tháo đường ở chuột nhắt trắng.

Chỉ tiêu đánh giá trên thực nghiệm gây tăng đường huyết bằng streptozotocin: Các lô chuột thí nghiệm được xác định nồng độ đường huyết ở 2 thời điểm: ngày đầu tiên của thí nghiệm trước khi chuột được cho uống và thời điểm ngày thứ 7 sau một giờ cho uống nước cất, các cao chiết từ Rau trai, thuốc đối chiếu.

Chỉ tiêu đánh giá trên thực nghiệm dung nạp glucose: Vào thời điểm ngày thứ 7 sau một giờ cho uống (nước cất, các cao chiết Rau trai, thuốc đối chiếu) tiến hành nghiệm pháp dung nạp glucose (cho uống dung dịch glucose liều 2 g/kg), lấy máu tĩnh mạch đuôi để xác định nồng độ đường huyết sau gây dung nạp tại thời điểm 30 phút, riêng đối với nhóm (STZ+) xác định nồng độ đường huyết tại thời điểm 30 và 120 phút. Nồng độ glucose trong máu chuột được xác định theo phương pháp và hướng dẫn của bộ kit GOD-PAP Human Diagnostic Ltd. Co (Đức).

2.4. Đánh giá kết quả

Các số liệu được biểu thị bằng giá trị trung bình: $M \pm SEM$ (Sai số chuẩn của giá trị trung bình) và xử lý thống kê dựa vào phép kiểm One-Way ANOVA và hậu kiểm bằng Student-Newman-Keuls test (phần mềm SigmaStat-3.5). Kết quả thử nghiệm đạt ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% khi $p < 0,05$ so với lô chứng.

3. Kết quả

3.1. Liều thử nghiệm của các cao chiết

Kết quả đánh giá độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng ($n=5$) xác định cao cồn 96% an toàn ở liều duy nhất tối đa qua kim với $D_{max}=24,51$ g/kg; xác định được liều dưới liều chết LD_0 của cao nước và cao cồn 50% lần lượt là 4,91 và 3,84 g/kg. Tham khảo từ liều sử dụng được liệu thực tế trên người, liều an toàn suy ra từ đánh giá độc tính cấp đường uống và hệ số quy đổi từ chuột sang người (Phụ lục 1, bảng 1.1 Quyết định số 141/QĐ-K2ĐT ngày 27/10/2015 của Bộ Y tế), suy ra liều thử nghiệm cho các thí nghiệm được lý trên chuột (tương đương 2,5 và 5 g được liệu) dựa trên hiệu suất chiết đã trừ ẩm (bảng 1).

Bảng 1. Liều thử nghiệm của cao chiết dựa vào hiệu suất chiết.

Mẫu	Độ ẩm (%)	Hiệu suất chiết đã trừ ẩm (%)	Liều tương đương 2,5 g được liệu (g/kg)	Liều tương đương 5,0 g được liệu (g/kg)
Cao nước	15,43 $\pm$ 0,25	14,46	0,36	0,72
Cao ethanol 50%	9,08 $\pm$ 0,09	19,61	0,49	0,98
Cao ethanol 96%	6,06 $\pm$ 0,40	8,45	0,21	0,42

3.2. Tác dụng của cao chiết Rau trai trên thực nghiệm dung nạp glucose ở chuột bình thường (STZ-)

Theo kết quả bảng 2, tại thời điểm trước dung nạp, chỉ số đường huyết giảm ở lô chuột cho uống glibenclamid, có ý nghĩa thống kê khi so với lô chứng sinh lý. Chỉ số đường huyết ở các lô chuột sau 30 phút dung nạp glucose đều tăng so với trước dung nạp. Các lô chuột cho uống cao ethanol 96% liều 0,21 và 0,42 g/kg và glibenclamid 5 mg/kg có chỉ số đường huyết giảm so với sau dung nạp, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm.

Bảng 2. Nồng độ đường huyết trên thực nghiệm dung nạp glucose ở chuột bình thường.

Lô chuột (n=6-8)	Nồng độ đường huyết (mg/dl)	
	Trước dung nạp	Sau dung nạp
Chứng sinh lý	90,60 $\pm$ 3,88	180,10 $\pm$ 11,52
Cao nước 0,36 g/kg	90,60 $\pm$ 5,29	170,30 $\pm$ 10,70
Cao nước 0,72 g/kg	91,70 $\pm$ 9,87	161,70 $\pm$ 14,45
Cao ethanol 50% 0,49 g/kg	91,60 $\pm$ 3,94	160,00 $\pm$ 12,92
Cao ethanol 50% 0,98 g/kg	92,80 $\pm$ 4,22	165,30 $\pm$ 8,86
Cao ethanol 96% 0,21 g/kg	93,80 $\pm$ 4,04	133,60 $\pm$ 12,47*
Cao ethanol 96% 0,42 g/kg	92,50 $\pm$ 3,89	128,60 $\pm$ 5,87*
Glibenclamid 5 mg/kg	61,30 $\pm$ 5,72*	106,30 $\pm$ 9,40*

*: $p < 0,05$ khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm.

3.3. Tác dụng của cao chiết Rau trai trên chuột gây tăng đường huyết bằng streptozotocin

3.3.1. Tác dụng trên nồng độ đường huyết đo lúc đói

Kết quả bảng 3 cho thấy, tại thời điểm trước khi điều trị, chỉ số đường huyết ở nhóm chuột bình thường STZ- không có khác biệt so với chứng sinh lý; ở nhóm STZ+ chỉ số đường huyết tăng, có ý nghĩa thống kê so với chứng sinh lý. Tại thời điểm sau điều trị, nhóm chuột STZ- được cho uống các cao chiết từ Rau trai có chỉ số đường huyết không khác biệt, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý; lô chuột cho uống glibenclamid liều 5 mg/kg có sự giảm đường huyết đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý. Đối với nhóm chuột STZ+, lô chuột điều trị bởi glibenclamid liều 5 mg/kg sau 7 ngày, có chỉ số đường huyết giảm, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý. Lô chuột STZ+ uống cao ethanol 96% Rau trai liều 0,21 và 0,42 g/kg sau 7 ngày uống đều có chỉ số đường huyết giảm, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và có tác dụng tương đương đối chứng glibenclamid. Cao chiết nước liều 0,36 và 0,72 g/kg, cao ethanol 50% liều 0,49 và 0,98 g/kg không thể hiện tác dụng hạ đường huyết ở thời điểm khảo sát.

Bảng 3. Tác dụng của cao chiết Rau trai trên đường huyết lúc đói của chuột.

Nhóm	Lô chuột (n=6-8)	Nồng độ đường huyết (mg/dl)	
		Trước điều trị	Sau điều trị
STZ-	Chứng sinh lý	93,30±3,46	90,60±3,88
	Cao nước 0,36 g/kg	94,60±3,69	90,60±5,29
	Cao nước 0,72 g/kg	91,90±2,41	91,70±9,87
	Cao ethanol 50% 0,49 g/kg	91,80±2,93	91,60±3,94
	Cao ethanol 50% 0,98 g/kg	91,60±3,17	92,80±4,22
	Cao ethanol 96% 0,21 g/kg	92,70±3,86	93,80±4,04
	Cao ethanol 96% 0,42 g/kg	91,40±2,90	92,50±3,89
	Glibenclamid 5 mg/kg	92,60±3,31	61,30±5,72*
STZ+	Chứng bệnh lý	157,00±14,30*	187,13±14,40*
	Cao nước 0,36 g/kg	157,25±14,90*	167,38±10,23*
	Cao nước 0,72 g/kg	161,50±17,13*	169,63±11,63*
	Cao ethanol 50% 0,49 g/kg	161,50±15,26*	152,38±13,15*
	Cao ethanol 50% 0,98 g/kg	162,50±14,84*	161,25±12,14*
	Cao ethanol 96% 0,21 g/kg	156,38±13,67*	127,63±12,69 [#]
	Cao ethanol 96% 0,42 g/kg	162,88±18,85*	104,75±9,64 [#]
	Glibenclamid 5 mg/kg	155,88±15,25*	98,88±6,31 [#]

*: p<0,05 khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm; #: p<0,05 khác biệt đạt ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý cùng thời điểm.

3.3.2. Tác dụng trên chỉ số đường huyết trong thực nghiệm dung nạp glucose

Chỉ số đường huyết tại thời điểm 30 phút sau dung nạp glucose: Kết quả bảng 4 cho thấy, giá trị đường huyết của các lô chuột bệnh lý, 2 liều cao nước và 2 liều cao ethanol 50% đều tăng và có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý. Các lô chuột STZ+ cho uống cao chiết ethanol 96% liều 0,42 g/kg và glibenclamid liều 5 mg/kg có giá trị đường huyết thấp, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý và không khác biệt so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm.

Chỉ số đường huyết tại thời điểm 120 phút sau dung nạp glucose: Các lô bệnh lý, cao nước 0,36 và 0,72 g/kg, cao ethanol 50% liều 0,49 và 0,98 g/kg (bảng 4) cho thấy, chỉ số đường huyết đều tăng, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô sinh lý. Lô chuột STZ+ cho uống cao chiết ethanol 96% ở cả 2 liều 0,21 và 0,42 g/kg và lô đối chứng glibenclamid liều 5 mg/kg có chỉ số đường huyết thấp, có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý nhưng không khác biệt so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm.

Bảng 4. Tác dụng của cao chiết Rau trai trên thực nghiệm dung nạp glucose ở chuột gây tăng đường huyết bằng STZ (STZ+).

Lô chuột (n=6-8)	Nồng độ đường huyết (mg/dl)	
	Sau dung nạp 30 phút	Sau dung nạp 120 phút
Chứng sinh lý	180,10±11,52	116,00±3,64
Chứng bệnh lý	259,25±12,21*	204,88±13,34*
Cao nước 0,36 g/kg	229,50±17,57*	172,5±14,96*
Cao nước 0,72 g/kg	239,00±20,36*	170,75±14,25*
Cao ethanol 50% 0,49 g/kg	252,88±14,18*	164,75±14,23*
Cao ethanol 50% 0,98 g/kg	211,63±19,82*	176,38±9,32*
Cao ethanol 96% 0,21 g/kg	215,50±19,37	140,5±12,14 [#]
Cao ethanol 96% 0,42 g/kg	186,00±13,38 [#]	136,5±13,01 [#]
Glibenclamid	171,00±11,91 [#]	122,88±4,71 [#]

*: p<0,05 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng sinh lý cùng thời điểm; #: p<0,05 khác biệt có ý nghĩa thống kê so với lô chứng bệnh lý cùng thời điểm.

4. Bàn luận

Streptozotocin là hỗn hợp của alpha và beta stereoisomer thuộc nhóm các tác nhân alkyl hóa đặc biệt gọi là glucosamin nitrosourea. Streptozotocin có cấu trúc tương tự như glucose và được vận chuyển vào tế bào beta bởi các protein vận chuyển glucose GLUT2. Thực nghiệm này nhằm tạo mô hình đái tháo đường do streptozotocin phá hủy tế bào beta tụy bằng cách alkyl hóa DNA, protein, làm sản sinh nitric oxit, tăng lượng gốc oxy hóa tự do dẫn đến sự tổn thương oxy hóa tế bào beta và ảnh hưởng sự sản xuất insulin. Do đó, liệu pháp chống oxy hóa đã được khuyến cáo là cách tiếp cận hữu hiệu để ngăn ngừa biến chứng đái tháo đường và các bệnh liên quan. Các tổn thương do sự oxy hóa gây ra ở bệnh nhân đái tháo đường có thể được cải thiện nhờ các chất chống oxy hóa [7]. M. Shibano và cs (2008) [2] đã nghiên cứu cao ethanol 70% chiết từ Rau trai chứa chủ yếu 11 flavonoid glycosid như: isoquercitrin, isorhamnetin-3-O-rutinosid, isorhamnetin-3-O-beta-d-glucosid, glucoluteolin, chrysoriol-7-O-beta-d-glucosid, orientin, vitexin, isoorientin, isovitexin, swertisin và flavocommelin, là những chất chống oxy hóa. Dịch chiết methanol chứa hàm lượng phenolic tổng số là 18,53 mg GAE (tương đương axit gallic/mg dịch chiết) và flavonoid 1,99 mg CE (tương đương catechin/mg) [8, 9].

Nghiên cứu của A.Y. Mensah và cs (2014) [10] cho thấy, dịch chiết ethanol Rau trai có hiệu quả loại bỏ gốc tự do DPPH mạnh với IC₅₀ là 11,35 µg/ml, tổng hàm lượng phenolic là 193,7 mg/g dịch chiết tính theo đương lượng axit tannic và tổng khả năng chống oxy hóa là 130,5 mg/g (tương đương axit ascorbic). Các flavonoid đã được chứng minh khả năng bảo vệ tế bào beta bằng cách ức chế những thay đổi trong biểu hiện gen như tăng cường biểu hiện có liên quan đến hoạt động của các gen pro-apoptotic (ví dụ, caspase) và các gen anti-apoptotic (ví dụ: Bcl-2 protein) những gen có liên quan mật thiết tới ngộ độc glucose, béo phì và stress oxy hóa mãn

tính ở bệnh đái tháo đường [11]. Ngoài tác dụng chống oxy hóa, flavonoid có thể tác động lên các tác nhân sinh học liên quan đến đái tháo đường tuýp 2 như ức chế α -glucosidase và DPP-4. Nghiên cứu của D.L. Vu và cs (2023) [5] cho thấy, Rau trai có tác dụng điển hình hạ đường huyết *in vitro*. Cụ thể, hợp chất phân lập từ Rau trai có nồng độ ức chế IC_{50} là $61,37 \pm 0,83 \mu M$ trong thí nghiệm α -glucosidase và $38,23 \pm 1,04 \mu M$ trong thí nghiệm α -amylase, cao hơn nhiều so với đối chứng dương (acarbose, IC_{50} tương ứng là $210,43 \pm 2,78$ và $129,19 \pm 3,13 \mu M$) [5].

Bên cạnh đó, alkaloid cũng là nhóm hợp chất được giới thiệu như một tác nhân chống đái tháo đường có trong tự nhiên. Trong lá Rau trai chứa nhiều hợp chất phenolic và các chất chuyển hóa thứ cấp như đường khử, alkaloid, phytosterol, flavonoid và triterpenoid [9, 10]. Các alkaloid như aconitin, anisodamin, charantin, leurosine cho thấy tác dụng chống đái tháo đường [12]. Ngoài ra, nghiên cứu trên chuột cống trắng Sprague Dawley bị tăng đường huyết do streptozotocin, nếu cho ăn chế độ có bổ sung 10% phần trên mặt đất khô của cây Rau trai thì glucose máu giảm (kết quả có ý nghĩa thống kê). Khi theo dõi các thông số cholesterol huyết tương, glucose máu và glucose niệu thì thấy giảm lượng glucose máu, cholesterol không thay đổi và glucose niệu âm tính vào tuần thứ 4 điều trị [4]. Kết quả tác dụng hạ glucose máu của dược liệu khô tương tự với kết quả nghiên cứu này, là cao chiết ethanol 96% ở cả 2 liều đều thể hiện tác dụng hạ đường huyết điển hình và tương đương với thuốc đối chiếu glibenclamid. Thực nghiệm dung nạp glucose được sử dụng để khảo sát tác dụng của các cao chiết trên sự đáp ứng của mô, tế bào với insulin, dẫn đến làm tăng khả năng sử dụng và hấp thụ glucose. Thực nghiệm dung nạp glucose được thực hiện trên 2 nhóm chuột có đường huyết bình thường (normoglycemia) và chuột đái tháo đường gây bởi streptozotocin. Sau 7 ngày điều trị, khả năng dung nạp glucose chỉ thể hiện ở lô chuột uống mẫu thử cao chiết ethanol 96% liều 0,21 và 0,42 g/kg. Kết quả chứng tỏ những hoạt chất có trong cao chiết ethanol 96% có thể có tác dụng trung hòa các gốc tự do trong máu, giảm các tác nhân tấn công tế bào β đảo tụy, giúp các tế bào này phục hồi khả năng tiết insulin, làm tăng đáp ứng của mô, tế bào với insulin, từ đó giúp giảm lượng đường trong máu. Những kết quả của nghiên cứu này góp phần định hướng những nghiên cứu tiếp theo về đánh giá độc tính trường diễn, tác dụng hạ đường huyết trên mô hình đái tháo đường tuýp 1 được thực hiện trên cao chiết ethanol 96% Rau trai với mục tiêu tạo ra sản phẩm thương mại chăm sóc sức khỏe người bệnh đái tháo đường.

5. Kết luận

Cao chiết ethanol 96% từ Rau trai (*Commelina diffusa*) ở 2 liều thử nghiệm là 0,21 và 0,42 g/kg (tương đương với 2,5 và 5 g dược liệu) đã thể hiện tác dụng hạ đường huyết trên cả 2 thực nghiệm xác định glucose huyết lúc đói và trong nghiệm pháp dung nạp glucose. Tác dụng hạ đường huyết tương đương với glibenclamid liều 5 mg/kg ở giá trị

đường huyết được đo lúc đói và yếu hơn glibenclamid trên thực nghiệm dung nạp glucose. Các cao chiết nước ở 2 liều 0,36 và 0,72 g/kg và cao chiết ethanol 50% liều 0,49 và 0,98 g/kg chưa thể hiện tác dụng trên giá trị đường huyết ở chuột.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin trân trọng cảm ơn Trung tâm Sâm và Dược liệu TP Hồ Chí Minh và Viện Dược liệu đã cấp kinh phí để thực hiện nghiên cứu này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Ministry of Health of Vietnam (2022), *Decision No. 2558/QĐ-BYT dated 20 September 2022 on Guidelines for Diagnosis, Treatment and Management of Diabetic Retinopathy* (in Vietnamese).
- [2] M. Shibano, K. Kakutani, M. Taniguchi, et al. (2008), "Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their α -glucosidase-inhibitory activity", *Journal of Natural Medicines*, **62**(3), pp.349-353, DOI: 10.1007/s11418-008-0244-1.
- [3] J.Y. Youn, H.Y. Park, K.H. Cho (2004), "Anti-hyperglycemic activity of *Commelina communis* L.: Inhibition of α -glucosidase", *Diabetes Research and Clinical Practice*, **66**, pp.s149-s155, DOI: 10.1016/j.diabres.2003.08.015.
- [4] National Institute of Medicinal Materials (2006), *Medicinal Plants and Medicinal Animals in Vietnam*, Science and Technics Publishing House, **2**, pp.815-816 (in Vietnamese).
- [5] D.L. Vu, T.V.A. Nguyen, T.D. Nguyen, et al. (2023), "Anti-diabetic effect of major compounds from *Commelina diffusa*", *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, **33**, pp.657-661, DOI: 10.1007/s43450-023-00394-7.
- [6] M.T. Trinh, L.N. Nguyen, T.T.H. Nguyen (2018), "Study on the effects of the ethanol extract from *Hylocereus undatus* fruit peel on diabetic mouse model", *Ho Chi Minh City Journal of Medicine*, **22**(5), pp.109-114 (in Vietnamese).
- [7] B.L. Furman (2021), "Streptozotocin-induced diabetic models in mice and rats", *Current Protocols*, **1**(4), DOI: 10.1002/cpz1.78.
- [8] K.D. Serges, P.K.S. Laure, N.M. Legentil, et al. (2020), "Hepatoprotective and antioxidant effects of *Commelina diffusa* burm extracts on gentamicin-induced liver damage in rats", *Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, **8**(1), pp.23-31, DOI: 10.18231/j.jpbs.2020.004.
- [9] M.M. Rahman, M.A. Mannan, R.S. Nijhu, et al. (2021), "Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Commelina diffusa* Burm: An updated systematic review", *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, **10**(4), pp.53-59.
- [10] A.Y. Mensah, E.A. Mireku, A.O. Damoah, et al. (2014), "Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Commelina diffusa* (Commelinaceae)", *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, **2**(10), pp.1159-1165.
- [11] M.N. Sarian, Q.U. Ahmed, S.Z.M. So'ad, et al. (2017), "Antioxidant and antidiabetic effects of flavonoid: A structure-activity relationship-based study", *Biomed Research International*, **2017**, pp.1-14, DOI: 10.1155/2017/8386065.
- [12] W.L. Li, H.C. Zheng, J. Bukuru, et al. (2004), "Natural medicines used in the traditional Chinese medical system for therapy of diabetes mellitus", *Journal of Ethnopharmacology*, **92**(1), pp.1-21, DOI: 10.1016/j.jep.2003.12.031.

Đánh giá tác dụng hạ sốt của bài thuốc nam chữa sốt xuất huyết Dengue trên chuột nhắt trắng bị gây sốt bằng men bia

Phạm Luân Hòa An¹, Phan Lê Như Quỳnh², Hứa Hoàng Oanh^{1*}

¹Khoa Y học Cổ truyền, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 221B Hoàng Văn Thụ, phường 8, quận Phú Nhuận, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Khoa Dược, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 41 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 29/3/2023; ngày chuyển phản biện 31/3/2023; ngày nhận phản biện 10/5/2023; ngày chấp nhận đăng 17/5/2023

Tóm tắt:

Đặc điểm của sốt xuất huyết Dengue là sốt, xuất huyết và thoát huyết tương, có thể dẫn đến sốc giảm thể tích tuần hoàn, rối loạn đông máu, suy tạng, nếu không được chẩn đoán sớm và xử trí kịp thời dễ dẫn đến tử vong. Qua thực tiễn lâm sàng, thuốc y học cổ truyền có tác dụng điều trị sốt xuất huyết ở mức độ sốt xuất huyết Dengue (theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới - WHO năm 2020) đạt hiệu quả cao. Bài thuốc nam (lá tre, hạ khô thảo, cỏ mực, rễ tranh, trắc bá diệp, kim ngân hoa) được GS Bùi Chí Hiếu hướng dẫn điều trị trong giai đoạn sốt. Kết quả nghiên cứu cho thấy, cao chiết nước và cồn của bài thuốc có tác dụng hạ sốt trên chuột nhắt trắng bị gây sốt bằng men bia ở các liều thử nghiệm. Cao chiết nước (liều 2,8 và 1,4 mg/kg), cao chiết cồn (liều 2,45 và 4,9 mg/kg) và paracetamol liều 150 mg/kg làm giảm sốt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ($p < 0,05$).

Từ khóa: điều trị sốt xuất huyết, gây sốt chuột bằng men bia, hạ sốt, thuốc nam điều trị sốt xuất huyết.

Chỉ số phân loại: 1.6, 3.4

Antipyretic activity of the anti-Dengue herbal formula on yeast-induced pyrexia mice

Luan Hoa An Pham¹, Le Nhu Quynh Phan², Hoang Oanh Hua^{1*}

¹Faculty of Traditional Medicine, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 221B Hoang Van Thu Street, Ward 8, Phu Nhuan District, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 41 Dinh Tien Hoang Street, Ben Nghe Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 29 March 2023; revised 10 May 2023; accepted 17 May 2023

Abstract:

Dengue hemorrhagic fever is characterised by fever, hemorrhage, and plasma leakage, which can lead to hypovolemic shock, coagulation disorders, and organ failure. If not diagnosed early and treated promptly, Dengue hemorrhagic fever can easily lead to death. Through many years of practice, traditional medicine has been shown to be effective in treating Dengue fever at the level of Dengue hemorrhagic fever (according to the World Health Organization - 2020 classification). The anti-Dengue herbal formula (bamboo leaves, spica prunellae, false daisy, cogongrass, cacumen platycladi, and honeysuckle flowers) was recommended by Professor Bui Chi Hieu for treatment of the febrile phase of Dengue hemorrhagic fever. Both ethanol and water extracts exhibited significant antipyretic effects on yeast-induced pyrexia mice at all tested dose levels. The aqueous extract (at 2.8 and 1.4 g/kg body weight dose), the ethanolic extract (at 2.45 and 4.9 g/kg body weight dose), and the reference drug paracetamol (150 mg/kg) significantly ($p < 0.05$) reduced the increased rectal temperature as compared to the control.

Keywords: anti-dengue herbal formula, anti-dengue treatment, antipyretic, yeast-induced pyrexia mice.

Classification numbers: 1.6, 3.4

1. Đặt vấn đề

Theo WHO, tỷ lệ mắc bệnh sốt xuất huyết đã gia tăng đáng kể trên khắp thế giới trong những thập kỷ gần đây, với 505.430 trường hợp vào năm 2000 lên 5,2 triệu trường hợp vào năm 2019. Một số lượng lớn các trường hợp mắc bệnh sốt xuất huyết

đã được báo cáo ở châu Á: Bangladesh (101.000 ca), Malaysia (131.000 ca), Philippines (420.000 ca), Việt Nam (320.000 ca) [1]. Năm 2022, thế giới ghi nhận số ca mắc tăng so với năm 2021, nhiều nhất là tại châu Mỹ và các quốc gia châu Á, cụ thể: Lào tăng 21,5 lần, Singapore tăng 6,2 lần, Philippines tăng 3 lần, Malaysia tăng 2,4 lần. Tại Việt Nam, từ đầu năm 2022

*Tác giả liên hệ: Email: hhoanh@ump.edu.vn

đến đầu năm 2023 đã ghi nhận 314.271 trường hợp mắc, 115 trường hợp tử vong [2].

Bệnh sốt xuất huyết Dengue có biểu hiện lâm sàng đa dạng, diễn biến nhanh chóng từ nhẹ đến nặng. Bệnh thường khởi phát đột ngột và diễn biến qua 3 giai đoạn: sốt, nguy hiểm và hồi phục. Bệnh sốt xuất huyết Dengue được chia làm 3 mức độ (theo WHO năm 2009): sốt xuất huyết Dengue, sốt xuất huyết Dengue có dấu hiệu cảnh báo và sốt xuất huyết Dengue nặng [3]. Căn cứ vào biểu hiện lâm sàng, phác đồ điều trị sốt xuất huyết Dengue [4] và luận trị y học cổ truyền bài thuốc nam gồm các thành phần: lá tre 20 g, hạ khô thảo 20 g, rễ tranh 16 g, cỏ mực 16 g, trắc bá diệp 16 g, kim ngân hoa 20 g, có tiềm năng ứng dụng điều trị hạ sốt mức độ sốt xuất huyết Dengue đã có xuất huyết tương ứng với thể nhiệt táo theo y học cổ truyền [5]. Tuy nhiên, bài thuốc trên chưa được nghiên cứu đánh giá về tác dụng cũng như độc tính khi sử dụng. Vì vậy, để bổ sung cơ sở khoa học cho tác dụng của bài thuốc trên, nghiên cứu này được tiến hành để đánh giá tác dụng hạ sốt của bài thuốc trên chuột nhắt trắng gây sốt bằng men bia.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Nguyên liệu sử dụng để chiết cao [5]: lá tre (*Folium Bambusae vulgaris*) 20 g, hạ khô thảo (*Spica Prunellae*) 20 g, rễ tranh (*Rhizoma Imperatae cylindrica*) 16 g, cỏ mực (*Herba Ecliptae*) 16 g, trắc bá diệp (*Cacumen Platycladi orientalis*) 16 g, kim ngân hoa (*Flos Lonicerae*) 20 g.

Các dược liệu khô được cung cấp bởi Bệnh viện Y học Cổ truyền TP Hồ Chí Minh và đạt tiêu chuẩn cơ sở, ký hiệu mẫu: VTNC_LT 0108122022 (lá tre), VTNC_HKT 0208122022 (hạ khô thảo), VTNC_RT 0308122022 (rễ tranh), VTNC_CM 0408122022 (cỏ mực), VTNC_TB 0508122022 (trắc bá diệp), VTNC_KN 0608122022 (kim ngân hoa).

2.2. Quy trình chiết xuất cao thuốc

Chiết xuất cao nước: Cân 540 g dược liệu khô với tỷ lệ: lá tre 18,55%, hạ khô thảo 18,55%, cỏ mực 14,8%, rễ tranh 14,8%, trắc bá diệp 14,8%, kim ngân hoa 18,5% (% theo khối lượng). Rửa sạch và nấu nước 1 với 2,5 lít nước ở nhiệt độ 100°C trong 45 phút, lọc lấy cao chiết, bã còn lại nấu nước 2. Nước 2 nấu với 2,5 lít nước trong 30 phút. Lọc lấy cao chiết, bỏ bã. Gộp cao nấu lần 1 với lần 2 và cô cao bằng phương pháp đun cách thủy thành dạng cao mềm có màu nâu đen, mùi thơm nhẹ, độ ẩm 19,8% [6]. Hiệu suất chiết 13,07%.

Chiết xuất cao ethanol 40%: Cân 540 g dược liệu khô với tỷ lệ: lá tre 18,55%, hạ khô thảo 18,55%, cỏ mực 14,8%, rễ tranh 14,8%, trắc bá diệp 14,8%, kim ngân hoa 18,5% (% theo khối lượng). Rửa sạch, phơi khô và tán bột mịn. Chiết ngâm kiệt dược liệu với dung môi ethanol 40% theo tỷ lệ dung môi: dược liệu là 10:1 (lít/kg). Sau 24 giờ, tiến hành rút dịch chiết và loại bỏ bã. Cô đặc dịch chiết thu hồi dung môi ethanol bằng hệ thống cô quay và đun cách thủy thành dạng cao mềm có màu

nâu đen, có mùi thơm, với hiệu suất chiết 13,76% và độ ẩm của cao thuốc là 18,01% [6].

2.3. Động vật nghiên cứu

Chuột nhắt trắng *Swiss albino* giống đực, khỏe mạnh, trọng lượng 23-25 g, do Viện Pasteur TP Hồ Chí Minh cung cấp. Chuột được cho uống nước và ăn đầy đủ thực phẩm viên trong điều kiện phòng thí nghiệm tại Khoa Y học Cổ truyền, Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh trong thời gian thử nghiệm và nuôi ổn định trước 1 tuần ở nhiệt độ phòng với chu kỳ tối/sáng: 12/12 giờ.

2.4. Hóa chất và dụng cụ

Hóa chất: Men bia (YSAM-10G, Sigma-Aldrich).

Thuốc đối chiếu: paracetamol (Hapacol 80 mg, Công ty Cổ phần Dược Hậu Giang, số lô: 080222).

Dụng cụ: bình sắc thuốc bằng sứ Gali GL-1801, bộ chiết ngâm kiệt inox 304, máy đo nhiệt độ điện tử (KTM-607).

Cân phân tích 4 số lẻ (Mettler AE), cân điện tử 2 số lẻ (Tanita KD 420).

Hệ thống cô quay Buchi CH9230-F105, bếp đun cách thủy WiseBath WB-11.

2.5. Phương pháp nghiên cứu

2.5.1. Phương pháp khảo sát độc tính cấp

Nghiên cứu độc tính cấp của thuốc thử trên chuột nhắt trắng bằng đường uống theo phương pháp Litchfield - Wilcoxon [7], hướng dẫn của WHO [8] và Thông tư hướng dẫn về thử thuốc trên lâm sàng của Bộ Y tế [9].

Cao thuốc (cao nước và cao cồn) ở dạng cao mềm được pha với từng giọt nước đến khi có thể qua được kim đầu tù để cho chuột uống.

Chuột được nuôi ổn định trong môi trường thí nghiệm 3 ngày, nhịn đói ít nhất 12 giờ trước thí nghiệm và chia thành 3 lô: lô sinh lý (n=8): chuột được cho uống nước cất; lô uống mẫu thử (n=8): chuột được cho uống cao nước; lô uống mẫu thử (n=8): chuột được cho uống cao ethanol 40%.

Cho chuột uống liều duy nhất tối đa có thể qua đường uống với thể tích tối đa 0,2 ml/10 g. Theo dõi cử động tổng quát, biểu hiện hành vi, trạng thái ăn uống, tiêu tiểu, số lượng chết của chuột trong 72 giờ. Sau 72 giờ, chuột không có dấu hiệu bất thường hoặc chết, tiếp tục theo dõi trong 14 ngày.

Ghi lại giờ cho chuột uống thuốc, giờ xuất hiện các triệu chứng khác thường. Ghi nhận số chuột chết trong từng lô. Xác định LD₅₀ theo phương pháp Karber-Behrens. Nếu không có chuột chết thì giá trị liều uống thử độc tính là Dmax. Từ LD₅₀ hoặc Dmax tìm ra liều an toàn với chuột [7]. Từ kết quả nghiên cứu độc tính cấp sẽ tính được liều thuốc thử nghiệm.

2.5.2. Kiểm chứng mô hình gây sốt bằng men bia

Men bia, có nguồn gốc từ loài nấm men *Saccharomyces cerevisiae* thường được sử dụng để gây sốt trong các nghiên

cứ được lý sàng lọc thuốc hạ sốt ở chuột [10]. Mô hình được tiến hành kiểm chứng như sau:

Chuột được nuôi ổn định trước 1 tuần. Chia ngẫu nhiên thành 4 nhóm, mỗi nhóm 10 con. Tiến hành gây sốt bằng men bia (liều 10 và 20 mg/kg, pha dạng hỗn dịch trong dung dịch nước muối sinh lý 0,9%).

Nhóm 1: Không can thiệp.

Nhóm 2: Tiêm dung dịch nước muối sinh lý 0,9%, đường tiêm dưới da vùng cổ.

Nhóm 3: Tiêm hỗn dịch men bia trong nước muối sinh lý, đường tiêm dưới da vùng cổ với liều 10 mg/kg.

Nhóm 4: Tiêm hỗn dịch men bia trong nước muối sinh lý, đường tiêm dưới da vùng cổ với liều 20 mg/kg.

Đo thân nhiệt chuột (đo trực tràng chuột) vào thời điểm 18, 19, 20, 21 và 24 giờ sau khi chuột uống thuốc.

2.5.3. Thử nghiệm tác dụng hạ sốt của cao thuốc

Phương pháp đánh giá tác dụng hạ sốt của các mẫu cao chiết trên mô hình gây sốt bằng men bia: Áp dụng phương pháp gây sốt trên chuột nhắt trắng đã được công bố trước đây [10], có sửa đổi cho phù hợp với thực tế phòng thí nghiệm.

Trước khi gây sốt, đo nhiệt độ của chuột theo đường trực tràng bằng máy đo nhiệt độ điện tử (KTM-607). Chuột thử nghiệm gây mô hình bằng cách tiêm dưới da hỗn dịch men bia (liều 20 mg/kg) trong 19 giờ (thời gian chuột bắt đầu phát sốt), chia 6 lô (n=6):

Lô 1 (lô chứng): Khi chuột sốt cho chuột uống nước cất, liều 0,1 ml/10 g.

Lô 2 (lô đối chiếu): Khi chuột sốt cho chuột uống paracetamol, liều 150 mg/kg (pha 1 gói Hapacol 80 mg với 5 ml nước cất, khuấy kỹ để phân tán thành hỗn dịch đồng nhất để cho chuột uống).

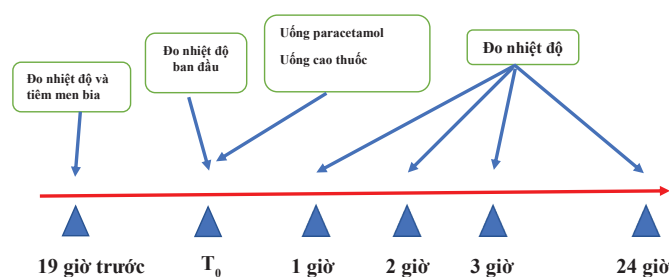
Lô 3 (cao nước liều thấp): Khi chuột sốt cho chuột uống cao nước, liều 1,4 g/kg.

Lô 4 (cao nước liều cao): Khi chuột sốt cho chuột uống cao nước, liều 2,8 g/kg.

Lô 5 (cao ethanol 40% liều thấp): Khi chuột sốt cho chuột uống cao ethanol 40%, liều 2,45 g/kg.

Lô 6 (cao ethanol 40% liều cao): Khi chuột sốt cho chuột uống cao ethanol 40%, liều 4,9 g/kg.

Đo nhiệt độ trực tràng chuột vào các thời điểm 1, 2, 3 và 24 giờ sau khi gây sốt (hình 1). Đánh giá sự thay đổi nhiệt độ (Δt) của chuột ở các lô nghiên cứu ở các thời điểm 1, 2, 3 và 24 giờ so với thời điểm ban đầu T_0 .



Hình 1. Sơ đồ thiết kế thí nghiệm đánh giá tác dụng hạ sốt của cao thuốc.

2.5.4. Phương pháp xử lý thống kê số liệu thực nghiệm

Kết quả được xử lý bằng Excel. Kết quả được biểu diễn dưới dạng Mean $\pm$ SE. Phân tích thống kê bằng phép kiểm t-student, One-Way ANOVA (hay Student-Newman-Keuls test) để đánh giá sự khác biệt giữa các lô với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$).

3. Kết quả

3.1. Khảo sát độc tính cấp

Thử nghiệm độc tính cấp của cao ethanol 40% cho thấy, kết quả liều cao nhất có thể bơm được qua kim đầu tù là 1,23 g/ml. Sau khi cho chuột uống, số chuột trong lô vẫn bảo toàn. Liều tối đa có thể qua kim (Dmax) của cao ethanol 40% là 24,6 g/kg. Liều thử nghiệm 1/5 Dmax và 1/10 Dmax lần lượt là 4,9 và 2,45 g/kg.

Tương tự, kết quả liều cao nhất của cao nước có thể bơm được qua kim đầu tù là 0,7 g. Sau khi cho chuột uống, số chuột trong lô vẫn bảo toàn. Liều tối đa có thể qua kim (Dmax) của cao nước là 14,00 g/kg. Liều thử nghiệm 1/5 Dmax và 1/10 Dmax lần lượt là 2,8 và 1,4 g/kg.

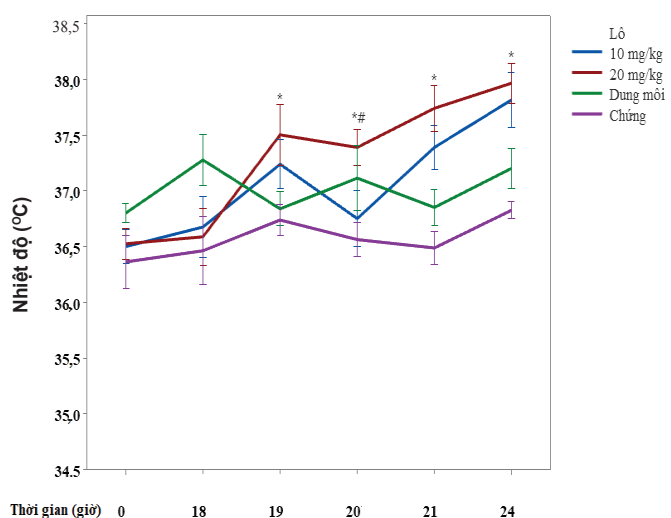
3.2. Kiểm chứng mô hình

Sau khi tiến hành gây sốt bằng men bia và theo dõi nhiệt độ của chuột ở các thời điểm 18, 19, 20, 21 và 24 giờ, kết quả thể hiện ở bảng 1 và hình 2.

Bảng 1. Kết quả kiểm chứng mô hình gây sốt bằng men bia trên chuột nhắt trắng.

Lô (n=8)	Liều thử nghiệm (mg/kg)	Nhiệt độ trung bình					
		Ban đầu	Sau 18 giờ	Sau 19 giờ	Sau 20 giờ	Sau 21 giờ	Sau 24 giờ
Chứng	-	36,36 $\pm$ 0,68	36,46 $\pm$ 0,86	36,74 $\pm$ 0,39	36,56 $\pm$ 0,44	36,49 $\pm$ 0,41	36,83 $\pm$ 0,22
Dung môi	-	36,80 $\pm$ 0,24	37,28 $\pm$ 0,65	36,84 $\pm$ 0,43	37,11 $\pm$ 0,83	36,85 $\pm$ 0,45	37,20 $\pm$ 0,52
Thử 1	10	36,50 $\pm$ 0,43	36,68 $\pm$ 0,76	37,24 $\pm$ 0,62	36,75 $\pm$ 0,71	37,39 $\pm$ 0,56*	37,81 $\pm$ 0,69*
Thử 2	20	36,53 $\pm$ 0,39	36,59 $\pm$ 0,72	37,50 $\pm$ 0,78*	37,39 $\pm$ 0,45*#	37,74 $\pm$ 0,58*	37,96 $\pm$ 0,51*

*: $p < 0,05$ so với lô chứng cùng thời điểm; #: $p < 0,05$ so với lô thử 10 mg/kg cùng thời điểm.



Hình 2. Tác dụng gây sốt giữa các lô. *: $p < 0,05$ so với lô chứng; #: $p < 0,05$ so với lô thử 10 mg/kg.

Nhiệt độ trung bình ban đầu T_0 giữa 2 lô được tiêm men bia với liều 10 và 20 mg/kg không khác nhau (kết quả có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$). Với liều 20 mg/kg tại thời điểm 19 giờ, chuột bắt đầu chênh nhiệt so với ban đầu là 1 độ và tăng dần đến 24 giờ. Liều 10 mg/kg ở mốc 20 giờ, chuột bắt đầu chênh lệch nhiệt độ với ban đầu là 1 độ và tăng dần đến 24 giờ. Tuy nhiên, liều 20 mg/kg cho thấy chuột tăng nhiệt độ ổn định và chênh lệch rõ hơn nhóm chuột tiêm liều 10 mg/kg, vì thế liều men bia được lựa chọn gây sốt cho chuột là 20 mg/kg.

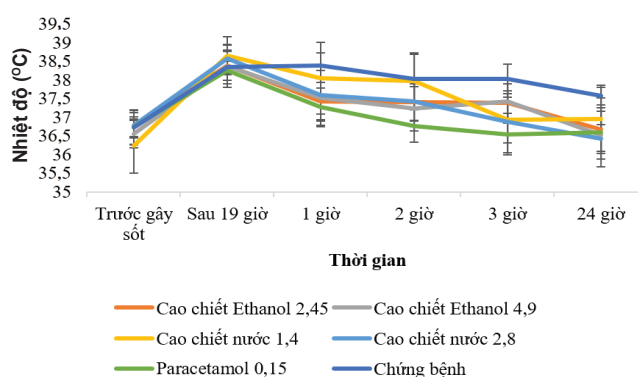
3.3. Thử nghiệm tác dụng hạ sốt của cao thuốc

Chuột thử nghiệm được gây sốt bằng cách tiêm dưới da hỗn dịch men bia 20% trong nước muối sinh lý vào sau gây chuột (liều 20 mg/kg). Sau 19 giờ (thời gian chuột bắt đầu phát sốt), chia 6 lô và cho chuột uống nước cất (lô chứng), cao thuốc (cao nước và cao ethanol 40% với các liều thử nghiệm trong bảng 2), lô đối chiếu uống paracetamol liều 150 mg/kg. Đo nhiệt độ ở hậu môn chuột tại các thời điểm 1, 2, 3 và 24 giờ sau khi uống thuốc. Kết quả được trình bày trong bảng 2 và hình 3.

Bảng 2. Kết quả đánh giá tác dụng hạ sốt của cao nước và cao ethanol 40% của bài thuốc.

Lô (n=6)	Liều thử nghiệm (g/kg)	Gây sốt		Sau điều trị			
		Trước gây sốt	Sau 19 giờ	1 giờ	2 giờ	3 giờ	24 giờ
Chứng bệnh	-	36,73±0,45	38,35±0,46	38,38±0,34	38,03±0,66	38,03±0,39	37,57±0,23
Cao ethanol 40%	2,45	36,73±0,48	38,38±0,38	37,42±0,52*	37,40±0,49*#	37,38±0,51*#	36,67±0,58*
	4,9	36,55±0,37	38,37±0,56	37,52±0,74*	37,23±0,59*	37,43±0,59*#	36,53±0,64*
Cao nước	1,4	36,23±0,73	38,65±0,51	38,05±0,97#	37,98±0,74#	36,93±0,62*	36,95±0,91*
	2,8	36,78±0,34	38,57±0,39	37,60±0,66*	37,43±0,53#	36,88±0,83*	36,42±0,39*
Paracetamol	0,15	36,75±0,27	38,25±0,25	37,27±0,52*	36,77±0,43*	36,55±0,56*	36,60±0,93*

*: $p < 0,05$ so với lô chứng bệnh cùng thời điểm; #: $p < 0,05$ so với lô paracetamol cùng thời điểm.



Hình 3. So sánh tác dụng hạ sốt giữa các lô thử nghiệm.

So với lô chứng, lô uống paracetamol 150 mg/kg có nhiệt độ trung bình khác biệt so với lô chứng ($p < 0,05$) tại các mốc 1, 2, 3 và 24 giờ sau uống thuốc.

So với lô uống paracetamol 150 mg/kg: Tại thời điểm 1 và 24 giờ sau uống thuốc, nhiệt độ của lô uống cao ethanol 40% ở mức liều 2,45 g/kg và lô uống paracetamol không khác nhau ($p > 0,05$). Ở mốc 2 và 3 giờ, lô uống cao ethanol 40% ở mức liều 2,45 g/kg có nhiệt độ trung bình khác biệt so với lô uống paracetamol ($p < 0,05$).

Tại thời điểm 1, 2 và 24 giờ sau uống thuốc, nhiệt độ của lô uống cao ethanol 40% ở mức liều 4,9 g/kg và lô uống paracetamol không khác nhau ($p > 0,05$). Ở mốc 3 giờ, lô uống cao ethanol 40% ở mức liều 4,9 g/kg có nhiệt độ trung bình khác biệt so với lô uống paracetamol ($p < 0,05$).

Tại thời điểm 3 và 24 giờ sau uống thuốc, nhiệt độ của lô uống cao nước ở mức liều 1,4 g/kg và lô uống paracetamol không khác nhau ($p > 0,05$). Ở mốc 1 và 2 giờ, lô uống cao nước ở mức liều 1,4 g/kg có nhiệt độ trung bình khác biệt so với lô uống paracetamol ($p < 0,05$).

Tại thời điểm 1, 3 và 24 giờ sau uống thuốc, nhiệt độ của lô uống cao nước ở mức liều 2,8 g/kg và lô uống paracetamol không khác nhau ($p > 0,05$). Ở mốc 2 giờ, lô uống cao nước ở mức liều 2,8 g/kg có nhiệt độ trung bình khác biệt so với lô uống paracetamol ($p < 0,05$).

4. Bàn luận

Nghiên cứu khảo sát được liều uống tối đa có thể qua kim (Dmax) không làm chết chuột thử nghiệm, không gây độc tính cấp đường uống trên chuột nhắt trắng là 14,00 và 24,60 g/kg, tương ứng với cao nước và cao ethanol 40% của bài thuốc nam. Như vậy, chuột đã uống đến liều cao nước và cao ethanol 40% tương ứng là 107,1 và 179,58 g được liệu/kg thể trọng. Đây là liều tối đa có thể dùng được bằng đường uống để đánh giá độc tính cấp của thuốc thử, nhưng không có chuột nào chết. Tiếp tục theo dõi chuột trong 14 ngày sau uống thuốc, không thấy xuất hiện triệu chứng bất thường nào, không có chuột nào chết. Qua khảo sát, chưa tìm thấy LD₅₀ của cao nước và cao ethanol 40% của bài thuốc nam theo đường uống trên chuột nhắt trắng. Với bài thuốc có liều chết LD₅₀ gấp trên 10 lần liều trị được xem là có khoảng an toàn điều trị tốt [7]. Kết quả không tìm thấy LD₅₀ cũng như không thấy biểu hiện của độc tính cấp khi cho chuột uống đến mức liều tối đa, cho thấy cao nước và cao ethanol 40% của bài thuốc nam có tính an toàn cao trong thử nghiệm đánh giá độc tính cấp trên chuột.

Sau khi khảo sát độc tính cấp đường uống của cao nước và cao ethanol 40%, nghiên cứu tiến hành khảo sát tác dụng hạ sốt của cao nước ở các liều lần lượt là 1,4 và 2,8 g/kg và cao ethanol 40% ở các liều 2,45 và 4,90 g/kg. Kết quả cho thấy, cao nước và cao ethanol 40% ở các mức liều thử nghiệm đều có tác dụng hạ sốt so với lô chứng, tác dụng này kéo dài đến 24 giờ ($p < 0,05$).

Sốt là một trong những cách chống nhiễm trùng hiệu quả nhất của cơ thể. Nhiệt độ cơ thể từ 38°C trở lên thì có thể được xem là sốt [11]. Sốt tạo ra một môi trường nhiệt độ không phù hợp cho sự tồn tại và phát triển của vi khuẩn, vi-rút... Vì vậy, sốt là một đặc điểm của hầu hết các bệnh nhiễm trùng (như cúm là nguyên nhân gây sốt phổ biến nhất). Tuy nhiên, sốt cũng xuất hiện ở một số bệnh không nhiễm trùng như: bệnh tự miễn, bệnh tự viêm, phản ứng với thuốc hoặc vắc-xin và thậm chí là một số loại ung thư [11].

Sốt do nấm men gây ra được gọi là sốt gây bệnh và cơ chế gây sốt liên quan đến việc sản xuất prostaglandin. Khi bị sốt, lượng prostaglandin E2 (PGE2) ở vùng dưới đồi tăng lên, làm tăng giá trị của điểm điều nhiệt. Khi điểm điều nhiệt đạt giá trị mới, các tế bào thần kinh ở trung tâm vận mạch sẽ bắt đầu co lại và tế bào thần kinh cảm giác độ ẩm sẽ giảm tốc độ truyền tin, đồng thời tăng sản xuất nhiệt ở vùng ngoại biên [12].

Thuốc hạ sốt là tác nhân làm giảm thân nhiệt khi sốt cao. Tác dụng hạ sốt thường được biết đến là một trong những đặc tính của thuốc kháng viêm không steroid (NSAID), do tác dụng ức chế của thuốc đối với quá trình sinh tổng hợp prostaglandin trong hệ thần kinh trung ương [12]. Cả cao nước và cao ethanol 40% của bài thuốc nam trong nghiên cứu này đều thể hiện hoạt tính hạ sốt đáng kể ($p < 0,05$) trên chuột nhắt trắng bị gây sốt do nấm men và tác dụng tương đương với thuốc hạ sốt tham chiếu (paracetamol). Cao nước liều 2,8

g/kg cho kết quả hạ sốt cao hơn so với cao ethanol 40%. Tác dụng hạ sốt của bài thuốc này được nghiên cứu trên mô hình gây sốt bằng nấm men nên có thể có liên quan đến sự ức chế tổng hợp prostaglandin [12].

5. Kết luận

Thực nghiệm cho thấy, bài thuốc nam gồm lá tre, hạ khô thảo, cỏ mực, rễ tranh, trắc bá diệp, kim ngân hoa thể hiện tác dụng hạ sốt trên chuột nhắt trắng bị gây sốt bằng men bia. Sau 24 giờ điều trị, cao nước với liều 1,4 và 2,8 g/kg, cao ethanol 40% với liều 2,45 và 4,9 g/kg đều có tác dụng hạ sốt tương đương khi so với nhóm đối chứng sử dụng paracetamol.

LỜI CẢM ƠN

Nhóm nghiên cứu xin chân thành cảm ơn Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh đã cấp kinh phí thực hiện đề tài này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] World Health Organization (2023), "Dengue and severe dengue", [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue#:~:text=Dengue%20\(break%2Dbone%20fever\),body%20aches%2C%20nausea%20and%20rash](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dengue-and-severe-dengue#:~:text=Dengue%20(break%2Dbone%20fever),body%20aches%2C%20nausea%20and%20rash), accessed 17 March 2023.
- [2] Department of Preventive Medicine (2023), "Strengthen the prevention and control of dengue fever", <https://vncdc.gov.vn/tang-cuong-cong-tac-phong-chong-benh-sot-xuat-huyet-nd17289.html>, accessed 27 March 2023 (in Vietnamese).
- [3] World Health Organization Regional Office for South-East Asia (2011), *Comprehensive Guidelines for Prevention and Control of Dengue and Dengue Haemorrhagic Fever*, World Health Organization, 196pp.
- [4] Ministry of Health (2019), *Decision No. 3705/QĐ-BYT, Decision on Promulgating Guidelines for Diagnosis and Treatment of Dengue Fever Using Traditional Medicine* (in Vietnamese).
- [5] B.C. Hieu (1990), *Disease Control and Treatment According to Traditional Medicine Combined with Modern Medicine*, Dong Nai Publishing House, 430pp (in Vietnamese).
- [6] Ministry of Health (2018), *Vietnam Pharmacopoeia V*, Medical Publishing House, 2200pp (in Vietnamese).
- [7] D.T. Dam (2014), *Method for Determining Drug Toxicity*, Medical Publishing House, 278pp (in Vietnamese).
- [8] World Health Organization (2000), *Working Group on The Safety and Efficacy of Herbal Medicine*, Report of Regional Office for The Western Pacific of The World Health Organization, pp.19-34.
- [9] Ministry of Health (2018), *Circular No. 29/2018/TT-BYT Dated 29 October 2018 on The Guidance on Clinical Drug Trials* (in Vietnamese).
- [10] R. Dangarembizi, K.H. Erlwanger, C. Rummel, et al. (2018), "Brewer's yeast is a potent inducer of fever, sickness behavior and inflammation within the brain", *Brain, Behavior, and Immunity*, **68**, pp.211-223, DOI: 10.1016/j.bbi.2017.10.019.
- [11] X.J. Yao, J.A. Yin, Y.F. Xia, et al. (2012), "Puerarin exerts antipyretic effect on lipopolysaccharide-induced fever in rats involving inhibition of pyrogen production from macrophages", *Journal of Ethnopharmacology*, **141**(1), pp.322-330, DOI: 10.1016/j.jep.2012.02.038.
- [12] C. Liu, H. Su, H. Wan, et al. (2017), "Forsythoside A exerts antipyretic effect on yeast-induced pyrexia mice via inhibiting transient receptor potential vanilloid 1 function", *International Journal of Biological Sciences*, **13**(1), pp.65-75, DOI: 10.7150/ijbs.18045.

Sàng lọc người mang đột biến gen *SRD5A2* gây thiếu hụt 5-alpha reductase 2 trên thai phụ Việt Nam

Nguyễn Thị Trang¹, Nguyễn Đoàn Trang¹, Lê Hoàng Đan¹, Lê Thị Ngọc Anh¹, Phạm Quang Anh², Ngô Toàn Anh³, Nguyễn Thanh Sáng², Hoàng Thái Thanh⁴, Hà Hữu Hào⁴, Nguyễn Đức Nhựt⁵, Đỗ Thị Huyền Trang⁶, Nguyễn Thanh Tuấn^{3*}

¹Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Dược Thái Bình, 373 Lý Bôn, phường Đề Thám, TP Thái Bình, tỉnh Thái Bình, Việt Nam

³Bệnh viện Phụ sản Trung ương, 43 Tràng Thi, phường Hàng Bông, quận Hoàn Kiếm, Hà Nội, Việt Nam

⁴Viện Công nghệ ADN và Phân tích di truyền, 112 Trung Kính, phường Yên Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

⁵Viện Pháp y Quốc gia, 41 Nguyễn Đình Chiểu, phường Lê Đại Hành, quận Hai Bà Trưng, Hà Nội, Việt Nam

⁶Phân hiệu Trường Đại học Y Hà Nội tại Thanh Hóa, 722 Quang Trung, phường Đông Vệ, TP Thanh Hóa, tỉnh Thanh Hóa, Việt Nam

Ngày nhận bài 10/4/2024; ngày chuyển phân biện 12/4/2024; ngày nhận phân biện 8/5/2024; ngày chấp nhận đăng 12/5/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu: Mô tả tỷ lệ người mang đột biến gen *SRD5A2* gây tình trạng thiếu hụt 5-alpha-reductase 2 và đặc điểm các biến thể đột biến của chúng trên thai phụ Việt Nam. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang được tiến hành trên 8.464 thai phụ tới thăm khám và đồng ý thực hiện xét nghiệm sàng lọc người mang gen liên quan tới các bệnh lý di truyền gen lặn tại Viện Công nghệ ADN và Phân tích di truyền. Tất cả thông tin về thai phụ bao gồm tuổi mẹ, tuổi thai, số lượng thai và kết quả xét nghiệm đột biến gen *SRD5A2* được thu thập. **Kết quả:** Trong 8.464 thai phụ tham gia nghiên cứu có 315 thai phụ (tương ứng 3,72%) mang đột biến gây bệnh trên gen *SRD5A2*. Đột biến c.680G>A (p.Arg227Gln) là phổ biến nhất trong số các đột biến gen *SRD5A2* được phát hiện. **Kết luận:** Tỷ lệ thai phụ mang đột biến gen *SRD5A2* là 3,72% cho thấy tình hình dịch tễ phổ biến của đột biến gen này trên thai phụ Việt Nam. Trong tương lai, việc mở rộng và phát triển các chương trình sàng lọc đột biến gen *SRD5A2* trên thai phụ Việt Nam là cần thiết.

Từ khóa: đột biến gen *SRD5A2*, thai phụ Việt Nam, thiếu hụt 5-alpha-reductase 2.

Chỉ số phân loại: 2.6, 3.1

Screening for carriers of the *SRD5A2* gene mutation 5-alpha-reductase 2 deficiency in Vietnamese pregnant women

Thi Trang Nguyen¹, Doan Trang Nguyen¹, Hoang Dan Le¹, Thi Ngoc Anh Le¹, Quang Anh Pham², Toan Anh Ngo³, Thanh Sang Nguyen², Thai Thanh Hoang⁴, Huu Hao Ha⁴, Duc Nhu Nguyen⁵, Thi Huyen Trang Do⁶, Thanh Tuan Nguyen^{3*}

¹Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

²Thai Binh University of Medicine and Pharmacy, 373 Ly Bon Street, De Tham Ward, Thai Binh City, Thai Binh Province, Vietnam

³National Hospital of Obstetrics and Gynecology, 43 Trang Thi Street, Hang Bong Ward, Hoan Kiem District, Hanoi, Vietnam

⁴Institute of DNA Technology and Genetic Analysis, 112 Trung Kinh Street, Yen Hoa Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

⁵National Institute of Forensic Medicine, 41 Nguyen Dinh Chieu Street, Le Dai Hanh Ward, Hai Ba Trung District, Hanoi, Vietnam

⁶Hanoi Medical University, Thanh Hoa Branch, 722 Quang Trung Street, Dong Ve Ward, Thanh Hoa City, Thanh Hoa Province, Vietnam

Received 10 April 2024; revised 8 May 2024; accepted 12 May 2024

Abstract:

Objective: To describe the percentage of people who carry the *SRD5A2* gene mutation causing 5-alpha-reductase 2 deficiency and the characteristics of their mutated variants in Vietnamese pregnant women. **Subjects and methods:** A cross-sectional descriptive study was conducted on 8,464 pregnant women who visited and agreed to perform a screening test for gene carriers related to recessive genetic conditions at the Institute of DNA Technology and Genetic Analysis. All information about pregnant women including maternal age, gestational age, number of pregnancies and *SRD5A2* gene mutation test results were collected. **Results:** Of 8,464 pregnant women participating in the study, 315 pregnant women (3.72%) carried pathogenic mutations on the *SRD5A2* gene. The c.680G>A mutation (p.Arg227Gln) is the most common of the *SRD5A2* gene mutations detected. **Conclusion:** The rate of pregnant women carrying *SRD5A2* gene mutations is 3.72%, indicating the high prevalence of this gene mutation in Vietnamese pregnant women. In the future, it is necessary to expand and develop *SRD5A2* gene mutation screening programs in Vietnamese pregnant women.

Keywords: *SRD5A2* gene mutation, Vietnamese pregnant women, 5-alpha-reductase 2 deficiency.

Classification numbers: 2.6, 3.1

*Tác giả liên hệ: Email: nguyenthantuanpstw@gmail.com

I. Đặt vấn đề

Thiếu hụt 5-alpha-reductase 2 là một bệnh di truyền gen lặn hiếm gặp gây ra bởi đột biến gen *SRD5A2* nằm trên nhánh ngắn của nhiễm sắc thể số 2. Đột biến này là nguyên nhân dẫn tới sự giảm sản xuất dihydrotestosterone (DHT) trong quá trình phát triển của thai nhi, từ đó dẫn tới sự khiếm khuyết ở bộ phận sinh dục ngoài và hình thành cơ quan sinh dục không rõ ràng ở trẻ nam (bộ nhiễm sắc thể 46,XY) [1]. Tình trạng này ảnh hưởng nặng nề tới sức khỏe, chức năng sinh sản cũng như gây ra các vấn đề tâm lý nặng nề cho bản thân bệnh nhân cũng như gia đình. Trên toàn cầu, dữ liệu dịch tễ học về tình trạng thiếu hụt 5-alpha-reductase còn hạn chế. Sự khan hiếm dữ liệu này có thể do đây là bệnh lý hiếm gặp và các chương trình sàng lọc, chẩn đoán hiện tại còn nhiều hạn chế: các phương pháp chẩn đoán hiện tại tốn nhiều thời gian và chỉ giúp chẩn đoán được 20-40% các trường hợp [2]. Việc phát hiện sớm tình trạng thiếu hụt 5-alpha-reductase 2 mang lại lợi ích đáng kể, giúp tránh sự chậm trễ trong xác định giới tính cho trẻ và đảm bảo điều trị kịp thời.

Tại Việt Nam, xét nghiệm sàng lọc di truyền trước sinh ứng dụng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) đã được sử dụng. Giải trình tự gen giúp xác định chính xác thai phụ có mang đột biến gen *SRD5A2* gây bệnh hay không và cung cấp thông tin cho quá trình tư vấn di truyền. Cùng với đó, việc hiểu biết rõ ràng về phổ đột biến liên quan đến đột biến gen *SRD5A2* ở dân số Việt Nam có giá trị trong việc lập kế hoạch chăm sóc chủ động trong thai kỳ cho cả thai phụ và trẻ sau khi sinh. Hiểu được tầm quan trọng của việc sàng lọc tình trạng này ở nhóm đối tượng phụ nữ mang thai, nghiên cứu này được tiến hành với mục tiêu mô tả tỷ lệ thai phụ Việt Nam mang đột biến gen *SRD5A2* và đặc điểm về các biến thể đột biến của chúng.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Tất cả các thai phụ tới khám thai tại các phòng khám sản khoa trên toàn quốc đồng ý thực hiện xét nghiệm sàng lọc người mang gen liên quan tới các bệnh lý di truyền gen lặn của Viện Công nghệ ADN và Phân tích di truyền từ tháng 1/11/2022 đến 31/8/2023.

Tiêu chuẩn lựa chọn:

- Thai phụ đồng ý tham gia nghiên cứu.
- Thai phụ có đầy đủ kết quả của xét nghiệm đột biến gen *SRD5A2* bằng xét nghiệm sàng lọc người mang gen lặn (quy trình cụ thể được trình bày tại mục 2.3).

Tiêu chuẩn loại trừ:

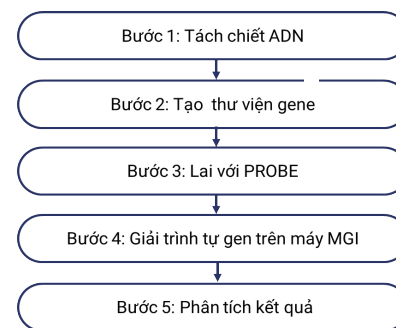
- Đối tượng không thỏa mãn một trong các tiêu chuẩn lựa chọn.
- Đối tượng tham gia không bao gồm các thai phụ xin trứng, mang thai hộ.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

2.3. Xét nghiệm sàng lọc người mang gen lặn

Xét nghiệm giải trình tự gen trên máy MGI được thực hiện tại Viện Công nghệ ADN và Phân tích di truyền. Quy trình thực hiện xét nghiệm được thể hiện ở hình 1.



Hình 1. Quy trình xét nghiệm sàng lọc người mang gen.

Cụ thể các bước tiến hành như sau:

- Bước 1: Tách chiết ADN: Xét nghiệm sử dụng bộ MikroKit của Hãng Qiagen để tách chiết ra lượng ADN vừa phải.
- Bước 2: Tạo thư viện gen: Sử dụng bộ chuẩn bị thư viện của Hãng MGI.
- Bước 3: Lai với PROBE: Gen đích được PCR để khuếch đại số lượng gen phục vụ cho giải trình tự gen.
- Bước 4: Giải trình tự chạy PE150 trên máy MGI: Các gen được khuếch đại nhờ PCR sẽ tiếp tục được giải trình tự. Bộ giải trình tự này sử dụng công nghệ DNBSEQ.
- Bước 5: Các kết quả có chỉ số quality control cận ngưỡng hoặc một trong các chỉ số kiểm tra chất lượng chưa đạt sẽ tiến hành giải trình tự Sanger để kiểm tra.

Lưu ý của xét nghiệm:

- Xét nghiệm sử dụng trong nghiên cứu có giới hạn gồm: khảo sát các đột biến gây bệnh thuộc các nhóm đột biến điểm, mất đoạn và chèn đoạn ngắn (dưới 20 nucleotide) trong vùng mã hoá và vùng lân cận intron (-20/+10 nucleotide từ exon) của các gen khảo sát; khảo sát đột biến SEA, -3.7, -4.4 trên gen alpha Thalassemia; không khảo sát các đột biến ngoài vùng mã hoá, đoạn lặp ngắn liên tục,

vùng giàu GC, vùng có trình tự tương đồng cao, gen ty thể và dạng khảm.

- Kết quả xét nghiệm “chưa phát hiện bất thường” không loại trừ khả năng người được xét nghiệm có mang gen đột biến gây bệnh nằm ngoài giới hạn xét nghiệm, không loại trừ khả năng bị bệnh do các yếu tố nằm ngoài giới hạn xét nghiệm.

2.4. Thu thập số liệu

Tất cả thông tin của thai phụ được khai thác dựa trên một mẫu bệnh án nghiên cứu thống nhất.

2.5. Xử lý số liệu

Tất cả số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm STATA 16.0. Sử dụng các thuật toán thống kê để tính các giá trị trung bình, tỷ lệ phần trăm, tần suất.

2.6. Đạo đức nghiên cứu

Tất cả các đối tượng nghiên cứu được giải thích về mục đích và nội dung của nghiên cứu rõ ràng. Quá trình thu thập thông tin chỉ được tiến hành khi có sự đồng ý của đối tượng. Thông tin thu thập chỉ được phục vụ cho mục đích của nghiên cứu không nhằm mục đích khác. Đối tượng có quyền dừng tham gia hoặc rút khỏi nghiên cứu tại bất kỳ thời điểm nào.

3. Kết quả

Trong 8.464 thai phụ tham gia nghiên cứu có 315 thai phụ (tương ứng 3,72%) mang đột biến gây bệnh trên gen *SRD5A2*. Đột biến c.680G>A (p.Arg227Gln) là phổ biến hơn cả, chiếm 94,67% trong tổng số đột biến phát hiện được của gen *SRD5A2*.

3.1. Đặc điểm chung về đối tượng nghiên cứu

Bảng 1. Đặc điểm về tuổi mang thai của thai phụ.

Nhóm tuổi	Số lượng (người)	Tỷ lệ (%)
<19 tuổi	117	1,38
19-25 tuổi	1.520	17,96
26-35 tuổi	5.515	65,16
>35 tuổi	1.312	15,5
Tổng	8.464	100
Trung bình 29,1±5,19, min =15, max =52		

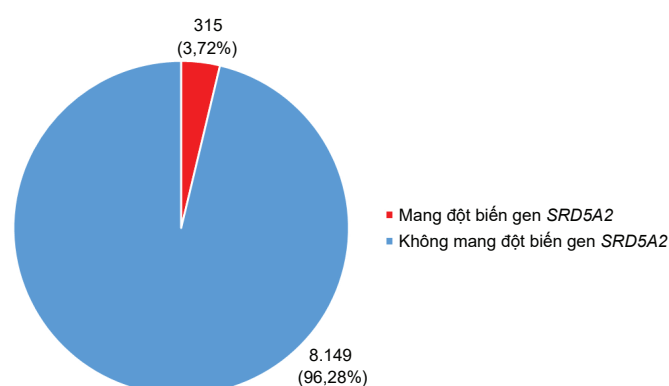
Kết quả bảng 1 cho thấy, độ tuổi trung bình tại thời điểm mang thai của thai phụ trong nghiên cứu là 29,1±5,19. Thai phụ trẻ tuổi nhất là 15 tuổi và lớn tuổi nhất là 52 tuổi. Số lượng thai phụ thuộc nhóm 26-35 tuổi thực hiện xét nghiệm là nhiều nhất (chiếm 65,16%) và số lượng thai phụ dưới 19 tuổi thực hiện xét nghiệm là ít nhất (1,38%).

Bảng 2. Đặc điểm về tuổi thai nhi tại thời điểm thai phụ thực hiện xét nghiệm.

Tuổi thai	Số lượng	Tỷ lệ (%)
<10 tuần	2.816	33,27
10-13 tuần	4.947	58,45
14-22 tuần	687	8,12
>22 tuần	14	0,16
Tổng	8.464	100%

Kết quả bảng 2 cho thấy, hầu hết thai phụ thực hiện xét nghiệm vào trước tuần thứ 10 và trong tuần thứ 10-13 của thai kỳ (lần lượt là 33,27 và 58,45%), chỉ có số lượng nhỏ thai phụ thực hiện xét nghiệm sau tuần thứ 22 của thai kỳ (0,17%).

3.2. Tỷ lệ người mang đột biến gen *SRD5A2* và đặc điểm của các biến thể đột biến gen *SRD5A2*



Biểu đồ 1. Số lượng và tỷ lệ thai phụ mang đột biến gen *SRD5A2*.

Kết quả biểu đồ 1 cho thấy, xét nghiệm được thực hiện trên 8.464 thai phụ, trong đó có 315 thai phụ được sàng lọc có mang đột biến gây bệnh trên gen *SRD5A2*, chiếm 3,72% tổng số thai phụ.

Bảng 3. Đặc điểm phân bố các loại đột biến gen *SRD5A2* trên nhóm đối tượng nghiên cứu.

Thứ tự	Loại đột biến	Biến đổi protein	Kiểu gen		Số alen	Tỷ lệ (%)	Tần suất (%)
			Đồng hợp	Dị hợp			
1	c.680G>A	p.Arg227Gln	5	292	302	94,67	1,784
2	c.737G>A	p.Arg246Gln	0	3	3	0,94	0,018
3	c.607G>A	p.Gly203Ser	0	9	9	2,82	0,053
4	c.16C>T	p.Gln6Ter	0	1	1	0,31	0,006
5	c.485A>C	p.His162Pro	0	2	2	0,63	0,012
6	c.578A>G	p.Asn193Ser	0	1	1	0,31	0,006
7	c.586G>A	p.Gly196Ser	0	1	1	0,31	0,006
Tổng			5	309	319	100%	

Kết quả bảng 3 cho thấy, qua khảo sát trên gen *SRD5A2*, có tất cả 319 alen thuộc 7 đột biến được phát hiện. Trong đó, đột biến (*SRD5A2*): c.680G>A (p.Arg227Gln) chiếm số lượng lớn với 302 alen (94,67%). Đây cũng là đột biến có tần suất gặp lớn nhất (1,784%). Đặc biệt, có 5 đột biến (*SRD5A2*): c.680G>A (p.Arg227Gln) tồn tại ở dạng đồng hợp tử.

4. Bàn luận

4.1. Đặc điểm chung về đối tượng nghiên cứu

Độ tuổi trung bình của phụ nữ có thai trong nghiên cứu là 29,1±5,19 tuổi. Thai phụ trẻ tuổi nhất là 15 tuổi và thai phụ lớn tuổi nhất là 52 tuổi. Nhóm tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là 65,16% ở độ tuổi 26-35 tuổi, tiếp theo là độ tuổi 19-25 tuổi với tỷ lệ chiếm 17,96%. Kết quả này phù hợp với đặc điểm dân số ở Việt Nam, cho thấy tính đại diện của nhóm đối tượng nghiên cứu [3]. Bên cạnh đó, hầu hết thai phụ được thực hiện xét nghiệm trước tuần thứ 14 của thai kỳ, trong đó 33,27% thai phụ thực hiện trước tuần thứ 10 và 58,45% thai phụ thực hiện trong tuần thứ 10-13 của thai kỳ. Điều này cho thấy hiện tại tại thai phụ Việt Nam đã có sự quan tâm nhất định tới các bệnh lý di truyền. Việc sàng lọc gen bệnh từ những tuần đầu của thai kỳ giúp thai phụ và gia đình nhận được sự tư vấn di truyền sớm và có kế hoạch chăm sóc hoặc can thiệp kịp thời, cũng như giảm thiểu những nguy cơ bất lợi cho thai kỳ.

4.2. Tỷ lệ người mang đột biến gen *SRD5A2* và đặc điểm của các biến thể đột biến gen *SRD5A2*

Trên thế giới, các dữ liệu dịch tễ về suy giảm 5-alpha-reductase 2 là hạn chế. Do đó, việc hiểu biết về tỷ lệ lưu hành của đột biến gen là cần thiết, giúp cung cấp thông tin cho các chương trình sàng lọc và chẩn đoán hiện tại. Trong nghiên cứu này, có 315 thai phụ mang đột biến trên gen *SRD5A2*, chiếm 3,72% tổng số thai phụ. Một nghiên cứu giải trình tự exon liên quan tới hàng loạt gen có các bệnh lý di truyền gen lặn báo cáo rằng, tỷ lệ mang đột biến gen *SRD5A2* gây bệnh trên quần thể người Việt Nam là 2,3% - thấp hơn con số ghi nhận trong nghiên cứu này [4]. Tỷ lệ này là tương đối cao, cho thấy tình trạng mang đột biến gen *SRD5A2* là phổ biến trên thai phụ Việt Nam.

Hiện nay, 169 đột biến trên gen *SRD5A2* đã được mô tả trên Human Gene Mutation Database (HGMD). Qua khảo sát trong nghiên cứu này, có 319 alen thuộc 7 đột biến trên gen *SRD5A2* đã được phát hiện. Trong đó, đột biến c.680G>A (p.Arg227Gln) có số lượng lớn hơn cả là 302 alen, chiếm 94,67% trong số các đột biến bất gặp trên gen *SRD5A2*. Đột biến này khiến sản phẩm protein có sự thay

thế acid amin tại vị trí 227 từ arginine thành glutamin và nó đã được chứng minh làm giảm đáng kể hoạt tính của enzyme steroid 5-alpha-reductase 2 [5]. Đột biến c.680G>A cũng được phát hiện trên dân số ở nhiều quốc gia như Trung Quốc, Ấn Độ, Nhật Bản, Lào... cho thấy đây là đột biến phổ biến tại châu Á [6]. Đặc biệt, tại Trung Quốc, một nghiên cứu báo cáo có 80/130 trẻ (tương ứng 61,54%) mang đột biến c.680G>A (p.Arg227Gln) [7]. Nghiên cứu này cũng cho thấy đột biến gây giảm hoạt động enzyme c.607G>A (p.Gly203Ser) là đột biến phổ biến thứ 2 sau c.680G>A (p.Arg227Gln) với 9 alen (chiếm 2,82%). Mặt khác, các vị trí được chứng minh là điểm nóng đột biến của gen *SRD5A2* là vị trí acid amin 196, 246, cũng có các đột biến tương ứng được phát hiện với tỷ lệ thấp là p.Gly196Ser (0,31%) và p.Arg246Gln (0,94%) [8]. Các đột biến khác nhau trên gen *SRD5A2* cho các biến đổi trên sản phẩm protein khác nhau và từ đó ảnh hưởng nhiều mức độ tới hoạt tính enzyme steroid 5-alpha-reductase 2. Do toàn bộ đối tượng tham gia nghiên cứu là thai phụ (tức giới tính nữ) nên hầu hết họ không chịu ảnh hưởng bởi đột biến này. Tuy nhiên, họ hoàn toàn có thể di truyền đột biến này cho con họ và điều này sẽ tiêu cực hơn nếu thai nhi của họ có giới tính nam. Trong nghiên cứu này, hầu hết các đột biến tồn tại dưới kiểu gen dị hợp tử: 309 dị hợp tử/5 đồng hợp tử. Với 5 thai phụ có kiểu gen đồng hợp tử gen đột biến, 100% thai nhi sẽ nhận được gen gây bệnh từ mẹ. Trên thực tế, khi kết quả xét nghiệm cho thấy thai phụ mang đột biến gen gây bệnh, chồng của thai phụ sẽ được tư vấn làm xét nghiệm sàng lọc người mang gen lặn để sàng lọc tình trạng mang gen bệnh nếu có. Khi chồng thai phụ cũng mang đột biến gen, nguy cơ mắc bệnh của thai nhi sẽ được tính toán và cung cấp thông tin cho quá trình tư vấn chẩn đoán tiền sinh hay sau sinh. Điều này nhấn mạnh tầm quan trọng của việc sàng lọc gen bằng các xét nghiệm di truyền phân tử cho thai phụ trước trước và trong thai kỳ giúp họ được cung cấp đầy đủ về kiến thức, nhận thức và nhận được các tư vấn di truyền phù hợp.

Trong thực tế, việc sàng lọc sớm các bệnh di truyền gen lặn cho phụ nữ mang thai mang lại ý nghĩa và lợi ích lớn. Trong trường hợp mà thai phụ có kết quả dương tính, việc kiểm tra cha của thai nhi sẽ được tiến hành để đưa ra các dự đoán sơ bộ về tình trạng sức khỏe của em bé. Nếu cha của em bé được kiểm tra kết quả dương tính, thai nhi có nguy cơ cao sẽ mắc các bệnh lý này. Đối với các thai nhi được dự đoán có nguy cơ cao mắc các rối loạn nghiêm trọng, các kế hoạch chẩn đoán với các thủ tục xâm lấn như chọc ối làm nhiễm sắc thể đồ sẽ được đưa ra nếu cần thiết. Ngược lại, đối với các thai nhi có nguy cơ thấp đến vừa phải, các kế hoạch giám sát được thiết lập trong quá trình mang thai

cho cả mẹ và em bé nhằm giảm thiểu các biến chứng trong thời kỳ mang thai, đồng thời ưu tiên hơn nữa việc sàng lọc và chẩn đoán cho trẻ ngay sau khi sinh. Việc sàng lọc sớm trong những tuần đầu của thai kỳ, đặc biệt là trong 3 tháng đầu, giúp những phụ nữ mang thai, gia đình và nhà cung cấp dịch vụ y tế ra quyết định kịp thời. Sự can thiệp sớm này đóng vai trò quan trọng trong việc giảm thiểu rủi ro bất lợi cho cả mẹ và em bé, đặc biệt là trong các trường hợp sử dụng các biện pháp xâm lấn để chẩn đoán.

Nghiên cứu được thực hiện trên số lượng thai phụ lớn, cung cấp một góc nhìn mới về tỷ lệ thai phụ mang đột biến gen *SRD5A2* tại Việt Nam, giúp giải quyết những khoảng trống trong kiến thức di truyền hiện tại và cung cấp thông tin bổ sung cho các chương trình và chính sách sàng lọc trước sinh trong tương lai. *Thứ nhất*, thông tin về tình trạng mang đột biến gen *SRD5A2* hỗ trợ các nỗ lực trong sàng lọc trẻ sơ sinh và giúp chẩn đoán các rối loạn có thể điều trị sớm trước khi triệu chứng xuất hiện. Điều này cho phép can thiệp kịp thời để giảm gánh nặng của bệnh tật đối với bệnh nhân và cải thiện kết quả sức khỏe dài hạn. *Thứ hai*, sàng lọc những người mang các đột biến gây bệnh có thể xác định các cặp vợ chồng có nguy cơ và cung cấp cơ sở cho tư vấn di truyền không chỉ cho lần mang thai này mà còn phục vụ cho các dự định mang thai tiếp theo. Nếu có thể phát huy tốt giá trị của xét nghiệm sàng lọc người mang gen thì có thể đạt được kết quả giảm gánh nặng bệnh tật của bệnh lý này trong dân số.

Nghiên cứu còn tồn tại một số hạn chế. Nghiên cứu sử dụng phương pháp chọn mẫu thuận tiện. Tuy nhiên, điều này là cần thiết do việc sử dụng công nghệ giải trình tự gen thế hệ mới khiến cho một lần xét nghiệm khá đắt và chưa phải là phương pháp phổ cập cho mọi phụ nữ mang thai trên toàn quốc. Trong tương lai, chúng tôi hy vọng có thể mở rộng phạm vi của nghiên cứu, sử dụng các xét nghiệm sàng lọc đột biến gen *SRD5A2* để sàng lọc cho nhóm đối tượng lớn hơn trên toàn quốc.

5. Kết luận

Tỷ lệ thai phụ mang đột biến gen *SRD5A2* là 3,72% cho thấy tình hình dịch tễ phổ biến của đột biến này trên thai phụ Việt Nam. Hầu hết đột biến trên gen *SRD5A2* là c.680G>A, chiếm 94,67% tổng số các đột biến phát hiện được trên gen này. Trong tương lai, việc mở rộng và phát triển các chương trình sàng lọc đột biến gen *SRD5A2* trên thai phụ Việt Nam là cần thiết.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Y.N. Song, L.J. Fan, X. Zhao, et al. (2019), "Clinical phenotype and gene analysis of 86 cases of 5 alpha reductase deficiency", *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, **57(2)**, pp.131-135, DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2019.02.013.
- [2] M. Ono, V.R. Harley (2013), "Disorders of sex development: New genes, new concepts", *Nat. Rev. Endocrinol.*, **9(2)**, pp.79-91, DOI: 10.1038/nrendo.2012.235.
- [3] The General Statistics Office of Viet Nam and the United Nations Children's Fund (2021), *Survey Measuring Viet Nam Sustainable Development Goal Indicators on Children and Women 2020-2021*, Survey Findings Report, 761pp.
- [4] N.H. Tran, T.H.N. Thi, H.S. Tang, et al. (2021), "Genetic landscape of recessive diseases in the Vietnamese population from large-scale clinical exome sequencing", *Hum. Mutat.*, **42(10)**, pp.1229-1238, DOI: 10.1002/humu.24253.
- [5] N.M. Makridakis, E.D. Salle, J.K. Reichardt (2000), "Biochemical and pharmacogenetic dissection of human steroid 5 alpha-reductase type II", *Pharmacogenetics*, **10(5)**, pp.407-413, DOI: 10.1097/00008571-200007000-00004.
- [6] L. Maimoun, P. Philibert, B. Cammas, et al. (2011), "Phenotypical, biological, and molecular heterogeneity of 5α-reductase deficiency: An extensive international experience of 55 patients", *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **96(2)**, pp.296-307, DOI: 10.1210/jc.2010-1024.
- [7] L. Fan, Y. Song, M. Polak, et al. (2020), "Clinical characteristics and genotype-phenotype correlations of 130 Chinese children in a high-homogeneity single-center cohort with 5α-reductase 2 deficiency", *Mol. Genet. Genomic. Med.*, **8(10)**, DOI: 10.1002/mgg3.1431.
- [8] R.L. Batista, B.B. Mendonca (2020), "Integrative and analytical review of the 5-alpha-reductase type 2 deficiency worldwide", *Appl. Clin. Genet.*, **13**, pp.83-96, DOI: 10.2147/TACG.S198178.

Ảnh hưởng của độ mặn và vị trí địa lý các cửa sông Mê Kông lên mật độ và sinh khối của tôm trướng *Macrobrachium equidens* Dana, 1852 (Crustacea, Palaemonidae)

Trần Thành Thái^{1,2*}, Võ Bích Xoàn³, Nguyễn Thị Mỹ Yến², Trần Thị Hoàng Yến²,
Nguyễn Xuân Đồng^{1,2}, Phạm Thanh Lưu^{1,2}, Ngô Xuân Quảng^{1,2}

¹Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 18 Hoàng Quốc Việt, phường Nghĩa Đô, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Viện Sinh học Nhiệt đới, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, 85 Trần Quốc Toàn, phường Võ Thị Sáu, quận 3, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Phân viện Nghiên cứu Thủy sản Nam Sông Hậu, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thủy sản II, 91 Phan Ngọc Hiền, phường 6, TP Cà Mau, tỉnh Cà Mau, Việt Nam

Ngày nhận bài 16/6/2023; ngày chuyển phản biện 20/6/2023; ngày nhận phản biện 5/7/2023; ngày chấp nhận đăng 12/7/2023

Tóm tắt:

Cửa sông Mê Kông là nơi sinh sản quan trọng của tôm và nhiều loài thủy sản có giá trị. Tuy nhiên, các dữ liệu khoa học về sinh thái khu hệ tôm ở các cửa sông Mê Kông gần như chưa được nghiên cứu. Do đó, mục tiêu của nghiên cứu này là phân tích, đánh giá mật độ và sinh khối của tôm trướng *Macrobrachium equidens*, là loài tôm có giá trị dinh dưỡng và kinh tế cao ở 3 cửa sông Mê Kông (Cổ Chiên, Hàm Luông và Cửa Đại), đồng thời các thông số môi trường cũng được đo đạc để đánh giá tương tác với các đặc điểm của tôm trướng. Kết quả cho thấy, tổng mật độ và sinh khối của tôm trướng ở Cửa Đại cao nhất, tiếp theo là cửa Hàm Luông và Cổ Chiên. Tuy nhiên, mật độ và sinh khối của tôm trướng không khác biệt theo cửa sông mà khác biệt theo biến thiên độ mặn. Nghiên cứu cho thấy độ mặn chi phối chủ yếu đến phân bố của tôm trướng. Nghiên cứu cung cấp dữ liệu sinh thái cơ bản về loài tôm trướng, mang lại lợi ích cho công tác bảo tồn và khai thác bền vững trong tương lai.

Từ khóa: độ mặn, Đồng bằng sông Cửu Long, ngư nghiệp, phân bố không gian, tôm nước ngọt.

Chỉ số phân loại: 2.7, 4.5, 4.6

Influence of salinity and geographical locations of Mekong river estuaries on the abundance and biomass of rough river shrimp *Macrobrachium equidens* Dana, 1852 (Crustacea, Palaemonidae)

Thanh Thai Tran^{1,2*}, Bích Xoan Võ³, Thi My Yen Nguyen², Thi Hoang Yen Tran², Xuan Dong Nguyen^{1,2},
Thanh Lưu Phạm^{1,2}, Xuân Quang Ngô^{1,2}

¹Graduate University of Science and Technology, Vietnam Academy of Science and Technology, 18 Hoang Quoc Viet Street, Nghia Do Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Institute of Tropical Biology, Vietnam Academy of Science and Technology, 85 Tran Quoc Toan Street, Vo Thi Sau Ward, District 3, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Research Sub - Institute for Nam Song Hau Fisheries, Research Institute for Aquaculture No. 2, 91 Phan Ngoc Hien Street, Ward 6, Ca Mau City, Ca Mau Province, Vietnam

Received 16 June 2023; revised 5 July 2023; accepted 12 July 2023

Abstract:

The Mekong river estuaries play a crucial role as a breeding ground for shrimp and various other valuable aquatic species. However, the scientific understanding of shrimp assemblages in this area remains limited. Therefore, the objective of this research is to investigate the density and biomass of the rough river shrimp *Macrobrachium equidens*, a highly valuable shrimp species in terms of nutrition and economy, in three Mekong river estuaries: Co Chien, Ham Luong, and Cua Dai. Additionally, environmental parameters were measured to assess their interactions with shrimp distributions. The results indicated that Cua Dai had the highest total density and biomass, followed by Ham Luong and Co Chien. However, the density and biomass of the rough river shrimp did not show significant variations among the estuaries but rather differed based on the salinity gradient. Salinity emerged as the primary factor influencing shrimp distribution. This study provides fundamental ecological data on the rough river shrimp, contributing to conservation efforts and sustainable exploitation in the future.

Keywords: fishery, freshwater shrimp, Mekong delta, salinity, spatial distribution.

Classification numbers: 2.7, 4.5, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: thanhthai.bentrect@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Tôm là nguồn thức ăn quan trọng cho người và động vật. Ngoài ra, tôm còn là một phần quan trọng trong ngành thủy sản, đóng góp vào việc tạo ra nguồn thực phẩm và thu nhập cho nhiều quốc gia [1]. Việt Nam có khoảng 41 loài tôm nước ngọt, thuộc 2 họ: Atyidae và Palaemonidae [2]. Họ tôm gai Palaemonidae rất được quan tâm nghiên cứu vì nhóm tôm này có giá trị dinh dưỡng và kinh tế cao [3]. Giống *Macrobrachium* Bates, 1868 thuộc họ tôm gai Palaemonidae, sống ở khu vực nhiệt đới và cận nhiệt đới trên khắp thế giới [4]. Có khoảng 210 loài tôm thuộc giống này đã được mô tả [5], hầu hết đều có trữ lượng và giá trị kinh tế cao [6]. Việt Nam ghi nhận 18 loài thuộc giống *Macrobrachium* phân bố ở cả môi trường nước ngọt và các khu vực ven biển [3, 7]. Các loài *M. rosenbergii*, *M. mirabile*, *M. esculentum*, *M. javanicum*, *M. sintangense*, *M. equidens*, *M. mamillodactylus*, *M. lanchesteri* và *M. idea* đã được ghi nhận ở Đồng bằng sông Cửu Long [7]. Trong đó, tôm càng xanh (*M. rosenbergii*) là loài có giá trị kinh tế cao nhất, các loài tôm khác như tôm trùn (*M. equidens*) cũng có số lượng lớn, là thực phẩm hằng ngày của người dân [3].

C.C. Ikejima và cs (2014) [8] đã chỉ ra rằng, bất kỳ sự thay đổi môi trường nào đều có khả năng phá vỡ tính bền vững và đe dọa tính đa dạng sinh học của khu hệ tôm. Khi nhiệt độ tăng sẽ làm giảm lượng oxy hòa tan, dẫn đến giảm mật độ loài *M. felicinum* và *M. lux* [9]. Ngoài ra, độ sâu cũng là một trong các yếu tố ảnh hưởng đến sự phong phú của một số loài tôm thuộc giống *Macrobrachium*. Cụ thể, độ sâu của môi trường nước ghi nhận tương quan nghịch với mật độ loài *M. macrobrachion*, *M. vollenhovenii*, *M. felicinum* và *M. lux* [10]. Nghiên cứu cho thấy, các chất dinh dưỡng (nitrate, phosphate, sulfate) có tương quan thuận với số lượng cá thể loài *M. vollenhovenii*, *M. lux* và *M. felicinum* [10]. Mặc dù các thông tin liên quan đến ảnh hưởng của các yếu tố môi trường lên các loài tôm thuộc giống *Macrobrachium* hữu ích trong quá trình nuôi nhóm tôm này, tuy nhiên, hầu hết các nghiên cứu về tôm nước ngọt là về phân loại học [11]. Các nghiên cứu về khu hệ tôm ở Việt Nam tập trung vào phân loại [12-15], nguồn lợi [16, 17], tích lũy sinh học [18], sinh học phân tử [19] và thủy sản [20]. Tuy nhiên, rất ít nghiên cứu đánh giá tương tác giữa khu hệ tôm và điều kiện môi trường.

Tôm trùn *M. equidens* Dana, 1852 là loài có phân bố rộng, được tìm thấy ở môi trường nhiệt đới và cận nhiệt đới trên toàn thế giới [21]. Loài này phân bố ở các thủy vực nước ngọt đến cửa sông, rừng ngập mặn ven biển [22], thậm chí ở các thủy vực bị ô nhiễm [5]. Tôm trùn là loài bản địa của khu vực Thái Bình Dương - Ấn Độ Dương nhưng hiện nay đang được xem là loài ngoại lai ở Brazil [21] và Tây Phi [23]. Mặc dù là loài có giá trị kinh tế, dinh dưỡng quan trọng nhưng có rất ít thông tin khoa học về sinh học,

sinh thái và phân bố của tôm trùn ở cửa sông Mê Kông nói riêng, Đồng bằng sông Cửu Long nói chung.

Cửa sông là một phần quan trọng của hệ sinh thái sông Mê Kông, nơi đây có mức độ đa dạng sinh học thủy sinh vật cao nhất trong số các dạng thủy vực khác của hệ thống sông Mê Kông vì có sự kết hợp giữa nhóm sinh vật nước ngọt, lợ và mặn [24]. Ngoài ra, cửa sông là nơi tập trung của trầm tích, chất hữu cơ từ hệ thống sông Mê Kông, đây là nguồn dinh dưỡng làm cho năng suất sinh học của vùng cửa sông Mê Kông rất cao [25]. Cho nên, nghề khai thác thủy sản, nhất là các loài tôm, cá rất phát triển và là nguồn thu nhập chính của người dân [26]. Các dữ liệu khoa học về đa dạng sinh học khu hệ cá vùng cửa sông Mê Kông rất đa dạng và phong phú [27], trong khi các nhóm thủy sinh vật khác còn ít được quan tâm nghiên cứu. Một số nhóm thủy sinh vật như quần xã tuyến trùng sống tự do [28-31], động vật không xương cỡ lớn sống đáy [32], phù du thực vật [33] vùng cửa sông Mê Kông đã bước đầu được nghiên cứu. Tuy nhiên, dữ liệu khoa học về khu hệ tôm - nhóm sinh vật có vai trò kinh tế rất quan trọng chưa được nghiên cứu đầy đủ.

Mục tiêu của nghiên cứu này là: (i) Đánh giá mật độ và sinh khối của tôm trùn ở các cửa sông Mê Kông; (ii) Đánh giá mối tương quan giữa mật độ và sinh khối tôm với một số đặc điểm môi trường.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

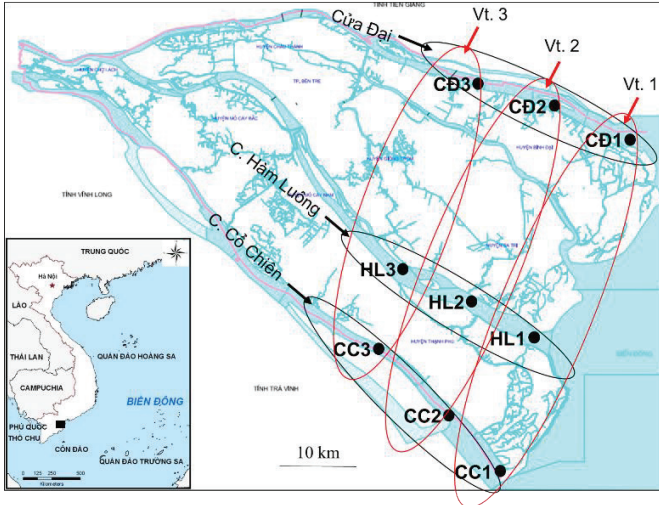
Tôm trùn *M. equidens* Dana, 1852 (Palaemonidae, Decapoda) và một số thông số môi trường nước mặt được thu thập và đo đạc tại cửa Cổ Chiên, Hàm Luông và Cửa Đại thuộc hệ thống sông Mê Kông.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Khu vực nghiên cứu: Sông Mê Kông chia làm 2 nhánh khi chảy vào Việt Nam: sông Mê Kông ở hướng bắc (sông Tiền) và sông Bassac ở hướng nam (sông Hậu). Sông Hậu đổ ra biển bằng 2 cửa: Trần Đề và Định An. Sông Tiền tiếp tục chia thành 2 nhánh: sông Cổ Chiên và sông Mỹ Tho. Sông Cổ Chiên đổ ra biển thông qua 2 cửa: Cổ Chiên và Cung Hầu, trong khi sông Mỹ Tho đổ vào biển thông qua 4 cửa: Cửa Tiểu, Cửa Đại, Ba Lai và Hàm Luông. Lưu lượng trung bình (m^3/s) của các cửa sông như sau: Trần Đề (316), Định An (650), Cổ Chiên (247), Cung Hầu (79), Cửa Tiểu (252), Cửa Đại (493) và Hàm Luông (241) [34].

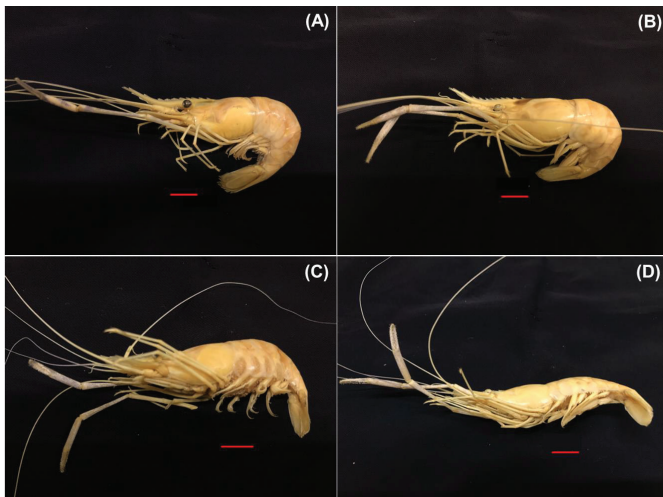
Nghiên cứu được thực hiện ở cửa Cổ Chiên, Hàm Luông và Cửa Đại. Mỗi cửa sông bố trí 3 vị trí khảo sát. Vị trí CC1, CC2, CC3 (theo thứ tự từ cửa biển vào) ở cửa Cổ Chiên; HL1, HL2, HL3 ở cửa Hàm Luông; CD1, CD2, CD3 ở Cửa Đại (hình 1). Nghiên cứu tiến hành khảo sát vào tháng 3/2022, tương ứng với mùa khô ở miền Nam Việt Nam. Mật

độ và sinh khối của tôm trứng được phân tích theo: (i) Cửa sông: Cỏ Chiên (CC1, CC2, CC3), Hàm Luông (HL1, HL2, HL3), Cửa Đại (CĐ1, CĐ2, CĐ3); (ii) Biến thiên độ mặn: Vt.1 (CC1, HL1, CĐ1), Vt.2 (CC2, HL2, CĐ2), Vt.3 (CC3, HL3, CĐ3).



Hình 1. Bản đồ khu vực nghiên cứu và các vị trí khảo sát thu mẫu tôm ở cửa sông Mê Kông.

Thu mẫu và phân tích tôm: Ngư cụ sử dụng trong các chuyến điều tra là lưới kéo đáy đơn tôm, chiều ngang miệng lưới 4 m, chiều dài 6 m, kích thước mắt lưới là 10 mm. Tại mỗi vị trí khảo sát, tiến hành đánh lặt lại 3 mẻ lưới, mỗi mẻ lưới kéo 250 m. Diện tích bề mặt đáy cho mỗi lần cào là 1.000 m² (4×250 m). Toàn bộ các cá thể tôm được thu thập và cân sinh khối. Các mẫu tôm được phân tích định loại theo: D.N. Thanh và cs (2001) [3], V.T. Nguyen và cs (2004) [7]. Các cá thể tôm trứng được phân loại thành con đực, con cái không trứng, con cái có trứng, con cái vừa thả trứng (hình 2).



Hình 2. Các nhóm tôm trứng (*M. equidens*): Con đực (A), con cái không trứng (B), con cái có trứng (C) và con cái vừa thả trứng (D). Thước tỷ lệ: 1 cm.

Đo đạc và phân tích các thông số môi trường: Đo đạc các yếu tố môi trường nước mặt ở các cửa sông Mê Kông được thực hiện đồng thời tại các vị trí khảo sát tôm. Mỗi vị trí tiến hành đo 3 lần lặp lại. Các thông số môi trường như pH, nhiệt độ (°C), ôxy hòa tan (DO, mg/l), độ mặn (‰) được đo tại hiện trường bằng máy đo đa chỉ tiêu AquaCombo HM3070, Trans Instruments (Singapore). Thu 1 lít nước tại hiện trường, bảo quản lạnh để sau đó phân tích tổng chất rắn lơ lửng (TSS, mg/l) tại phòng thí nghiệm. TSS được xác định bằng phương pháp cân trọng lượng SM 2540D [35]. Mẫu được lọc qua màng MCE Membrane Gridded (đường kính 47 mm, lỗ lọc 0,45 μm), sấy mẫu đến trọng lượng không đổi ở 110°C và cân trọng lượng.

Phân tích số liệu: Mật độ (cá thể/1.000 m²) và sinh khối (g/1.000 m²) tôm trứng được xử lý thành giá trị trung bình ± độ lệch chuẩn trong Microsoft Excel 2016. Dữ liệu được kiểm tra điều kiện về phân phối chuẩn bằng phân tích Shapiro-Wilk và đồng nhất phương sai bằng phân tích Levene's. Dữ liệu được chuyển đổi thành dạng log trước khi phân tích. Nếu dữ liệu đáp ứng điều kiện phân phối chuẩn và phương sai đồng nhất thì kiểm định ANOVA 1 yếu tố được tiến hành để kiểm tra khác biệt ý nghĩa thống kê của mật độ và sinh khối tôm trứng theo cửa sông và gradient độ mặn. Nếu không thỏa điều kiện, phân tích phi tham số Kruskal-Wallis được sử dụng thay thế. Nếu có sự khác biệt ý nghĩa thống kê (p-value<0,05), phân tích hậu kiểm Tukey's HSD (Honestly Significant Difference) được sử dụng để kiểm tra sự khác biệt từng cặp trong phân tích phương sai. Tương quan giữa mật độ và sinh khối các nhóm tôm trứng và các thông số môi trường được xác định qua tương quan phân hạng Spearman. Phần mềm Statgraphics Centurion 18 được sử dụng cho các phân tích trên.

3. Kết quả

3.1. Điều kiện môi trường vùng cửa sông Mê Kông

Giá trị pH ở cửa Cỏ Chiên, Hàm Luông, Cửa Đại ít biến động và ở mức trung tính. Tương tự, giá trị ôxy hòa tan (DO) dao động 5,12-5,52 mg/l và ít biến động theo cửa sông. Cửa Hàm Luông và Cửa Đại có nhiệt độ trung bình gần giống nhau, trên 30°C, cao hơn khi so với nhiệt độ trung bình của cửa Cỏ Chiên (28,72°C). Cửa Cỏ Chiên có hàm lượng chất rắn lơ lửng (TSS) là 85,70 mg/l, cao hơn cửa Hàm Luông và Cửa Đại (tương ứng là 69,57 và 68,48 mg/l). Cửa Cỏ Chiên và Cửa Đại có độ mặn trung bình ít dao động, khoảng trên 12‰, cao hơn khi so với độ mặn trung bình của cửa Hàm Luông (10,49‰). Kết quả phân tích phương sai cho thấy, chỉ nhiệt độ khác biệt có ý nghĩa thống kê (p-value=0,002), trong khi các thông số khác không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cửa sông (p-value>0,05) (bảng 1).

Bảng 1. Giá trị trung bình ($\pm$ SD) của một số thông số môi trường nước mặt vùng cửa sông Mê Kông.

		pH	Nhiệt độ (°C)	DO (mg/l)	Độ mặn (‰)	TSS (mg/l)
Theo cửa sông	Cổ Chiên	7,54 $\pm$ 0,25	28,72 $\pm$ 0,43 ^b	5,12 $\pm$ 0,51	12,15 $\pm$ 3,13	85,70 $\pm$ 37,88
	Hàm Luông	7,75 $\pm$ 0,10	30,67 $\pm$ 0,30 ^a	5,36 $\pm$ 0,38	10,49 $\pm$ 4,55	69,57 $\pm$ 35,76
	Cửa Đại	7,76 $\pm$ 0,17	30,73 $\pm$ 0,75 ^a	5,52 $\pm$ 0,40	12,58 $\pm$ 7,85	68,48 $\pm$ 54,45
Theo biến thiên độ mặn	Vt.1	7,83 $\pm$ 0,09	30,25 $\pm$ 1,31	5,48 $\pm$ 0,28	16,65 $\pm$ 4,59 ^a	52,81 $\pm$ 23,68 ^b
	Vt.2	7,61 $\pm$ 0,19	29,93 $\pm$ 0,90	5,24 $\pm$ 0,54	10,82 $\pm$ 2,75 ^b	106,00 $\pm$ 33,97 ^a
	Vt.3	7,62 $\pm$ 0,21	30,13 $\pm$ 1,01	5,28 $\pm$ 0,47	6,68 $\pm$ 1,97 ^c	61,67 $\pm$ 46,04 ^b

Giá trị pH, nhiệt độ và DO trung bình theo biến thiên độ mặn ít dao động, tương ứng 7,23-7,92, 29,93-30,25°C và 5,24-5,48 mg/l. Vị trí Vt.2 có hàm lượng chất rắn lơ lửng (TSS) là 106 mg/l, cao hơn Vt.1 và Vt.3 (tương ứng là 52,81 và 61,67 mg/l). Độ mặn giảm dần từ Vt.1 (16,65‰), Vt.2 (10,82‰) và Vt.3 (6,68‰). Kết quả phân tích phương sai cho thấy, độ mặn (ANOVA, p-value=0,0002) và TSS (ANOVA, p-value=0,03) khác biệt có ý nghĩa thống kê, trong khi các thông số khác không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo biến thiên độ mặn (p-value>0,05) (bảng 2).

Bảng 2. Kết quả phân tích tương quan Spearman (r) giữa các đặc điểm của tôm trướng và một số thông số môi trường (n=27).

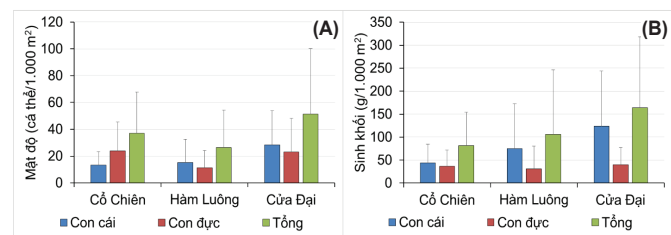
	pH	Nhiệt độ	DO	Độ mặn	TSS
Mật độ con cái	0,179	-0,148	0,008	0,680	0,250
Sinh khối con cái	0,175	-0,111	0,028	0,673	0,299
Mật độ con đực	0,189	-0,224	-0,051	0,196	-0,083
Sinh khối con đực	0,324	-0,126	0,056	0,238	-0,217
Mật độ con cái không trướng	0,315	-0,185	0,104	0,525	0,116
Sinh khối con cái không trướng	0,327	-0,081	0,123	0,486	0,149
Mật độ con cái có trướng	0,202	-0,073	0,093	0,667	0,077
Sinh khối con cái có trướng	0,226	-0,097	0,128	0,697	0,083
Mật độ con cái thả trướng	-0,124	0,109	0,028	0,204	0,314
Sinh khối con cái thả trướng	-0,201	0,053	-0,067	0,126	0,341
Mật độ tổng	0,249	-0,170	0,012	0,489	0,072
Sinh khối tổng	0,337	-0,059	0,148	0,569	0,053

Tương quan có ý nghĩa thống kê được in đậm.

3.2. Mật độ và sinh khối của tôm trướng *Macrobrachium equidens*

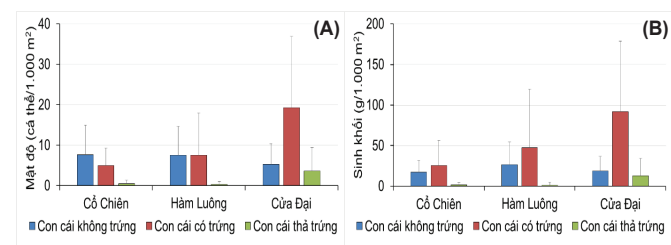
Mật độ và sinh khối trung bình của tôm đực ở cửa Hàm Luông lần lượt là 11,25 cá thể/1.000 m² và 30,72 g/1.000 m², thấp hơn so với cửa Cổ Chiên (23,83 cá thể/1.000 m², 36,78

g/1.000 m²) và Cửa Đại (23 cá thể/1.000 m², 40,33 g/1.000 m²). Cửa Đại vẫn ghi nhận mật độ và sinh khối trung bình tôm cái cao (28,33 cá thể/1.000 m², 123,60 g/1.000 m²) khi so với cửa Cổ Chiên (13,17 cá thể/1.000 m², 44,43 g/1.000 m²) và Hàm Luông (15,25 cá thể/1.000 m², 75,34 g/1.000 m²). Cửa Đại có mật độ và sinh khối trung bình cao nhất, sau đó là cửa Cổ Chiên và Hàm Luông. Cửa Đại và cửa Hàm Luông có mật độ và sinh khối trung bình con cái cao hơn con đực, trong khi cửa Cổ Chiên có mật độ và sinh khối trung bình con đực cao hơn con cái. Kết quả phân tích phương sai cho thấy, mật độ và sinh khối trung bình tôm cái và đực không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cửa sông (hình 3).



Hình 3. Mật độ (cá thể/1.000 m², A) và sinh khối (g/1.000 m², B) của tôm trướng ở các cửa sông Mê Kông.

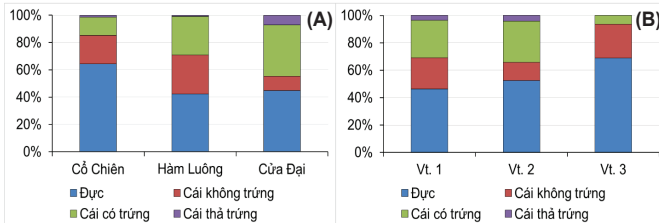
Cửa Đại có mật độ và sinh khối trung bình con cái cao (tương ứng là 19,33 cá thể/1.000 m² và 91,90 g/1.000 m²) khi so với cửa Cổ Chiên (5 cá thể/1.000 m², 25,53 g/1.000 m²) và Hàm Luông (7,5 cá thể/1.000 m² và 47,62 g/1.000 m²). Tương tự, mật độ và sinh khối trung bình con cái thả trướng ở Cửa Đại cũng cao hơn cửa Hàm Luông và Cổ Chiên. Tuy nhiên, Cửa Đại có mật độ và sinh khối trung bình con cái không trướng thấp (tương ứng là 5,33 cá thể/1.000 m² và 18,73 g/1.000 m²) khi so với cửa Cổ Chiên (7,67 cá thể/1.000 m², 17,19 g/1.000 m²) và Hàm Luông (7,5 cá thể/1.000 m² và 26,37 g/1.000 m²). Mật độ và sinh khối trung bình của các nhóm tôm cái không khác biệt có ý nghĩa thống kê theo cửa sông (hình 4).



Hình 4. Mật độ (cá thể/1.000 m², A) và sinh khối (g/1.000 m², B) của các nhóm tôm trướng cái ở các cửa sông Mê Kông.

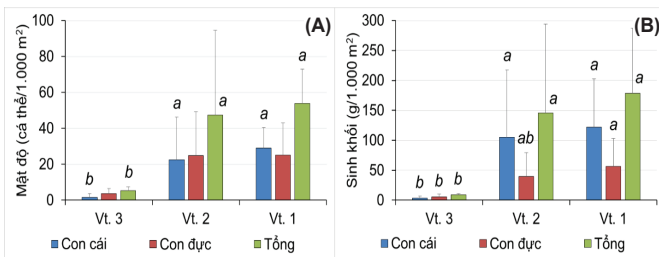
Cửa Cổ Chiên có con đực chiếm ưu thế về mật độ cá thể (64,41% tổng số lượng cá thể), con cái không trướng và cái có trướng chiếm 20,72 và 13,51%. Con cái thả trướng chiếm tỷ lệ rất thấp, chỉ 1,35%. Cửa Hàm Luông và Cửa Đại

có tỷ lệ đực cái gần như bằng nhau. Ở cửa Hàm Luông, con cái không trứng và cái có trứng vẫn chiếm tỷ lệ khá cao, mỗi nhóm chiếm 28,30%. Con cái vừa thả trứng chiếm tỷ lệ rất thấp, chỉ 0,94%. Ở Cửa Đại, tỷ lệ con cái có trứng khá cao, chiếm 37,66%. Con cái không trứng và vừa thả trứng chiếm tỷ lệ thấp, tương ứng 10,39% và 7,14% (hình 5A).



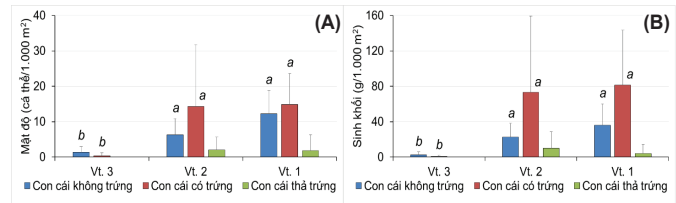
Hình 5. Tỷ lệ (%) mật độ của các nhóm tôm trứng (*Macrobrachium equidens*) ở các cửa sông Mê Kông (A) và theo biến thiên độ mặn (B).

Mật độ và sinh khối trung bình của tôm đực ở Vt.3 rất thấp (tương ứng là 3,67 cá thể/1.000 m² và 5,40 g/1.000 m²) khi so với Vt.2 (24,86 cá thể/1.000 m², 39,85 g/1.000 m²) và Vt.1 (25 cá thể/1.000 m² và 56,72 g/1.000 m²). Tương tự, mật độ và sinh khối trung bình của tôm cái cũng tăng dần từ Vt.3 đến Vt.2, Vt.1. Vị trí Vt.1 và Vt.2 có tổng mật độ và sinh khối cao hơn Vt.3. Kết quả phân tích phương sai cho thấy, mật độ và sinh khối tổng, mật độ và sinh khối trung bình tôm cái có khác biệt có ý nghĩa thống kê theo biến thiên độ mặn (hình 6).



Hình 6. Mật độ (cá thể/1.000 m², A) và sinh khối (g/1.000 m², B) của tôm trứng theo biến thiên độ mặn. Kết quả Tukey HSD thể hiện qua các ký tự a, b khi cùng ký tự thì khác biệt không có ý nghĩa, khác ký tự thì khác biệt có ý nghĩa.

Vị trí Vt.1 có mật độ và sinh khối trung bình con cái có trứng cao (tương ứng là 14,86 cá thể/1.000 m² và 81,50 g/1.000 m²) khi so với vị trí Vt.2 (14,29 cá thể/1.000 m², 73,04 g/1.000 m²) và Vt.3 (0,33 cá thể/1.000 m² và 0,64 g/1.000 m²). Tương tự, mật độ và sinh khối trung bình con cái không trứng và thả trứng ở vị trí Vt.1 cũng cao hơn vị trí Vt.2 và Vt.3. Ở vị trí Vt.3 không ghi nhận sự xuất hiện của nhóm tôm cái vừa thả trứng. Mật độ và sinh khối trung bình của các nhóm tôm cái khác biệt ý nghĩa thống kê theo biến thiên độ mặn, trừ mật độ và sinh khối nhóm tôm cái thả trứng (hình 7).



Hình 7. Mật độ (cá thể/1.000 m², A) và sinh khối (g/1.000 m², B) của các nhóm tôm trứng cái theo biến thiên độ mặn. Kết quả Tukey HSD thể hiện qua các ký tự a, b khi cùng ký tự thì khác biệt không có ý nghĩa, khác ký tự thì khác biệt có ý nghĩa.

Vị trí Vt.1 có tỷ lệ con cái chiếm ưu thế (53,70%), trong khi Vt.3 có tỷ lệ con đực chiếm ưu thế (68,75%). Vị trí Vt.2 có tỷ lệ đực cái gần như tương đương. Vị trí Vt.1 có con cái không trứng và cái có trứng chiếm 22,75 và 27,51%. Con cái vừa thả trứng chiếm tỷ lệ rất thấp (3,44%). Vị trí Vt.2 có con đực chiếm 52,41% nhưng con cái có trứng vẫn chiếm tỷ lệ khá cao (30,12%). Con cái không trứng và con cái vừa thả trứng chiếm tỷ lệ lần lượt là 13,25 và 4,22%. Ở Vt.3, con đực và con cái không trứng chiếm trên 90%, trong đó con đực là 68,75% và con cái không trứng là 25%. Con cái có trứng chiếm tỷ lệ nhỏ, chỉ 6,25%. Ngoài ra không ghi nhận con cái vừa thả trứng ở Vt.3 (hình 5B).

3.3. Mật độ và sinh khối của tôm trứng trong mối tương quan với các điều kiện môi trường

Tương quan giữa mật độ và sinh khối các nhóm tôm trứng với các điều kiện môi trường thể hiện ở bảng 2. Các yếu tố pH, nhiệt độ, DO, TSS không ghi nhận tương quan có ý nghĩa thống kê với mật độ và sinh khối các nhóm tôm trứng. Ngược lại, độ mặn tương quan có ý nghĩa thống kê với mật độ và sinh khối các nhóm tôm, trừ nhóm tôm đực và cái thả trứng. Độ mặn tương quan thuận với mật độ và sinh khối con cái không trứng, mật độ và sinh khối con cái có trứng, mật độ và sinh khối tổng. Khi độ mặn tăng sẽ dẫn đến tăng mật độ và sinh khối con cái không trứng, tăng mật độ và sinh khối con cái có trứng, tăng mật độ và sinh khối tổng.

4. Bàn luận

Loài tôm trứng được ghi nhận phân bố chủ yếu ở miền Nam Việt Nam [3] nhưng cũng có ghi nhận tôm trứng phân bố ở hồ Phú Ninh, tỉnh Quảng Nam [36]. Ở Đồng bằng sông Cửu Long, các sinh cảnh nước ngọt điển hình như rừng tràm, đồng cỏ ngập nước theo mùa, ruộng lúa, khu vực ngập nước quanh năm, không ghi nhận sự xuất hiện của tôm trứng [37]. Trên sông Hậu, các vị trí khảo sát từ vùng nước ngọt thượng nguồn (tỉnh An Giang) đến vùng lợ mặn (cửa Trần Đề, Cù Lao Dung, tỉnh Sóc Trăng) điều ghi nhận sự hiện diện của tôm trứng [38, 39]. Tuy nhiên, không tìm

thấy tôm trứng ở vùng ven biển và vùng lộng các tỉnh Bến Tre [16], Sóc Trăng, Bạc Liêu [40] và các tỉnh Tây Nam Bộ khác [17]. Nhìn chung, tôm trứng sống chủ yếu ở các con sông, phân bố rộng từ nước ngọt đến lợ mặn.

Mật độ và sinh khối của các nhóm tôm trứng ở cửa Đại, Hàm Luông và Cổ Chiên là không khác biệt có ý nghĩa, nguyên nhân là điều kiện môi trường (pH, DO, độ mặn, TSS) giữa các cửa sông ít biến động. Tuy nhiên, khi phân tích theo biến thiên độ mặn thì có sự khác biệt ý nghĩa về điều kiện môi trường, cụ thể là độ mặn vị trí ngoài cửa sông lớn hơn vị trí bên trong. Độ mặn cho thấy tương quan thuận với mật độ và sinh khối của các nhóm tôm trứng, do đó phân bố của tôm trứng có sự khác biệt theo biến thiên độ mặn. Một số yếu tố môi trường như: pH, DO, tốc độ dòng chảy, độ sâu, thành phần trầm tích, nồng độ chất hữu cơ có ảnh hưởng đến phân bố của loài tôm trứng [41, 42]. Tuy nhiên, khi nhiệt độ và pH ít thay đổi thì không ảnh hưởng đến phân bố của nhóm tôm *Macrobrachium* ở sông Huitzilapan, Veracruz, Mexico [42]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, độ mặn là yếu tố ảnh hưởng chính đến phân bố tôm trứng ở cửa Đại, Hàm Luông và Cổ Chiên. A. Ibim (2018) [6] cũng cho rằng, độ mặn là yếu tố chính ảnh hưởng đến phân bố của 5 loài tôm thuộc giống *Macrobrachium* (*M. dux*, *M. vollenhovenii*, *M. macrobrachion*, *M. felicinum* và *M. equidens*) ở sông State, Nigeria. Ngoài ra, các nghiên cứu khác cũng ghi nhận loài tôm trứng chỉ xuất hiện ở độ mặn 15-25‰. Kết quả nghiên cứu về phân bố tôm trứng ở cửa sông Mê Kông và các khu vực khác ở Đồng bằng sông Cửu Long cho thấy, tôm trứng phân bố rộng từ thượng nguồn nước ngọt đến bãi bồi, rừng ngập mặn cửa sông (khoảng 3-22‰). Cho nên, khi tôm trứng (là loài ngoại lai) xâm nhập vào các thủy vực thuộc Brazil và Tây Phi, chúng sẽ phân bố trước tiên ở vùng cửa sông nơi có độ mặn cao, sau đó sẽ dần thích nghi và tiến dần lên các thủy vực nước ngọt thượng nguồn sông. Kết quả đo đạc cho thấy, độ mặn lớn nhất vùng cửa sông Mê Kông trong nghiên cứu khoảng 22‰, trong khi độ mặn lớn nhất ghi nhận có sự xuất hiện tôm trứng là khoảng 25‰ [6]. Như vậy, độ mặn có thể là một rào cản tự nhiên, làm cho tôm trứng chỉ phân bố từ cửa sông trở vào, không xuất hiện ở vùng ven biển trở ra. Tuy nhiên, các thông số môi trường khác ngoài độ mặn vẫn có thể ảnh hưởng đến phân bố tôm trứng. Nghiên cứu tiếp theo cần mở rộng không gian và thời gian nghiên cứu để có cái nhìn toàn diện hơn về chi phối của môi trường đến khu hệ tôm nói chung và tôm trứng nói riêng.

Mật độ và sinh khối các nhóm tôm trứng tăng dần từ trong ra ngoài cửa sông (Vt.3 đến Vt.1), nguyên nhân có thể do các cá thể trưởng thành di cư ra vùng cửa sông để tham gia sinh sản và cửa sông là nơi có điều kiện môi trường và thức ăn phong phú cho sự phát triển của tôm.

C.R. Maciel và cs (2011) [21] nghiên cứu tôm trứng ở vùng cửa sông Caeté và Taperaçu, Brazil cho thấy tỷ lệ đực/cái khoảng 1/2,55, khi tỷ lệ con cái tăng là vào mùa sinh sản của tôm trứng. Cửa Cổ Chiên có tỷ lệ đực/cái khoảng 1/0,67; cửa Hàm Luông và Cửa Đại có tỷ lệ đực/cái khoảng 1/1,5. Tỷ lệ con đực và cái ở các cửa sông trong nghiên cứu không khác biệt quá lớn, cho nên có thể thời gian thực hiện nghiên cứu chưa phải là mùa sinh sản mạnh nhất của tôm trứng. Ngoài ra, cần nghiên cứu thêm mùa sinh sản của tôm trứng ở các cửa sông giống hay khác nhau. Vị trí Vt.1 và Vt.2 (cách nhau khoảng 10 km) có tỷ lệ con cái mang trứng khá cao, chứng tỏ tôm trứng sẽ thả trứng ở các vị trí ngoài cửa sông (bãi đẻ) nên các vị trí này cần được bảo vệ. Nghiên cứu trước đây đã chỉ ra rằng, ấu trùng tôm thuộc giống *Macrobrachium* phát triển tốt ở khu vực có độ mặn cao [43]. Kết quả nghiên cứu cho thấy, mật độ con cái mang trứng tăng khi độ mặn tăng. Ghi nhận này giống với phát hiện của C.R. Maciel và cs (2011) [21], mật độ con cái có trứng tăng khi độ mặn tăng 20-25‰.

Kết quả nghiên cứu cho thấy, khu vực cửa Cổ Chiên, Hàm Luông và Cửa Đại là bãi sinh sản tự nhiên của tôm trứng và nhiều loài tôm khác. H.N. Tu và cs (2023) [16] cũng cho rằng, khu vực từ cửa Tiểu tới cửa Cổ Chiên là nơi sinh sản quan trọng của nhiều loài thủy hải sản có giá trị cho nên khu vực này cần được bảo vệ. Tuy nhiên, khu vực từ cửa Tiểu tới Cổ Chiên chưa nằm trong danh mục các khu vực cấm khai thác có thời hạn để bảo vệ nguồn lợi (Thông tư số 19/2018/TT-BNNPTNT ngày 15/11/2018 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển Nông thôn). Căn cứ vào kết quả đạt được, chúng tôi đề xuất: (i) Đưa khu vực cửa sông từ cửa Tiểu tới Cổ Chiên vào danh mục các khu vực cấm khai thác có thời hạn; (ii) Mở rộng khu vực này vào phía trong các cửa sông khoảng 10 km (tương đương khoảng cách Vt.1 và Vt.2) vì sinh sản của nhiều loài tôm bị giới hạn bởi độ mặn và chúng chỉ sinh sản từ các bãi bồi, rừng ngập mặn cửa sông trở vào.

5. Kết luận

Nghiên cứu này cung cấp dữ liệu khoa học đầu tiên về phân bố của tôm trướng (*M. equidens*) ở vùng cửa sông Mê Kông. Mật độ và sinh khối của tôm trướng không khác biệt theo cửa sông mà khác biệt theo biến thiên độ mặn. Độ mặn là yếu tố môi trường chi phối chủ yếu phân bố của tôm trướng. Tuy nhiên, nghiên cứu trong tương lai cần mở rộng không gian và thời gian đánh giá để có cái nhìn toàn diện hơn về chi phối của môi trường đến khu hệ tôm nói chung và tôm trướng nói riêng.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ của Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Bến Tre trong đề tài mã số 1646/HĐ-SKHCN. Tác giả Trần Thành Thái được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sỹ, tiến sỹ trong nước của Quỹ Đổi mới Sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2023.TS.107.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] M.G.B. Reantaso, R.P. Subasinghe, H. Josupeit, et al. (2012), "The role of crustacean fisheries and aquaculture in global food security: Past, present and future", *Journal of Invertebrate Pathology*, **110**(2), pp.158-165, DOI: 10.1016/j.jip.2012.03.010.

[2] D.N. Thanh, H.T. Hai (2012), *Freshwater Shrimps and Crabs of Vietnam: Palaemonidae, Atyidae, Parathelphusidae, Potamidae*, Natural Science and Technology Publishing House, Hanoi, 264pp (in Vietnamese).

[3] D.N. Thanh, H.T. Hai (2001), *Fauna of Vietnam, Volume 5: Freshwater Crustaceans: Shrimps - Palaemonidae; Crabs - Parathelphusidae, Potamidae; Cladocerans - Cladocera; Copepods - Copepoda, Calanoida*, Science and Technics Publishing House, Hanoi, p.239 (in Vietnamese).

[4] A.O.D. Almeida, P.A. Coelho, J.R. Luz, et al. (2008), "Decapod crustaceans in fresh waters of southeastern Bahia, Brazil", *Revista De Biologia Tropical*, **56**(3), pp.1225-1254, DOI: 10.15517/rbt.v56i3.5706.

[5] J.W. Short (2004), "A revision of Australian river prawns, *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)", *Hydrobiologia*, **525**, pp.1-100, DOI: 10.1023/B:HYDR.0000038871.50730.95.

[6] A. Ibim (2018), "Distribution of five *Macrobrachium* species along a salinity gradient in rivers State, Nigeria", *London Journal of Research in Science: Natural and Formal*, **18**(2), pp.69-81.

[7] V.T. Nguyen, Q.P. Truong (2004), *Ichthyology Textbook II*, Can Tho University Publishing House, 218pp (in Vietnamese).

[8] C.C. Ikejimba, S. Sakpa (2014), "Comparative study of some heavy metals' concentrations in water and Tympanotonus fuscatus var radula samples of Egbo-kodo River, Warri, Nigeria", *International Journal of Modern Biological Research*, **2**, pp.7-15.

[9] M. Topuz, M. Kır (2023), "Critical temperatures and aerobic metabolism in post-larvae of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931)", *Journal of Comparative Physiology B*, **193**, pp.607-614, DOI: 10.1007/s00360-023-01522-4.

[10] I.P. Omoregie (2016), "The abiotic ecology and prevalence of palaemonid shrimps (Crustacea: Palaemonidae) of Osse River, Edo State, Nigeria", *Journal of Applied Life Sciences International*, **9**(3), pp.1-11, DOI: 10.9734/JALSI/2016/29497.

[11] A.A. Eniade, A.O.B. Olusoji (2011), "The abiotic ecology of breeding ground of palaemonid prawns in the Ilaje Estuary, Ondo State, Nigeria", *Continental Journal Fisheries and Aquatic Science*, **5**(1), pp.31-37.

[12] I.N. Marin (2008), "Description of two new species from the genera *Palaemonella* Dana, 1852 and *Vir Holthuis*, 1952 (Crustacea: Caridea: Palaemonidae: Pontoniinae)", *Zoologische Mededelingen*, **82**(35), pp.375-390.

[13] V.X. Nguyen (2006), "A new freshwater prawn of the genus *Macrobrachium* (Decapoda, Caridea, Palaemonidae) from the highlands of South Vietnam", *Crustaceana*, **79**(1), pp.1-9, DOI: 10.1163/156854006776759725.

[14] Z. Đuris, I. Horká, I. Marin (2008), "*Periclimenes sulcatus* sp. nov., a new pontoniine shrimp (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from Vietnam", *Zootaxa*, **1860**(1), pp.35-50, DOI: 10.11646/zootaxa.1860.1.3.

[15] D.V. Tu, N.T. Cuong (2014), "A new species of troglobitic freshwater prawn of the genus *Macrobrachium* Bate, 1868 (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae) from Phong Nha - Ke Bang national park, Quang Binh province", *Academia Journal of Biology*, **36**(3), pp.309-315, DOI: 10.15625/0866-7160/v36n3.5969.

[16] H.N. Tu, T.L. Dao, V.H. Cao (2023), "State and distribution of fishes and shrimps resources in early-life stages in the coastal waters of Ben Tre province", *Can Tho University Journal of Science*, **59**(1), pp.85-98, DOI: 10.22144/ctu.jvn.2023.010 (in Vietnamese).

[17] H.N. Tu (2014), "Species composition and distribution of juvenile shrimp in the nearshore waters of Southern Vietnam", *Can Tho University Journal of Science*, **31**, pp.116-124 (in Vietnamese).

[18] N.P.C. Tu, N.H. Nguyen, T. Ikemoto, et al. (2008), "Bioaccumulation and distribution of trace elements in tissues of giant river prawn *Macrobrachium rosenbergii* (Decapoda: Palaemonidae) from South Vietnam", *Fisheries Science*, **74**, pp.109-119, DOI: 10.1111/j.1444-2906.2007.01474.x.

[19] D. Hung, T.V. Nguyen, H.N. Nguyen, et al. (2013), "Genetic response to combined family selection for improved mean harvest weight in giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam", *Aquaculture*, **412-413**, pp.70-73, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2013.07.015.

[20] N.M. Thanh, R.W. Ponzoni, N.H. Nguyen, et al. (2009), "Evaluation of growth performance in a diallel cross of three strains of giant freshwater prawn (*Macrobrachium rosenbergii*) in Vietnam", *Aquaculture*, **287**(1-2), pp.75-83, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2008.10.051.

[21] C.R. Maciel, M.L. Quadros, F. Abrunhosa, et al. (2011), "Occurrence of the Indo-Pacific freshwater prawn *Macrobrachium equidens* Dana 1852 (Decapoda, Palaemonidae) on the coast of Brazilian Amazonia, with notes on its reproductive biology", *Anais Da Academia Brasileira De Ciências*, **83**(2), pp.533-544, DOI: 10.1590/S0001-37652011000200013.

- [22] F.S. Ghory, Q.B. Kazmi, M.A. Kazmi, et al. (2022), "Description of the first to fourth zoeal stages of *Macrobrachium equidens* (Dana, 1852) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)", *Pakistan Journal of Marine Sciences*, **31**(1), pp.13-27.
- [23] C.B. Powell (1986), "Occurrence of the Indo-Pacific prawn *Macrobrachium equidens* in West Africa (Crustacea, Decapoda, Palaemonidae)", *Revue D'hydrobiologie Tropicale*, **19**(2), pp.75-79.
- [24] J.V. Jorgensen, T. Visser (2002), "The MRC Mekong fish database: An information base on Fish of a major international river basin", *5th Technical Symposium on Mekong Fisheries*, pp.55-69.
- [25] C.B. Grimes, J.H. Finucane (1991), "Spatial distribution and abundance of larval and juvenile fish, chlorophyll and macrozooplankton around the Mississippi river discharge plume, and the role of the plume in fish recruitment", *Marine Ecology Progress Series*, **75**, pp.109-119, DOI: 10.3354/meps075109.
- [26] I.C. Campbell (2009), *The Mekong: Biophysical Environment of an International River Basin*, Academic Press, 464pp.
- [27] D.D. Tran, K. Shibukawa, T.P. Nguyen, et al. (2013), *Fishes of The Mekong Delta, Vietnam*, Can Tho University Publishing House, 174pp (in Vietnamese).
- [28] X.Q. Ngo, A. Vanreusel, N. Smol, et al. (2010), "Meiobenthos assemblages in the Mekong estuarine system with special focus on free-living marine nematodes", *Ocean Science Journal*, **45**, pp.213-224, DOI: 10.1007/s12601-010-0020-5.
- [29] X.Q. Ngo, N.C. Nguyen, N. Smol, et al. (2016), "Intertidal nematode communities in the Mekong estuaries of Vietnam and their potential for biomonitoring", *Environmental Monitoring and Assessment*, **188**, pp.1-16, DOI: 10.1007/s10661-016-5091-z.
- [30] T.M.Y. Nguyen, A. Vanreusel, L. Lins, et al. (2020), "The effect of a dam construction on subtidal nematode communities in the Ba Lai Estuary, Vietnam", *Diversity*, **12**(4), pp.137-155, DOI: 10.3390/d12040137.
- [31] T.T. Tran, X.Q. Ngo, N.H. Pham, et al. (2022), "Ecological impact assessment of irrigation dam in the Mekong delta using intertidal nematode communities as bioindicators", *Environmental Science and Pollution Research*, **29**, pp.90752-90767, DOI: 10.1007/s11356-022-22135-4.
- [32] T.T. Tran, N.T.M. Yen, T.T.H. Yen, et al. (2020), "Distribution patterns of macrofauna communities in the Ba Lai estuary, Ben Tre province", *Science & Technology Development Journal: Natural Science*, **4**(SI), pp.SI1-SI10, DOI: 10.32508/stdjns.v4i1.985.
- [33] T.H.Y. Tran, T.T. Tran, T.M.Y. Nguyen, et al. (2022), "Seasonal changes in phytoplankton assemblages and environmental variables in highly turbid tropical estuaries of the Mekong River, Vietnam", *Environmental Monitoring and Assessment*, **194**, DOI: 10.1007/s10661-022-10181-x.
- [34] A.D. Nguyen, H.H.G. Savenije, D.N. Pham, et al. (2008), "Using salt intrusion measurements to determine the freshwater discharge distribution over the branches of a multi-channel estuary: The Mekong delta case", *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, **77**(3), pp.433-445, DOI: 10.1016/j.eess.2007.10.010.
- [35] APHA (2005), *Standard Methods for The Examination of Water and Waste Water*, 21st Edn., American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation, Washington, DC.
- [36] D.T. Hoang (2013), "Preliminary research results on the species composition of benthic zoobenthos in Phu Ninh lake, Quang Nam province", *University of Danang - Journal of Science and Technology*, **10**(71), pp.162-167 (in Vietnamese).
- [37] V.T. Le, D.D. Phan, D.M. Tran, et al. (2018), "Species composition and distribution of macro invertebrates of the Lang Sen wetland reserve", *Vietnam Journal of Science and Technology*, **60**(10), pp.18-22 (in Vietnamese).
- [38] H.N.C. Nguyen, H.M. Truong (2013), "Species composition and distribution of shrimp and fish in the coastal area of Cu Lao Dung district, Soc Trang province", *Can Tho University Journal of Science*, **25**, pp.239-246 (in Vietnamese).
- [39] X.Q. Ngo, V.S. Nguyen, D.T. Nguyen, et al. (2013), "Biodiversity of littoral macroinvertebrates in the Mekong river", *Ho Chi Minh City University of Education Journal of Science*, **51**, pp.16-28 (in Vietnamese).
- [40] V.V. Mai, P.H. Ha, D.D. Tran, et al. (2010), "Characteristics of species composition and ecological properties of fish and shrimp communities in the coastal area of Soc Trang - Bac Lieu", *Can Tho University Journal of Science*, **15a**, pp.232-240 (in Vietnamese).
- [41] K.C. Djiréoulou, M. Koné, J.R. Allouko, et al. (2022), "Dynamics of shrimp fauna in the Aby-Tendo-Ehy Lagoon complex (southeast of Côte d'Ivoire), an hydrosystem under anthropic pressure", *World Journal of Advanced Research and Reviews*, **16**(1), pp.877-885, DOI: 10.30574/wjarr.2022.16.1.0964.
- [42] L.M.M. Ortiz, F. Alvarez (2010), "Seasonal patterns in the distribution of three species of freshwater shrimp, *Macrobrachium* spp., along an altitudinal river gradient", *Crustaceana*, **83**(4), pp.385-397, DOI: 10.1163/001121610X489368.
- [43] N.H. Ho (1976), "The larval development of the prawns *Macrobrachium equidens* and *Macrobrachium* sp. (Decapoda: Palaemonidae), reared in the laboratory", *Journal of Zoology*, **178**(1), pp.15-55.

Nghiên cứu bào chế gel rửa tay Chè xanh

Vũ Văn Tuấn*, Vũ Thị Huyền Trang, Triệu Thị Hương

Khoa Dược, Trường Đại học Đại Nam, 1 phố Xóm, phường Phú Lãm, quận Hà Đông, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/6/2024; ngày chuyển phản biện 6/6/2024; ngày nhận phản biện 21/6/2024; ngày chấp nhận đăng 24/6/2024

Tóm tắt:

Dược liệu Chè xanh thể hiện các tác dụng tốt trên da như: khử mùi, kháng khuẩn, chống nắng và chống ôxy hóa. Việc bào chế gel rửa tay từ Chè xanh tận dụng được các ưu điểm này trong các sản phẩm chăm sóc vệ sinh cá nhân. Nghiên cứu được thực hiện nhằm khảo sát tỷ lệ các chất hoạt tính bề mặt, chất làm đặc và giữ ẩm trong công thức gel rửa tay có thành phần Chè xanh. Chín công thức bào chế khác nhau có tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt 9-15%, tỷ lệ chất làm đặc 1-2%, tỷ lệ chất giữ ẩm 5-9% đã được khảo sát. Các đặc điểm cảm quan, pH, khả năng phân tán bẩn, độ nhớt, chiều cao bọt và độ bền bọt được sử dụng để lựa chọn công thức phù hợp nhất. Kết quả cho thấy, công thức F8 có cảm quan phù hợp, pH đạt 5,53, có khả năng phân tán chất bẩn tốt, độ nhớt 152,6 Cps, chiều cao cột bọt do chế phẩm tạo ra là 5,1 cm, độ bền bọt 94,12%. Sản phẩm không thể hiện kích ứng da trong thử nghiệm trên thỏ theo hướng dẫn của Tổ chức Hợp tác và Phát triển Kinh tế (OECD). Như vậy, công thức bào chế gel rửa tay Chè xanh được xác định gồm có chiết xuất Chè xanh (dạng cao khô) 1%, chất hoạt tính bề mặt 12%, chất làm đặc 1,5%, chất giữ ẩm 7%, các chất phụ gia khác và nước vừa đủ 100%.

Từ khóa: chè xanh, công thức bào chế, gel rửa tay.

Chỉ số phân loại: 2.8, 3.4

Study on the preparation of green tea hand wash gel

Van Tuan Vu*, Thi Huyen Trang Vu, Thi Huong Trieu

Faculty of Pharmacy, Dai Nam University, 1 Xom Street, Phu Lam Ward, Ha Dong District, Hanoi, Vietnam

Received 3 June 2024; revised 21 June 2024; accepted 24 June 2024

Abstract:

Green tea exhibits beneficial effects on the skin, such as deodorization, antibacterial properties, sun protection, and antioxidant activity. Formulating hand wash from green tea leverages these advantages in personal hygiene products. This study was conducted to investigate the ratios of surfactants, thickeners, and moisturizers in the formulation of hand wash gel containing green tea. Nine different formulations with surfactant ratios ranging from 9-15%, thickener ratios 1-2%, and moisturizer ratios 5-9% were examined. Sensory characteristics, pH, dirt dispersion ability, viscosity, foam height, and foam stability were evaluated to select the most appropriate formulation. The results showed that the F8 formulation had suitable sensory characteristics, a pH of 5.53, good dirt dispersion ability, a viscosity of 152.6 Cps, a foam height of 5.1 cm, and foam stability of 94.12%. According to Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) guidelines, the product did not exhibit skin irritation in tests conducted on rabbits. Thus, the optimal formulation for green tea hand wash gel was determined to include 1% green tea extract (dry extract form), 12% surfactant, 1.5% thickener, 7% moisturizer, other additives, and water to make up to 100%.

Keywords: formulation, green tea, hand wash gel.

Classification numbers: 2.8, 3.4

1. Mở đầu

Chè xanh (*Camellia sinensis* L.) hay còn gọi là Trà xanh thuộc họ Chè Theaceae. Năm 1753, Carl Von Linnaeus (Thụy Điển) xác định chè có hai giống: *Thea bokea* (chè đen) và *Thea viridis* (chè xanh) có nguồn gốc ở Vân Nam, Trung Quốc sau đó được trồng phổ biến tại Việt Nam, Nhật

Bản, Ấn Độ và nhiều nước châu Á khác [1]. Thành phần hóa học của Chè xanh gồm nhiều nhóm: polyphenol, alkaloid, amino acid, polysaccharid và các thành phần dễ bay hơi [2]. Mặc dù, Chè xanh có nhiều tác dụng sinh học được sử dụng trong mỹ phẩm như: chống ôxy hóa, chống viêm, bảo vệ da khỏi ánh nắng [3] và khử mùi [4]. Nhưng cho đến nay, chưa có nghiên cứu nào sử dụng Chè xanh cho gel rửa tay được

*Tác giả liên hệ: Email: vuvantuandkh@gmail.com

công bố. Mặt khác, với mong muốn tạo ra loại gel rửa tay có tác dụng làm sạch tốt, đồng thời nâng cao giá trị của các gel rửa tay từ dược liệu, góp phần làm phong phú thêm các sản phẩm từ Chè xanh. Nghiên cứu này có mục đích khảo sát tỷ lệ các chất hoạt tính bề mặt, chất làm đặc và giữ ẩm trong công thức gel rửa tay có thành phần Chè xanh.

2. Nguyên liệu và phương pháp nghiên cứu

2.1. Nguyên liệu

Cao khô Chè xanh chiết xuất bằng nước, được cung cấp bởi Công ty Cổ phần Chiết xuất Công nghệ cao INNOVEX (xã Đại Lâm, huyện Lạng Giang, tỉnh Bắc Giang), hàm lượng polyphenol tổng 41,6% tính theo nguyên trạng. Sodium linear alkylbenzene sulfonat (LAS), Sodium lauryl ether sulfat (SLES), Hydroxypropyl methyl cellulose K4M (HPMC), Ethylene diamin tetraacetic acid (EDTA), các hóa chất, nguyên liệu khác đạt tiêu chuẩn hóa chất mỹ phẩm.

2.2. Thiết bị

Cân kỹ thuật Ohaus NV3202 (Mỹ), máy đo pH Lab 845 (Đức), máy đo độ nhớt điện tử Ndj-5s (Trung Quốc).

2.3. Phương pháp nghiên cứu

2.3.1. Phương pháp bào chế

Thành phần công thức bào chế gel rửa tay Chè xanh được trình bày ở bảng 1.

Bảng 1. Công thức gel rửa tay Chè xanh.

Thứ tự	Thành phần	Tỷ lệ (%)/pH
1	Cao khô Chè xanh	1
2	Hỗn hợp LAS và SLES (tỷ lệ 1:2)	Thay đổi
3	HPMC	Thay đổi
4	Glycerin	Thay đổi
5	Dinatri EDTA	0,1
6	Natri benzoat	0,3
7	Dung dịch màu xanh green (1%)	1
8	NaOH hoặc acid citric (vừa đủ)	pH 5,5
9	Hương chè xanh (tan trong nước)	0,1
10	Nước RO (vừa đủ)	100

Quy trình bào chế gồm các bước: chuẩn bị nguyên liệu; pha riêng các dung dịch chiết xuất Chè xanh, dung dịch chất hoạt tính bề mặt, dung dịch chất làm đặc; phối hợp các dung dịch; điều chỉnh pH; thêm các chất phụ gia và đồng nhất sản phẩm. Tiến hành khảo sát tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt (9, 12 và 15%), tỷ lệ HPMC (1, 1,5 và 2%), tỷ lệ chất giữ ẩm glycerin (5, 7 và 9%). Từ các yếu tố khảo sát trên thiết kế 9 công thức bào chế theo trình bày ở bảng 2.

Bảng 2. Công thức khảo sát gel rửa tay Chè xanh F1-F9.

Thứ tự	Thành phần	F1	F2	F3	F4	F5	F6	F7	F8	F9
1	Cao khô Chè xanh (%)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
2	LAS với SLES (tỷ lệ 1:2) (%)	9	12	15	X1	X1	X1	X1	X1	X1
3	HPMC (%)	1	1	1	1	1,5	2	X2	X2	X2
4	Glycerin (%)	5	5	5	5	5	5	5	7	9
5	Dinatri EDTA (%)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
6	Natri benzoat (%)	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3
7	Màu xanh green (1%)	1	1	1	1	1	1	1	1	1
8	NaOH hoặc acid citric (vừa đủ)	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5	pH 5,5
9	Hương chè xanh (tan trong nước)	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1
10	Nước RO vừa đủ (ml)	100	100	100	100	100	100	100	100	100

X1 là tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt được chọn (%); X2 là tỷ lệ HPMC được chọn (%).

Để lựa chọn công thức bào chế gel rửa tay Chè xanh phù hợp nhất, các tiêu chí đánh giá đặc tính của gel rửa tay Chè xanh được tham khảo và xây dựng theo các yêu cầu của một số tài liệu nghiên cứu, bao gồm cảm quan, pH, khả năng tạo bọt và độ ổn định bọt, khả năng phân tán chất bẩn.

2.3.2. Phương pháp đánh giá một số đặc tính của sản phẩm

Cảm quan: Quan sát trực tiếp dưới ánh sáng tự nhiên và ngửi mùi của chế phẩm.

pH: Chế phẩm được đo bằng máy Lab 845 (Đức) ở nhiệt độ phòng 25±2°C. Yêu cầu pH 5,0-6,0 [5].

Khả năng phân tán bẩn: Cho 50 ml chế phẩm vào ống đong 250 ml, thêm một giọt mực tím, dùng màng parafin đậy chặt miệng ống đong và lắc mạnh 10 lần rồi quan sát. Lượng mực trong bọt được đánh giá theo 4 mức độ: không có, ít, trung bình và nhiều. Chế phẩm được coi là kém chất lượng nếu lượng mực bị cô đặc trong bọt, các chất bẩn nên tồn tại trong phần nước vì nếu bụi bẩn còn sót lại trong phần bọt rất khó tẩy rửa và sẽ bám lại trên da, không làm sạch được da tay. Yêu cầu không có mực trong bọt [6].

Độ nhớt: Được xác định bằng máy đo độ nhớt điện tử (Ndj-5s, Trung Quốc) ở tốc độ trục chính 50 vòng/phút. Độ nhớt của gel rửa tay được đo bằng trục xoay C63. Nhiệt độ và kích thước của vật chứa mẫu được giữ không đổi trong quá trình nghiên cứu [7].

Khả năng tạo bọt và độ ổn định bọt được đo bằng phương pháp lắc trong ống đong. Lấy khoảng 1 g chế phẩm vào ống đong 250 ml, pha loãng với 50 ml nước cất, đậy kín bằng màng parafin và lắc mạnh 10 lần. Ghi lại chiều cao bọt và

tính chất của bọt thu được ngay sau khi lắc xong. Độ ổn định bọt của sản phẩm được đánh giá bằng cách ghi lại thể tích cột bọt sau khi lắc 4 phút. Công thức tính độ ổn định bọt (Foam Stability - FS) như sau:

$$FS = \frac{H_4}{H_0} \times 100 (\%)$$

trong đó, H_0 là chiều cao bọt tại thời điểm 0 phút (ml); H_4 là chiều cao bọt tại thời điểm 4 phút (ml). Yêu cầu loại bọt tạo ra mịn, độ ổn định bọt trên 90% [8].

Khả năng kích ứng da: Công thức lựa chọn được bào chế thử nghiệm và đánh giá khả năng gây kích ứng da theo hướng dẫn của OECD. Cụ thể: Sử dụng 3 thỏ khỏe mạnh, một vùng da rộng khoảng 6 cm² ở 2 bên lưng thỏ được cạo sạch lông, cẩn thận để không gây tổn thương da. Trước khi thử nghiệm, kiểm tra vùng da để đảm bảo không có bất kỳ dấu hiệu tổn thương hoặc bệnh lý nào. Một bên lưng bôi 0,5 ml mẫu thử. Một bên làm chứng bôi 0,5 ml nước cất. Vùng da được che phủ bằng một miếng băng gạc không thấm nước và cố định bằng băng y tế để đảm bảo chất thử nghiệm không bị trôi. Sau thời gian tiếp xúc 4 giờ, băng gạc và mẫu thử được loại bỏ một cách nhẹ nhàng và rửa sạch vùng da bằng nước ấm. Quan sát và ghi nhận các dấu hiệu kích ứng tại các thời điểm 1, 24, 48 và 72 giờ sau khi loại bỏ chất thử nghiệm. Các phản ứng như đỏ và sưng được đánh giá theo thang điểm từ 0 (không phản ứng) đến 4 (phản ứng mạnh), phản ứng kích ứng cho điểm từ 0 (không phù nề) đến 8 (phù nề tối đa) [9] (bảng 3).

Bảng 3. Hướng dẫn đánh giá tính kích ứng da của chế phẩm.

Loại phản ứng	Điểm trung bình
Kích ứng không đáng kể	Từ 0 đến 0,5
Kích ứng nhẹ	Lớn hơn 0,5 đến 2,0
Kích ứng vừa phải	Lớn hơn 2,0 đến 5,0
Kích ứng nghiêm trọng	Lớn hơn 5,0 đến 8,0

3. Kết quả và bàn luận

Các tiêu chí đánh giá đặc tính của gel rửa tay từ Chè xanh như cảm quan, pH, khả năng tạo bọt và độ ổn định bọt, khả năng phân tán chất bẩn của các công thức F1-F9 được trình bày ở các bảng 4-6.

Bảng 4. Kết quả khảo sát tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt (n=3).

Công thức	Cảm quan	pH	Khả năng phân tán bẩn	Độ nhớt (Cps)	Chiều cao bọt (cm)	Độ bền bọt (%)
F1	Đạt	5,46	0	133,4	3,6	88,89
F2	Đạt	5,68	1	135,2	4,8	91,67
F3	Đạt	5,43	1	131,8	6,1	91,80

Khả năng phân tán bẩn: 1: đạt; 0: không đạt.

Kết quả bảng 4 cho thấy, các công thức F1-F3 thể hiện khả năng tạo bọt của sản phẩm tăng tỷ lệ thuận với nồng độ chất hoạt tính bề mặt sử dụng. Cụ thể, khi tăng tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt từ 9 lên 15% thì chiều cao cột bọt tạo ra tăng từ 3,6 lên 6,1 cm. Mặt khác, độ bền bọt cũng tương tự tăng từ 88,89 lên 91,80%. Ở tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt 9% độ bền

bọt không đạt yêu cầu, còn khi tăng tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt từ 12 lên 15%, mặc dù cột bọt cao hơn đáng kể (từ 4,8 lên 6,1 cm), nhưng độ bền lại gần như tăng không đáng kể (từ 91,67 lên 91,80%). Để tối ưu khía cạnh kinh tế mà vẫn đáp ứng các thông số kỹ thuật, tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt được xác định là 12%. Kết quả này được sử dụng cho các khảo sát tiếp theo. Tỷ lệ chất làm đặc ảnh hưởng đến đặc tính sản phẩm được thể hiện ở bảng 5.

Bảng 5. Kết quả khảo sát tỷ lệ chất làm đặc HPMC (n=3).

Công thức	Cảm quan	pH	Khả năng phân tán bẩn	Độ nhớt (Cps)	Chiều cao bọt (cm)	Độ bền bọt (%)
F4	Đạt	5,53	1	135,5	4,8	91,67
F5	Đạt	5,57	1	151,3	5,0	94,00
F6	Đạt	5,49	0	172,1	5,2	94,12

Khả năng phân tán bẩn: 1: đạt; 0: không đạt.

Kết quả bảng 5 cho thấy, trong các công thức F4-F6, khi tăng tỷ lệ chất làm đặc từ 1 lên 2% thì chiều cao cột bọt tăng từ 4,8 lên 5,2 cm. Ngược lại, việc tăng tỷ lệ chất làm đặc không làm độ bền bọt tăng. Cụ thể, khi tỷ lệ này tăng từ 1 lên 1,5% thì độ bền tăng đáng kể (91,67 lên 94,00%). Sau đó tỷ lệ tăng lên 2,0% thì độ bền bọt không thay đổi đáng kể. Tỷ lệ chất làm đặc càng nhỏ thì càng kinh tế, đồng thời để tối ưu hóa độ bền bọt, do đó tỷ lệ này được lựa chọn là 1,5% (X1). Tỷ lệ X1 này được sử dụng để khảo sát tiếp X2 theo phương pháp mô tả ở trên. Kết quả khảo sát tỷ lệ chất giữ ẩm được thể hiện ở bảng 6.

Bảng 6. Kết quả khảo sát tỷ lệ chất giữ ẩm glycerin (n=3).

Công thức	Cảm quan	pH	Khả năng phân tán bẩn	Độ nhớt (Cps)	Chiều cao bọt (cm)	Độ bền bọt (%)
F7	Đạt	5,52	0	150,1	5,0	94,00
F8	Đạt	5,53	1	152,6	5,1	94,12
F9	Đạt	5,61	1	154,1	5,3	90,57

Khả năng phân tán bẩn: 1: đạt; 0: không đạt.

Kết quả bảng 6 cho thấy, trong các công thức F7-F9, khi nồng độ chất giữ ẩm glycerin tăng lên khả năng tạo bọt tăng tỷ lệ thuận. Cụ thể, nồng độ glycerin tăng từ 5 lên 9% thì chiều cao cột bọt tăng từ 5,0 lên 5,3 cm. Đồng thời, độ bền bọt giảm từ 94 xuống 90,57%. Như vậy, việc gia tăng nồng độ chất giữ ẩm từ 7 lên 9% không làm tăng độ bền mà còn giảm độ bền bọt. Do đó, để tối ưu tính chất bọt và khả năng giữ ẩm tốt, nồng độ glycerin được chọn là 7%.

Tổng hợp các kết quả khảo sát và khả năng phân tán chất bẩn của các công thức nghiên cứu, F8 được chọn là công thức phù hợp nhất với tỷ lệ chất hoạt tính bề mặt là 12%, tỷ lệ của chất làm đặc HPMC là 1,5% và tỷ lệ chất giữ ẩm glycerin là 7%.

Công thức F8 được bào chế 3 mẻ thử nghiệm quy mô 1 l/mẻ và sử dụng để kiểm tra khả năng kích ứng da. Hình ảnh cảm quan sản phẩm được thể hiện ở hình 1, kết quả đánh giá được thể hiện ở hình 2 và bảng 7.



Hình 1. Cầm quan sản phẩm gel rửa tay Chè xanh.

	Thử	Đối chứng
Thỏ 1 (mê 1)		
Thỏ 2 (mê 2)		
Thỏ 3 (mê 3)		

Hình 2. Hình ảnh da thỏ sau khi bôi chế phẩm 4 giờ.

Bảng 7. Kết quả đánh giá tính kích ứng da của sản phẩm.

Thỏ	Ban đỏ							
	1 giờ		24 giờ		48 giờ		72 giờ	
	Thử	Đối chứng	Thử	Đối chứng	Thử	Đối chứng	Thử	Đối chứng
Thỏ 1	0	0	0	0	0	0	0	0
Thỏ 2	0	0	0	0	0	0	0	0
Thỏ 3	0	0	0	0	0	0	0	0

Kết quả hình 2 và bảng 7 cho thấy, trên cả 3 thỏ, ở vùng da thử và đối chứng đều không có hiện tượng phù nề ở tất cả các thời điểm nghiên cứu là 1, 24, 48 và 72 giờ.

Nghiên cứu này tiến hành khảo sát 3 nhóm tá được quan trọng trong việc bào chế các sản phẩm tẩy rửa: chất nhũ hóa, chất làm đặc và chất giữ ẩm. Khả năng tạo bọt và độ bền bọt là căn cứ quan trọng để lựa chọn các thông số khảo sát. Đây

là một biến đầu ra dễ quan sát và đo đạc, không đòi hỏi máy móc thiết bị phức tạp hay thời gian kéo dài, đồng thời cũng phản ánh rất sát chất lượng của gel rửa tay (liên quan đến khả năng làm sạch vết bẩn). Mặc dù các kết quả đo có tính lặp lại hoặc tuyến tính, các đo đạc chỉ sử dụng các phương pháp đánh giá thông dụng (thước kẻ, đồng hồ...). Ngoài ra, phạm vi nghiên cứu cũng chỉ giới hạn ở khảo sát một số yếu tố công thức quan trọng, thực tế các công thức gel rửa tay ngoài thị trường là sự kết hợp của nhiều thành phần tá được khác nhau.

4. Kết luận

Thành phần công thức bào chế gel rửa tay Chè xanh gồm có chiết xuất Chè xanh (dạng cao khô) 1%, chất hoạt tính bề mặt 12%, chất làm đặc 1,5%, chất giữ ẩm 7%, ngoài ra là các chất phụ gia khác và nước vừa đủ 100%.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được thực hiện bởi đề tài “Nghiên cứu bào chế nước rửa tay Chè xanh DAINAGREEN” (mã số T2324-12) do Trường Đại học Đại Nam tài trợ. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] D.T. Loi (2015), *Medicinal Plants and Drugs of Vietnam*, Vietnam Medical Publishing House, 1494pp (in Vietnamese).
- [2] T. Zhao, C. Li, S. Wang, et al. (2022), “Green tea (*Camellia sinensis*): A review of its phytochemistry, pharmacology, and toxicology”, *Molecules*, **27**(12), DOI: 10.3390/molecules27123909.
- [3] W. Koch, J. Zagórska, Z. Marzec, et al. (2019), “Applications of tea (*Camellia sinensis*) and its active constituents in cosmetics”, *Molecules*, **24**(23), DOI: 10.3390/molecules24234277.
- [4] K. Kida, M. Suzuki, A. Takagaki, et al. (2002), “Deodorizing effects of tea catechins on amines and ammonia”, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **66**(2), pp.373-377, DOI: 10.1271/bbb.66.373.
- [5] A.T.K. Mustapha, K.A. Yohanna, Y.O. Ghazali, et al. (2020), “Design, formulation and evaluation of *Chasmanthera dependens* Hochst and *Chenopodium ambrosioides* Linn based gel for its analgesic and anti-inflammatory activities”, *Heliyon*, **6**(9), DOI: 10.1016/j.heliyon.2020.e04894.
- [6] M.A. Shahtalebi, G.R. Asghari, F. Rahmani, et al. (2018), “Formulation of herbal gel of *Antirrhinum majus* extract and evaluation of its anti-*Propionibacterium acne* effects”, *Advanced Biomedical Research*, **7**, DOI: 10.4103/abr.abr_99_17.
- [7] P.K. Mane, A. Dangare (2020), “Herbal face wash gel of *Cynodon dactylon* having antimicrobial, anti-inflammatory action”, *Pharmaceutical Resonance*, **3**(1), pp.36-43.
- [8] J. Singh, M. Sharma, T.P. Jyoti, et al. (2022), “Formulation and evaluation of anti-microbial herbal hand wash gel containing aqueous extract of *Sapindus mukorossi*”, *Archives Clin. Med. Microbiol.*, **1**(1), pp.31-34.
- [9] Organisation for Economic Co-operation and Development (2015), *OECD Guidelines for The Testing of Chemicals, Section 4*, <https://www.oecd-ilibrary.org/docserver/9789264242678-en.pdf?expires=1719474616&id=id&accname=guest&checksum=E75FEA3B2D81957A05247BB2C44DDEB8>, accessed 1 March 2023.

Đánh giá kết quả sớm chẩn đoán và điều trị tổn thương động mạch khoeo trong chấn thương vùng gối tại Bệnh viện Bình Dân

Nguyễn Ngọc Hiếu^{1*}, Cao Kim Xoa², Dương Hoàng Kim Kiều³, Huỳnh Quang Khánh⁴, Hồ Khánh Đức⁵

¹Bệnh viện Quân y 7A, 466 Nguyễn Trãi, phường 8, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Đại học Y Dược TP Hồ Chí Minh, 41 Đinh Tiên Hoàng, phường Bến Nghé, quận 1, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

³Trường Đại học Nguyễn Tất Thành, 300A Nguyễn Tất Thành, phường 13, quận 4, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁴Bệnh viện Chợ Rẫy, 201B Nguyễn Chí Thanh, phường 12, quận 5, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

⁵Bệnh viện Bình Dân, 371 Điện Biên Phủ, phường 4, quận 3, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

Ngày nhận bài 27/5/2024; ngày chuyển phản biện 29/5/2024; ngày nhận phản biện 22/6/2024; ngày chấp nhận đăng 24/6/2024

Tóm tắt:

Mục tiêu: Mô tả các dấu hiệu lâm sàng, cận lâm sàng chẩn đoán sớm và đánh giá kết quả ngắn hạn phẫu thuật điều trị tổn thương động mạch khoeo trong chấn thương vùng gối. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu hồi cứu mô tả được thực hiện trên 30 bệnh nhân (BN) bị chấn thương vùng gối có tổn thương động mạch khoeo được phẫu thuật tại Bệnh viện Bình Dân từ tháng 8/2016 đến tháng 6/2021. **Kết quả:** Tuổi trung bình của các BN nhập viện là $35,5 \pm 12,8$; trong đó nam giới chiếm chủ yếu là 73,3%. Các trường hợp nhập viện chủ yếu do tai nạn giao thông (83,4%). 76,7% mạch ngoại vi mất, giảm tuần hoàn mao mạch. Đa số BN được xác định mất tín hiệu dòng chảy trên siêu âm với tỷ lệ 95,3%. Phần lớn các BN được xử trí tổn thương bằng phương pháp ghép tĩnh mạch với tỷ lệ là 63,3%. BN sau phẫu thuật đều có tín hiệu dòng chảy lưu thông tốt, chiếm 93,3%. Biến chứng tắc mạch sau phẫu thuật chiếm 6,7%. Có hai trường hợp được phẫu thuật lần 2 để tái thông động mạch khoeo: một trường hợp bảo tồn được chi và một trường hợp đoạn chi thì 2. **Kết luận:** Kết quả nghiên cứu cho thấy, việc áp dụng các biện pháp chẩn đoán, xử trí cấp cứu và phẫu thuật phù hợp đã đem lại kết quả điều trị tích cực, giúp giảm tỷ lệ cắt cụt chi và các biến chứng nặng nề khác.

Từ khóa: chấn thương vùng gối, tái thông mạch máu, tổn thương động mạch khoeo.

Chỉ số phân loại: 3.2

Evaluation of early results of diagnosis and treatment of popliteal artery injury in knee trauma at Binh Dan Hospital

Ngoc Hieu Nguyen^{1*}, Kim Xoa Cao², Hoang Kim Kieu Duong³, Quang Khanh Huynh⁴, Khanh Duc Ho⁵

¹7A Military Hospital, 466 Nguyen Trai Street, Ward 8, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

²University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, 41 Dinh Tien Hoang Street, Ben Nghe Ward, District 1, Ho Chi Minh City, Vietnam

³Nguyen Tat Thanh University, 300A Nguyen Tat Thanh Street, Ward 13, District 4, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁴Cho Ray Hospital, 201B Nguyen Chi Thanh Street, Ward 12, District 5, Ho Chi Minh City, Vietnam

⁵Binh Dan Hospital, 371 Dien Bien Phu Street, Ward 4, District 3, Ho Chi Minh City, Vietnam

Received 27 May 2024; revised 22 June 2024; accepted 24 June 2024

Abstract:

Objectives: To describe the clinical and subclinical signs for early diagnosis and evaluate the short-term outcomes of surgical treatment of popliteal artery injury in knee trauma. **Materials and methods:** A retrospective descriptive study was conducted on 30 patients with knee trauma and popliteal artery injury who underwent surgery at Binh Dan Hospital from August 2016 to June 2021. **Results:** The mean age of admitted patients was 35.5 ± 12.8 years, predominantly male (73.3%). The majority of cases were due to traffic accidents (83.4%). Peripheral pulse was absent or decreased in 76.7% of patients. Most patients (95.3%) showed loss of flow signal on ultrasound. The most common surgical intervention was venous graft repair (63.3%). After surgery, 93.3% of patients had good flow restoration. The postoperative arterial occlusion rate was 6.7%. There were two cases that required a second surgery for popliteal artery recanalisation: one case where limb salvage was achieved, and one case that resulted in amputation. **Conclusion:** The application of appropriate diagnostic measures, emergency management, and surgical intervention has resulted in positive treatment outcomes, helping to reduce the rate of limb amputation and other severe complications.

Keywords: knee trauma, popliteal artery injury, vascular reconstruction.

Classification number: 3.2

*Tác giả liên hệ: Email: drnguyenhieu.ctch7a@gmail.com

1. Đặt vấn đề

Động mạch khoeo là động mạch duy nhất cung cấp máu cho vùng cẳng chân, nên tổn thương nó thường dẫn đến hậu quả nghiêm trọng như nguy cơ đoạn chi rất cao. Chẩn đoán tổn thương động mạch khoeo gặp nhiều khó khăn, do triệu chứng có thể bị che lấp bởi các tổn thương khác và hội chứng chèn ép khoang. Tại Việt Nam, các nghiên cứu về vấn đề này còn hạn chế, tuy vậy hầu hết các nghiên cứu đều cho thấy tỷ lệ đoạn chi khá cao. Theo N.H. Binh (2001) [1], tỷ lệ đoạn chi trong chấn thương động mạch khoeo giai đoạn 1999-2004 là 19,4%. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu: “Đánh giá kết quả chẩn đoán và điều trị tổn thương động mạch khoeo trong chấn thương vùng gối” với hy vọng góp phần chẩn đoán sớm nhằm làm giảm các biến chứng và phục hồi chức năng tốt cho BN.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

Tiêu chuẩn chọn: Những BN bị chấn thương vùng gối có tổn thương động mạch khoeo được phẫu thuật tại Bệnh viện Bình Dân.

Tiêu chuẩn loại trừ: Những BN được chỉ định cắt cụt thì đầu do thiếu máu chi không hồi phục, tổn thương dập nát phần mềm quá nặng hoặc tình trạng sốc không hồi phục sau khi hồi sức không cho phép kéo dài cuộc phẫu thuật. Những BN có chấn thương sọ não nặng kèm theo (Glasgow từ 3 đến 8 điểm).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp nghiên cứu: Nghiên cứu hồi cứu mô tả.

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện bao gồm tất cả các BN thỏa mãn tiêu chuẩn nhận vào và loại trừ tại Bệnh viện Bình Dân trong thời gian từ tháng 8/2016 đến 6/2021.

Cách thức thu thập số liệu: Chọn các trường hợp thỏa mãn tiêu chí chọn mẫu và ghi đầy đủ các số liệu trên hồ sơ vào phiếu thu thập số liệu đã soạn sẵn. Thu thập các thông tin hành chính, lâm sàng, cận lâm sàng trước, trong lúc phẫu thuật, giai đoạn hậu phẫu và các biến chứng.

Tiêu chuẩn chẩn đoán: Chẩn đoán tổn thương động mạch dựa vào triệu chứng thiếu máu ngoại vi cấp tính và mạch ngoại vi mất. Nếu trường hợp có mạch ngoại vi yếu thì chẩn đoán tổn thương động mạch dựa vào siêu âm Doppler mạch có hình ảnh mất phổ sóng động mạch ba pha, mất tín hiệu

dòng chảy hoặc huyết khối lòng mạch hoặc hình ảnh cắt lớp vi tính dạng hình mạch máu chi dưới.

Chẩn đoán sốc chấn thương: dựa vào chỉ số sốc (SI) >0,9.

Chẩn đoán tiêu cơ vân cấp: Creatinkinase (CK) huyết thanh ≥ 1000 đv/lít, CK - MB huyết thanh <5%.

Chẩn đoán suy thận cấp: Creatinin máu >130 $\mu\text{mol/lít}$.

Chẩn đoán hình thái tổn thương: Gãy xương, sai khớp và tổn thương phần mềm.

Chỉ định phẫu thuật tổn thương động mạch khoeo: BN khám toàn diện, xem có tổn thương phối hợp, khám lâm sàng, được chỉ định cận lâm sàng như chụp X-quang, Doppler, DSA, Angiography, được chẩn đoán tổn thương mô mềm, xương, mạch khoeo/giờ, cơ chế chấn thương. BN sau khi được chẩn đoán xác định được chỉ định phẫu thuật tổn thương động mạch khoeo.

Đánh giá các biến số nghiên cứu:

Đặc điểm của mẫu nghiên cứu: Tuổi, giới tính, lý do nhập viện.

Đặc điểm lâm sàng của mẫu nghiên cứu: Tổng trạng khi nhập viện, dấu hiệu tổn thương mạch máu, các dạng tổn thương vùng khớp gối, mức độ tổn thương, chỉ số M.E.S.S.

Đặc điểm cận lâm sàng: Siêu âm Doppler mạch máu, hình ảnh học trên chụp cắt lớp vi tính, chụp mạch máu xóa nền chi tổn thương.

Đặc điểm phẫu thuật: Thời gian từ lúc bị tai nạn cho đến khi được phẫu thuật, thời điểm can thiệp phục hồi động mạch khoeo, phương pháp xử trí tổn thương xương/khớp gối, đặc điểm tổn thương động mạch khoeo.

Kết quả phẫu thuật:

+ Đánh giá kết quả tưới máu chi: biến định danh, gồm rất tốt, tốt, trung bình và kém. Theo phân loại của L.M. Hoang (2015) [2], chúng tôi đưa ra bảng đánh giá kết quả tưới máu chi như ở bảng 1:

Bảng 1. Phân loại kết quả tưới máu chi.

	Mạch ngoại vi	Màu sắc	Nhiệt độ	Vận động	Cảm giác
Rất tốt	Đập rõ	Hồng	Ấm	Bình thường	Tốt
Tốt	Đập rõ	Hồng	Ấm	Giảm	Giảm ít
Trung bình	Đập yếu	Nhợt	Lạnh	Giảm	Giảm nhiều
Kém	Không đập	Tim, đen	Lạnh	Mất	Mất

+ Kết quả xử trí gãy xương: chụp X-quang sau mổ, tham khảo cách đánh giá theo Larson và Bostman, chia làm 4 kết quả đánh giá (bảng 2):

Bảng 2. Phân loại kết quả cố định xương bị gãy.

Kết quả	Kết quả nắn chỉnh	Cố định xương khớp
Rất tốt	Hết di lệch	Vững chắc
Tốt	Di lệch ít	Vững chắc
Trung bình	Di lệch nhiều	Tương đối vững
Kém	Di lệch hoàn toàn	Không vững chắc

Xử lý số liệu: Số liệu được xử lý bằng phần mềm SPSS 20.0.

3. Kết quả

Tổng số có 30 BN thỏa mãn tiêu chí chọn mẫu là BN bị chấn thương vùng gối có tổn thương động mạch khoeo được phẫu thuật tại Bệnh viện Bình Dân trong thời gian từ tháng 8/2016 đến 6/2021.

3.1. Đặc điểm mẫu nghiên cứu

Bảng 3. Đặc điểm chung của mẫu nghiên cứu.

Đặc điểm chung		Tần suất (n)	Tỷ lệ (%)
Giới tính	Nam	22	73,3
	Nữ	8	26,7
Nhóm tuổi	<30	2	6,7
	30-50	19	63,3
	>50	9	30
Lý do nhập viện	Tai nạn giao thông	25	83,4
	Tai nạn sinh hoạt	4	13,3
	Tai nạn lao động	1	3,3

Tuổi trung bình của các BN là $35,5 \pm 12,8$, nam giới chiếm chủ yếu là 73,3%, các trường hợp nhập viện chủ yếu do tai nạn giao thông (83,4%) (bảng 3).

3.2. Đặc điểm lâm sàng của nhóm nghiên cứu

Kết quả bảng 4 cho thấy, hầu hết BN nhập viện trong tình trạng tỉnh táo (96,7%), 2 BN có tình trạng sốc. Có 16,7% BN tổn thương kèm theo cơ quan khác, 10% chấn thương ngực.

Tỷ lệ BN tổn thương chân trái (63,3%) cao gấp 2 lần so với chân phải; 83,3% BN có dấu tụ máu quanh vùng khớp gối sau chấn thương. Tất cả BN đều có dấu hiệu gợi ý tổn thương động mạch khoeo; 76,7% mạch ngoại vi mất, giảm tuần hoàn mao mạch. 10% có hội chứng chèn ép khoang cẳng chân.

60% BN có gãy mâm chày - 1/3 trên cẳng chân, đa số BN có tổn thương mô mềm mức độ vừa (63,3%). Theo thang điểm M.E.S.S có 80% BN có thang điểm ≤ 7 .

Bảng 4. Đặc điểm lâm sàng của nhóm nghiên cứu.

Đặc điểm lâm sàng		Số BN	Tỷ lệ (%)	
Tổng trạng khi nhập viện (n=30)				
Trí giác lúc nhập viện	Tỉnh	29	96,7	
	Lơ mơ	1	3,3	
Tình trạng sốc	Không	28	93,3	
	Có	2	6,7	
Tổn thương đi kèm	Tổn thương kèm theo cơ quan khác	5	16,7	
	Dập thán	1	3,3	
	Chấn thương sọ não	1	3,3	
	Chấn thương ngực	3	10,0	
Dấu hiệu tổn thương mạch máu (n=30)				
Chân bị tổn thương	Bên phải	11	36,7	
	Bên trái	19	63,3	
Tụ máu quanh vùng gối	Có	25	83,3	
	Không	5	16,7	
Lạnh chi	Có	19	63,3	
	Không	11	36,7	
Tim tái	Có	3	10	
	Không	27	90	
Cảm giác chi	Bình thường	21	70	
	Giảm	8	26,7	
	Mất	1	3,3	
Vận động chi	Bình thường	24	80	
	Yếu	4	13,3	
	Liệt	2	6,7	
Bất mạch ngoại biên	Yếu	6	20	
	Mất	24	80	
Thiếu máu ngoại vi	Mạch ngoại vi giảm	5	16,7	
	Mạch ngoại vi mất, giảm tuần hoàn mao mạch	23	76,7	
	Lạnh, tê, mất hoàn toàn mao mạch	2	6,6	
Hội chứng chèn ép khoang	Có	3	10	
	Không	27	90	
Các dạng tổn thương vùng khớp gối (n=30)				
Vết thương xuyên thấu		1	3,3	
Gãy phối hợp		2	6,7	
Gãy mâm chày - 1/3 trên cẳng chân		18	60	
Trật khớp gối		8	26,7	
Gãy 1/3 dưới đùi - lồi cầu		1	3,3	
Mức độ tổn thương vùng gối (n=27)				
Gãy 1/3 dưới xương đùi - lồi cầu (n=1)	Phân loại B theo AO	1	100	
Gãy mâm chày - 1/3 trên cẳng chân (n=18)	Phân loại theo Schatzker	Loại 1: gãy tách dọc mâm chày ngoài	2	11,1
		Loại 3: gãy lún trung tâm mâm chày ngoài	3	16,7
		Loại 4: gãy mâm chày trong làm nhiều mảnh	9	50
		Loại 5: gãy hai mâm chày	2	11,1
		Loại 6: gãy hai mâm chày có đường gãy chéo xuống thân xương	2	11,1
Trật khớp gối (n=8)	Loại 2: trật khớp ra sau	6	75	
	Loại 4: trật khớp vào trong	2	25	
Mức độ tổn thương phần mềm theo thang điểm M.E.S.S (n=30)				
Nhẹ		9	30	
Vừa		19	63,3	
Nặng		2	6,7	
Đánh giá mức độ tổn thương chi theo thang điểm M.E.S.S (n=30)				
7 điểm		24	80	
8 điểm		4	13,3	
9 điểm		2	6,7	

3.3. Đặc điểm cận lâm sàng chẩn đoán tổn thương động mạch khoeo

Bảng 5. Đặc điểm cận lâm sàng chẩn đoán tổn thương động mạch khoeo.

Đặc điểm cận lâm sàng	Số BN	Tỷ lệ (%)
Đặc điểm trên siêu âm Doppler mạch máu (n=21)		
Tổn thương động mạch khoeo trên siêu âm	Giảm vận tốc dòng chảy	1 4,7
	Mất tín hiệu dòng chảy	20 95,3
Tuần hoàn bàng hệ trên siêu âm	Có	19 90,5
	Không	2 9,5
Đặc điểm hình ảnh học trên chụp cắt lớp vi tính dựng hình ảnh mạch máu (n=29)		
Tổn thương động mạch khoeo trên chụp cắt lớp vi tính	Tắc nghẽn, cắt cụt	29 100
	Không	0 0
Tuần hoàn bàng hệ trên chụp cắt lớp vi tính	Có	29 100
	Không	0 0
Tái hiện động mạch chảy - máu	Có	27 93,1
	Không	02 6,9
Đặc điểm chụp mạch máu xóa nền chi tổn thương (n=9)		
Tắc nghẽn, cắt cụt	8	88,9
Thoát thuốc cản quang ra ngoài lòng động mạch	1	11,1

Xác định tổn thương động mạch khoeo bằng phương pháp siêu âm, có 95,3% các trường hợp thực hiện phương pháp được xác định mất tín hiệu dòng chảy. Đa số BN được xác định có tuần hoàn bàng hệ trên siêu âm với tỷ lệ là 90,5% (bảng 5).

Trong số BN được chụp cắt lớp vi tính, 100% BN được xác định tắc nghẽn, cắt cụt động mạch khoeo, đồng thời 100% có tuần hoàn bàng hệ. 93,1% có tái hiện đầu xa động mạch chảy - máu.

88,9% BN bị tắc nghẽn và cắt cụt khi xác định tổn thương động mạch khoeo bằng chụp mạch máu xóa nền chi tổn thương.

3.4. Đặc điểm phẫu thuật

Bảng 6. Đặc điểm phẫu thuật.

Đặc điểm phẫu thuật	Số BN	Tỷ lệ (%)
Thời gian từ lúc bị tai nạn cho đến khi được phẫu thuật (n=30)		
6-12 giờ	10	33,3
>12-36 giờ	16	53,4
>36 giờ	4	13,3
Thời gian từ lúc chấn thương đến khi phẫu thuật trung bình (giờ) 19,0 (5,8-40,5)		
Thời điểm can thiệp phục hồi động mạch khoeo (n=30)		
Trước khi can thiệp chỉnh hình	12	40
Sau khi can thiệp chỉnh hình	18	60
Phương pháp xử trí tổn thương xương/khớp gối (n=30)		
Không	2	6,7
Nẹp bột	10	33,3
Cố định ngoài	1	3,3
Kết hợp xương	17	56,7

Kết quả bảng 6 cho thấy, thời gian trung bình từ lúc tai nạn đến phẫu thuật là 19 giờ, nhanh nhất là 5,8 giờ và chậm nhất là 40,5 giờ. Có 60% BN được xử trí tổn thương động mạch khoeo sau khi can thiệp chỉnh hình xương. Về xử trí tổn thương vùng gối, có 56,7% được kết hợp xương, 33,3% nẹp bột và 3,3% được cố định ngoài.

Bảng 7. Đặc điểm về tổn thương động mạch khoeo.

		Số BN	Tỷ lệ (%)	
Vị trí tổn thương mạch khoeo (n=30)				
Động mạch khoeo đoạn trên gối		8	26,7	
Động mạch khoeo đoạn dưới gối		13	43,3	
Động mạch khoeo đoạn sau gối		9	30	
Hình thái tổn thương và xử lý (n=30)				
Hình thái	Đứt rời	7	23,3	
	Tổn thương thành động mạch kèm huyết khối	23	76,7	
Xử trí (n=30)	Nối tận - tận (n=11)	Trước khi can thiệp chỉnh hình	7	63,6
		Sau khi can thiệp chỉnh hình	4	36,4
		p=0,044		
		OR (KTC 95%): 4,9		
	Ghép tĩnh mạch (n=19)	Trước khi can thiệp chỉnh hình	5	26,3
		Sau khi can thiệp chỉnh hình	14	73,7
Tổn thương thần kinh và xử lý (n=30)				
Tổn thương thần kinh chân	Không	25	83,3	
	Đứt	4	13,3	
	Dập	1	3,4	
Xử trí tổn thương thần kinh chân	Không	26	86,7	
	Khâu nối	4	13,3	
Tổn thương tĩnh mạch và xử lý (n=30)				
Tổn thương tĩnh mạch	Có	2	6,7	
	Không	28	93,3	
Xử trí tĩnh mạch	Không	29	96,6	
	Ghép tĩnh mạch	1	3,4	
Thời gian phẫu thuật (phút)				
Trung bình ± SD: 99,9±59,7				
Nhỏ nhất - lớn nhất: 35-240				
Rạch giải áp khoang chủ động				
Rạch giải ép khoang căng chân chủ động sau khi phục hồi lưu thông động mạch khoeo		17	56,7	

Tổn thương động mạch khoeo đoạn dưới gối chiếm đa số với 43,3%, kèm huyết khối với tỷ lệ 76,7% (bảng 7). BN được xử trí bằng hình thức nối tận - tận ở nhóm trước can thiệp chỉnh hình cao gấp 1,7 lần so với nhóm sau can thiệp chỉnh hình (p=0,044).

Đa số BN không có tổn thương thần kinh chày (83,3%), được xử trí bằng khâu nối lại (13,3%). Chỉ có 2 BN có tổn thương tĩnh mạch và 1 BN được ghép tĩnh mạch.

Thời gian phẫu thuật trung bình là $99,9 \pm 59,7$ phút, nhanh nhất là 35 phút và lâu nhất là 240 phút. Có 17 BN được rạch giải ép khoang căng chân chủ động sau khi phục hồi lưu thông động mạch khoeo.

3.5. Kết quả phẫu thuật

Bảng 8. Kết quả phẫu thuật.

Đánh giá siêu âm Doppler sau mổ (n=30)		Số BN	Tỷ lệ (%)
Lưu thông tốt		28	93,3
Mất tín hiệu dòng chảy		2	6,7
Các biến chứng hậu phẫu (n=30)			
Chèn ép khoang	Có	2	6,7
	Không	28	93,3
Tắc miệng nối	Có	2	6,7
	Không	28	93,3
Hoại tử cơ	Có	1	3,3
	Không	29	96,7
Suy thận cấp	Có	1	3,3
	Không	29	96,7
Chảy máu sau mổ	Có	3	10,0
	Không	27	90,0
Đoạn chi thì 2	Có	1	3,3
	Không	29	96,7
Thời gian nằm viện		Số ngày	
Trung bình $\pm$ SD		$7,2 \pm 2,8$	
Nhỏ nhất - lớn nhất		4-15	
Kết quả tưới máu chi sau mổ (n=30)		Số BN	Tỷ lệ (%)
Rất tốt		11	36,7
Tốt		18	60,0
Kém		1	3,3
Kết quả cố định xương/khớp sau mổ		Tỷ lệ (%)	
Trật khớp gối (n=8)	Rất tốt	62,5	
	Tốt	25,0	
	Trung bình	12,5	
Gãy xương (n=20)	Rất tốt	35,0	
	Tốt	50,0	
	Trung bình	15,0	
Kết quả theo dõi sau 1 tháng (n=29)		Số BN	Tỷ lệ (%)
Siêu âm Dopler	Lưu thông tốt	29	100
Màu sắc chi	Chi hồng	29	100

Kết quả bảng 8 cho thấy, 93,3% BN có tín hiệu dòng chảy tốt sau phẫu thuật, biến chứng hay gặp nhất là chảy máu (10%) và không ghi nhận ca tử vong nào. Thời gian nằm viện trung bình $7,2 \pm 2,8$ ngày. Kết quả tưới máu chi sau phẫu thuật là tốt (60%) và rất tốt (36,7%). Về mặt chỉnh hình nhóm gãy xương có kết quả rất tốt (35%), tốt (50%). Nhóm trật khớp có kết quả rất tốt (62,5%), tốt (25%). Hầu hết BN sau phẫu thuật đều phục hồi tốt, sau 1 tháng động mạch khoeo lưu thông tốt và các chi hồng.

4. Bàn luận

4.1. Đặc điểm của mẫu nghiên cứu

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $35,5 \pm 12,8$, trong đó nam chiếm 73,3%, đa số các BN nằm trong độ tuổi từ 30 đến 50 tuổi chiếm 63,3%. Nguyên nhân nhập viện chủ yếu là do tai nạn giao thông, chiếm tới 83,4%. Tương tự với nghiên cứu của D.N. Thang và cs (2020) [3] ghi nhận nam giới chiếm tỷ lệ 90,47% với độ tuổi trung bình ở trong độ tuổi lao động là 35,6 tuổi, hầu hết liên quan tới tai nạn giao thông và lao động.

4.2. Đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của nhóm nghiên cứu

Hầu hết BN nhập viện trong tình trạng tỉnh táo chiếm 96,7%. 2 BN vào viện với tình trạng sốc có HA tâm thu < 90 mmHg, được hồi sức ổn định sau 30 phút. Theo nghiên cứu của L.M. Hoang (2015) [2], tỷ lệ BN sốc chấn thương khi tới viện chiếm khoảng 18,9%.

Chúng tôi ghi nhận các dạng tổn thương vùng gối bao gồm gãy mâm chày - 1/3 trên căng chân chiếm đa số (60%), trật khớp gối 26,7% và gãy phối hợp 6,7%. Tỷ lệ tổn thương chân trái là 63,3%, cao gấp 2 lần so với chân phải 36,7%. Có thể lý giải tỷ lệ chấn thương bên trái thường cao hơn bên phải là do khi té ngã hoặc tai nạn, chúng ta thường có xu hướng ngã nghiêng về phía không thuận hơn. Tại Bệnh viện Hữu nghị Việt Đức, N.H. Uoc và cs (2007) [4] có đến 65,5% trường hợp do gãy xương và trật khớp gối.

Chúng tôi khám ghi nhận có 20% BN bắt mạch ngoại biên yếu, 80% mất mạch. 10% có hội chứng chèn ép khoang. Theo N.H. Uoc và cs (2007) [4], mất mạch ngoại vi là dấu hiệu rất có giá trị trong chẩn đoán tổn thương động mạch với độ đặc hiệu lên đến 93%. J. Mennétrey và cs (1998) [5] ghi nhận trong số 100 trường hợp hội chứng chèn ép khoang ở căng chân thì có đến 40% xảy ra từ 12 đến 24 giờ sau chấn thương.

4.3. Đặc điểm chẩn đoán tổn thương động mạch khoeo

Trong nghiên cứu của chúng tôi có 21 BN được siêu âm đánh giá tổn thương động mạch khoeo, xác định mất tín hiệu dòng chảy chiếm 95,3%, giảm lưu lượng chỉ chiếm 4,7%. Trong nghiên cứu của D.N. Thang và cs (2020) [3], tất cả BN đều được tiến hành siêu âm doppler đánh giá mạch máu dù tác giả cho rằng không cần thực hiện để chẩn đoán xác định.

Nghiên cứu của chúng tôi ghi nhận 80% BN có thang điểm M.E.S.S ≤ 7 điểm và ≥ 9 điểm chiếm 6,7%. Theo các nghiên cứu, giá trị tiên lượng tỷ lệ đoạn chi theo chỉ số M.E.S.S còn nhiều tranh cãi. Chỉ số M.E.S.S lớn hơn hay bằng 7 tiên đoán tỷ lệ đoạn chi chính xác đến 100% [6]. Tuy nhiên, theo A.D. Dueck và cs (2003) [7], hồi cứu lại lô nghiên cứu của Johansen thì độ nhạy của M.E.S.S chỉ còn 42%, với độ nhạy này nghĩa là phần lớn các trường hợp có M.E.S.S < 7 được điều trị bảo tồn sẽ có khả năng thất bại dẫn tới đoạn chi sau này có thể có những biến chứng. Như vậy, M.E.S.S ≥ 7 không có giá trị tiên lượng đoạn chi. Trong nghiên cứu của chúng tôi, do cỡ mẫu còn nhỏ và không đủ để đánh giá nên chúng tôi cũng không so sánh được tương quan giữa chỉ số M.E.S.S và tỷ lệ đoạn chi. Tuy nhiên, chúng tôi cho rằng đây vẫn là một chỉ số có giá trị và nên được đánh giá trên những BN gãy xương có tổn thương mạch máu chi dưới nhằm đưa ra tiên lượng bảo tồn chi và có hướng xử trí thích hợp cho BN.

4.4. Đặc điểm phẫu thuật

Chúng tôi ghi nhận thời gian từ lúc BN bị tai nạn cho đến khi được phẫu thuật trung bình là 19 giờ, nhanh nhất là 5,8 giờ và chậm nhất là 40,5 giờ. Có 4 trường hợp có thời gian từ lúc nhập viện đến khi phẫu thuật > 36 giờ, trong đó có 1 trường hợp phải đoạn chi thì 2. Nghiên cứu của L.M. Hoang (2015) [2] cho thấy, BN được phẫu thuật sớm nhất là 2 giờ và muộn nhất là 25 giờ, thời gian trung bình là $5,8 \pm 4,0$ giờ kể từ khi bị tai nạn.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 60% trường hợp được xử trí tổn thương động mạch khoeo sau khi can thiệp chỉnh xương. Nghiên cứu của S. Waikakul và cs (1998) [8] ghi nhận 64 BN gãy xương chi dưới có tổn thương mạch máu đều được kết hợp xương trước khi xử trí mạch máu, trong đó kết hợp xương trong trên 19 BN (29,7%) và kết hợp xương bên ngoài cho 45 BN (70,3%).

Về xử trí tổn thương vùng gối, chúng tôi có 56,7% được kết hợp xương, 33,3% số BN được xử lý bằng phương pháp nẹp bột và 3,3% được cố định ngoài. Nghiên cứu của D.N. Thang và cs (2020) [3] ghi nhận xử trí tổn thương xương có 9,5% được cố định ngoài vì và còn lại 90,5% xuyên đinh cố định khớp gối.

Chúng tôi xử trí tổn thương bằng phương pháp ghép tĩnh mạch chiếm phần lớn (63,3%) và nối tận - tận (36,7%). 56,7% được rạch giải ép khoang căng chân chủ động khi phục hồi lưu thông động mạch khoeo. W. Schlickewei và cs (1992) [9] thống kê cho thấy, với tổn thương mạch máu kèm gãy xương, tỷ lệ ghép mạch tự thân là 80,0%, ghép mạch nhân tạo 3,3%, nối tận tận 14,4% và khâu vết thương 2,2%. Trong nghiên cứu của D.N. Thang và cs (2020) [3], có 20/21 BN được mở cân căng chân trong mổ, vì đa phần BN được phẫu thuật sau tai nạn trên 12 giờ.

Chúng tôi ghi nhận có 17 TH (chiếm 56,7%) được rạch giải ép khoang căng chân chủ động sau khi phục hồi lưu thông động mạch khoeo. Ngoài ra trong hậu phẫu chúng tôi có 2 trường hợp (6,7%) có biến chứng chèn ép khoang và phải phẫu thuật rạch giải áp, kết quả bảo tồn được chi cho BN. Trong nghiên cứu của D.N. Thang và cs (2020) [3], có 20/21 BN được mở cân căng chân trong mổ, vì đa phần BN được phẫu thuật sau tai nạn trên 12 giờ. Nhiều tác giả khác cho rằng nên thực hiện mở cân đối với tổn thương mạch máu chi dưới có thời gian thiếu máu chi > 6 giờ [10].

4.5. Kết quả phẫu thuật

Nghiên cứu của chúng ghi nhận đa số BN sau khi phẫu thuật đều có tín hiệu dòng chảy lưu thông tốt qua siêu âm doppler (93,3%), tuy nhiên có 6,7% mất tín hiệu dòng chảy. Kết quả phẫu thuật ở mức rất tốt và tốt của chúng tôi tương đương với kết quả của L.M. Hoang (2015) [2] với tỷ lệ $> 80\%$, sau khi được phục hồi lưu thông mạch máu có 75,5% mạch ngoại vi trở lại bình thường, mạch ngoại vi đập yếu (22,6%) và không sờ thấy mạch ngoại vi chiếm tỷ lệ thấp (1,9%).

Chảy máu sau mổ là một biến chứng thường gặp sau mổ chấn thương, tỷ lệ chảy máu sau phẫu thuật của chúng tôi là 10% và các biến chứng khác chèn ép khoang (6,7%), tắc miêng nối (6,7%), hoại tử cơ (3,3%), suy thận cấp (3,3%), đoạn chi thì 2 (3,3%). Nghiên cứu của D.N. Thang và cs (2020) [3] ghi nhận tỷ lệ biến chứng bao gồm nhiễm trùng (9,5%), tắc mạch (4,8%), chảy máu (4,8%), hoại tử cơ căng chân (23,8%).

5. Kết luận

Chẩn đoán và điều trị sớm các tổn thương động mạch khoeo trong chấn thương vùng gối rất quan trọng để cải thiện kết quả và hạn chế biến chứng nặng nề. Tuy nhiên, đây là tổn thương phức tạp, đòi hỏi sự đánh giá toàn diện và phối hợp chặt chẽ của đội ngũ y bác sĩ. Các bước quan trọng bao gồm: đánh giá lâm sàng và cận lâm sàng để chẩn đoán chính xác; phẫu thuật cấp cứu, cố định xương và phục hồi lưu thông mạch máu; theo dõi chặt chẽ trước, trong và sau phẫu thuật để phát hiện và xử lý biến chứng. Với chẩn đoán sớm, điều trị kịp thời và theo dõi chặt chẽ, BN có cơ hội phục hồi chức năng và quay lại cuộc sống bình thường.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] N.H. Bình (2001), *Study of Prognostic Factors in Popliteal Artery Injury*, Master Thesis, University of Medicine and Pharmacy at Ho Chi Minh City, pp.216-222 (in Vietnamese).
- [2] L.M. Hoang (2015), *Study of Clinical and Paraclinical Characteristics and Treatment of Major Vascular Injuries in Trauma and Dislocation of The Lower Limb*, Doctoral Thesis in Medicine, Military Medical Academy (in Vietnamese).
- [3] D.N. Thang, V.N. Tu, T.T. Kien, et al. (2020), “Surgical outcomes of popliteal artery injury due to knee dislocation at Viet Duc Friendship Hospital”, *The Vietnam Journal of Cardiovascular and Thoracic Surgery*, **30**, pp.17-23, DOI: 10.47972/vjcts.v30i.470 (in Vietnamese).
- [4] N.H. Uoc, C.D. Nghia, D.D. Hung, et al. (2007), “Evaluation of emergency management of peripheral vascular injuries at Viet Duc Hospital from 2004 to 2006”, *Journal of Surgery*, **57(4)**, pp.12-18 (in Vietnamese).
- [5] J. Mennétrey, R. Peter (1998), “Syndrome de loge aigu de jambe post-traumatique”, *Revue de Chirurgie orthopédique*, Masson, **84**, pp.272-280.
- [6] A. Dua, S.S. Desai, J.O. Shah, et al. (2014), “Outcome predictors of limb salvage in traumatic popliteal artery injury”, *Ann. Vasc. Surg.*, **28(1)**, pp.108-114, DOI: 10.1016/j.avsg.2013.06.017.
- [7] A.D. Dueck, D.S. Kucey (2003), “The management of vascular injuries in extremity trauma”, *Current Orthopaedics*, **17(4)**, pp.287-291. DOI: 10.1016/S0268-0890(03)00104-X.
- [8] S. Waikakul, S. Sakkarnkosol, V. Vanadurongwan (1998), “Vascular injuries in compound fractures of the leg with initially adequate circulation”, *J. Bone Joint Surg. Br.*, **80(2)**, pp.254-258, DOI: 10.1302/0301-620x.80b2.8074.
- [9] W. Schlickewei, E.H. Kuner, A.B. Mullaji, et al. (1992), “Upper and lower limb fractures with concomitant arterial injury”, *J. Bone Joint Surg. Br.*, **74(2)**, pp.181-188, DOI: 10.1302/0301-620X.74B2.1544948.
- [10] D.H. Hoat (2019), *Clinical Characteristics and Anatomical Lesions of Lower Limb Arterial Injuries at Viet Duc Friendship Hospital from 2017 to 2019*, Master Thesis, Hanoi Medical University (in Vietnamese).

Tổng quan dược điều trị và đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở người bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi

Trần Nam Chung^{1,2,3*}, Đặng Hồng Hoa¹, Bùi Sơn Nhật¹, Đặng Chí Hiếu^{1,3}, Nguyễn Văn Hùng², Trần Văn Khánh²

¹Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, 144 Xuân Thủy, phường Dịch Vọng Hậu, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

²Trường Đại học Y Hà Nội, 1 Tôn Thất Tùng, phường Trung Tự, quận Đống Đa, Hà Nội, Việt Nam

³Bệnh viện E, 89 Trần Cung, phường Nghĩa Tân, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam

Ngày nhận bài 31/10/2023; ngày chuyển phản biện 3/11/2023; ngày nhận phản biện 1/12/2023; ngày chấp nhận đăng 3/12/2023

Tóm tắt:

Mục tiêu: Tổng quan về dược điều trị trong bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi. Đồng thời, mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng ở người bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi. **Phương pháp nghiên cứu:** Phân tích dữ liệu tìm kiếm trong PubMed đến tháng 5/2023 về dược điều trị loạn dưỡng cơ vùng đai chi, kết hợp với mô tả cắt ngang. **Bệnh nhân (BN)** được chẩn đoán loạn dưỡng cơ theo Trung tâm Thần kinh cơ châu Âu - ENMC (1995) tại Bệnh viện E và Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 12/2022 đến tháng 5/2023. **Kết quả:** Có 21 nghiên cứu dược điều trị, các liệu pháp (glucocorticoid, kháng thể sinh học, liệu pháp gen) bước đầu an toàn và tăng sức cơ; liệu pháp gen có triển vọng. **Đặc điểm lâm sàng** của 15 BN: tuổi khởi phát cao ($20,7 \pm 12,5$ năm), chẩn đoán muộn ($6,3 \pm 5,5$ năm). Phần lớn BN xuất hiện yếu và teo cơ rõ (100 và 86,7%); dáng đi lạch bạch, dấu hiệu Gowers' (93,3%). 100% tăng men cơ ($1648,5 \pm 2235,8$ U/l). Chỉ số viêm hầu hết không tăng. Mô bệnh học có hình ảnh thoái hóa, phì đại sợi cơ, xâm nhập xơ, mỡ (86,7%). **Kết luận:** Dược trị liệu bước đầu cho kết quả an toàn, tăng sức cơ; liệu pháp gen có triển vọng. BN yếu cơ vùng đai chi hầu hết kèm teo cơ, dáng đi lạch bạch, dấu hiệu Gowers', tăng men cơ, chỉ số viêm âm tính, thoái hóa mô cơ trên mô bệnh học.

Từ khoá: dấu hiệu Gowers', dược trị liệu, loạn dưỡng cơ vùng đai chi, yếu cơ vùng đai chi.

Chỉ số phân loại: 3.2, 3.4

Pharmacotherapy review and clinical, sub-clinical characteristics in limb-girdle muscular dystrophy

Nam Chung Tran^{1,2,3*}, Hong Hoa Dang¹, Son Nhat Bui¹, Chi Hieu Dang^{1,3}, Van Hung Nguyen², Van Khanh Tran²

¹University of Medicine and Pharmacy, Vietnam National University - Hanoi, 144 Xuan Thuy Street, Dich Vong Hau Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

²Hanoi Medical University, 1 Ton That Tung Street, Trung Tu Ward, Dong Da District, Hanoi, Vietnam

³E Hospital, 89 Tran Cong Street, Nghia Tan Ward, Cau Giay District, Hanoi, Vietnam

Received 31 October 2023; revised 1 December 2023; accepted 3 December 2023

Abstract:

Aims: Review pharmacotherapy in limb-girdle muscular dystrophy and describe clinical, and subclinical characteristics in patients of limb-girdle muscular dystrophy (LGMD). **Methods:** A meta-analysis with data in PubMed, up to May 2023 on the pharmacotherapy of LGMD combined with a cross-sectional study. Patients were diagnosed with LGMD according to the European Neuromuscular Centre (ENMC) in 1995 at E and Bach Mai Hospitals, from December 2022 to May 2023. **Results:** 21 studies in pharmacotherapy were conducted, and treatment therapies (glucocorticoid, biological antibody, gene therapy) initially showed safety and some effectiveness in muscular strength. There are some potential gene therapies. The clinical characteristic of collected 15 patients with LGMD was high onset age (20.7 ± 12.5 years), and prolonged diagnosis time (6.3 ± 5.5 years). Most patients showed signs of muscle weakness and muscle atrophy (100 and 86.7%), waddling gait, and Gower's sign (93.3%). 100% of patients had increased creatine kinase (CK) of 1648.5 ± 2235.8 U/l. Most patients had normal inflammatory indexes. On muscular histopathology, the majority of patients had muscle fiber degeneration, hypertrophy, fibrous tissue invasion, and fat infiltration (86.7%). **Conclusions:** Treatment therapies in LGMD initially showed safety and some effectiveness in muscular strength; the gene therapies are promising. Clinically, all patients showed signs of muscle weakness in the limb-girdle, most of them showed muscle atrophy, waddling gait, Gowers' sign, increased CK, negative inflammatory markers, and muscle fiber degeneration on histopathology.

Keywords: Gowers' sign, limb-girdle muscle weakness, limb-girdle muscular dystrophy, pharmacotherapy.

Classification numbers: 3.2, 3.4

*Tác giả liên hệ: Email: chungtn.ump@vnu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Loạn dưỡng cơ vùng đai chi là 1 trong 4 nhóm bệnh lý loạn dưỡng cơ phổ biến nhất, với đặc điểm lâm sàng rất đa dạng, có thể khởi phát ở mọi lứa tuổi, có căn nguyên di truyền với nhiều dạng đột biến khác nhau [1]. Chính vì thế việc chẩn đoán bệnh trên thực tế gặp rất nhiều khó khăn. Bệnh được xếp vào nhóm bệnh hiếm, tần suất gặp ước tính từ 5 đến 70 người/triệu dân ở một số quốc gia [1-3]. BN loạn dưỡng cơ vùng đai chi có thể gặp khó khăn trong việc ăn uống, đi lại, sinh hoạt hàng ngày do yếu cơ vùng đai vai, đai hông và cuối cùng mất khả năng đi lại [3, 4]. Việc chẩn đoán sớm, chính xác bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi sẽ giúp tư vấn di truyền kịp thời, ngăn ngừa và giảm tỷ lệ mắc bệnh ở các thế hệ tiếp theo, có chiến lược phòng bệnh, duy trì sức cơ, nâng cao chất lượng cuộc sống, hạn chế hậu quả nặng nề cho BN và gia đình họ [1]. Tại Việt Nam, hiện nay chưa có nghiên cứu nào về các liệu pháp được điều trị cho bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi nói chung, cũng như chưa có nhiều nghiên cứu về các triệu chứng lâm sàng, cận lâm sàng của nhóm BN này. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu: “Tổng quan được điều trị và đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân loạn dưỡng cơ vùng đai chi tại Bệnh viện E và Bệnh viện Bạch Mai” với 2 mục tiêu: trình bày tổng quan hệ thống về được điều trị trong bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi; mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở người bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi tại Bệnh viện E, Bệnh viện Bạch Mai.

2. Nội dung nghiên cứu

2.1. Tổng quan hệ thống về được điều trị trong bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu phân tích tổng hợp dữ liệu.

Đối tượng: Các nghiên cứu về được điều trị bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi đã công bố. Nguồn dữ liệu được tìm kiếm trong cơ sở PubMed đến tháng 5/2023 để thu thập các nghiên cứu phù hợp. Các từ khóa tìm kiếm bao gồm: “limb-girdle muscular dystrophies”, “pharmacotherapy”, “diseases management”, “muscular dystrophies” và các từ đồng nghĩa. Các từ đồng nghĩa được nối với nhau bằng toán tử OR và các cụm từ đồng nghĩa của các từ khóa được nối với nhau bằng toán tử AND. Cú pháp cuối cùng được đưa lên ô tìm kiếm của PubMed. Chức năng giới hạn ngôn ngữ, tính khả dụng văn bản, loại nghiên cứu được sử dụng để lựa

chọn bài báo tiếng Anh và tiếng Việt, sẵn bản toàn văn và đối tượng nghiên cứu là con người.

Tiêu chuẩn lựa chọn: Nghiên cứu về được điều trị trong bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi, ngôn ngữ tiếng Anh hoặc tiếng Việt và là bài báo có sẵn bản toàn văn.

Tiêu chuẩn loại trừ: Nghiên cứu *in vitro*, *in vivo* trên các đối tượng không phải người, các bài báo tổng quan, tổng quan có hệ thống.

Cỡ mẫu: Lấy mẫu tiện lợi.

Xử lý số liệu: Tổng hợp số liệu, phân tích.

2.2. Mô tả đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân loạn dưỡng cơ vùng đai chi tại Bệnh viện E, Bệnh viện Bạch Mai

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu mô tả cắt ngang.

Đối tượng nghiên cứu: BN được chẩn đoán loạn dưỡng cơ vùng đai chi theo ENMC (1995), dựa vào triệu chứng lâm sàng và cận lâm sàng: men cơ, điện cơ, mô bệnh học cơ.

Tiêu chuẩn lựa chọn: BN có teo cơ, yếu cơ vùng gốc chi 2 bên, từ từ, tăng dần, khởi phát bệnh sau 2 tuổi. Có tăng men cơ, kết quả điện cơ khẳng định bệnh lý nguồn gốc cơ, loại trừ các bệnh lý cơ do thần kinh; kết quả mô bệnh học cơ có các đặc điểm thoái hóa cơ, xâm nhập mỡ, mô xơ và loại trừ bệnh lý cơ viêm.

Tiêu chuẩn loại trừ: Loại trừ các BN có biểu hiện khởi phát là yếu cơ ở mặt, mắt, cổ; BN ở giai đoạn cuối, suy kiệt, có biến chứng nặng: bội nhiễm, thở máy... và những BN không đồng ý tham gia nghiên cứu.

Cỡ mẫu: Lấy mẫu tất cả các BN đủ tiêu chuẩn nghiên cứu tại Khoa Cơ xương khớp, Bệnh viện E và Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 12/2022 đến tháng 5/2023 (chọn được 15 BN phù hợp).

Xử lý số liệu: Mô tả biến định tính bằng tần suất và biến định lượng có phân phối chuẩn bằng trung bình, độ lệch. Sử dụng phần mềm SPSS 20.0.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Tổng quan hệ thống về được điều trị trong bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi

Các nghiên cứu liên quan đến được điều trị trong bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi theo trình tự thời gian được mô tả ở bảng 1.

Bảng 1. Đặc điểm các nghiên cứu.

Thứ tự	Tác giả, năm công bố	Loại nghiên cứu	Quốc gia	Giai đoạn nghiên cứu
1	K. Folkers và cs (1985) [5]	Thử nghiệm chéo mở, mù đôi, có giả dược	Hoa Kỳ	Thử nghiệm giai đoạn III
2	M.C. Dalakas và cs (1987) [6]	Báo cáo ca lâm sàng	Hoa Kỳ	Tiền lâm sàng
3	C. Angelini và cs (1998) [7]	Báo cáo ca lâm sàng	Ý	Báo cáo lâm sàng
4	M.C. Walter và cs (2000) [8]	Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, mù đôi, có giả dược	Đức	Thử nghiệm giai đoạn III
5	M.R. Hussein và cs (2006) [9]	Nghiên cứu tiền cứu	Ai Cập	Thực nghiệm lâm sàng
6	N. Darin và cs (2007) [10]	Báo cáo ca lâm sàng	Thụy Điển	Báo cáo lâm sàng
7	K.R. Wagner và cs (2008) [11]	Thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, đa quốc gia, mù đôi, có giả dược	Hoa Kỳ, Canada, Pháp	Thử nghiệm giai đoạn I/II
8	L.S. Krivickas và cs (2009) [12]	Thử nghiệm lâm sàng đa trung tâm	Hoa Kỳ	Thử nghiệm giai đoạn II
9	A. Lerario và cs (2010) [13]	Thử nghiệm chéo có giả dược, mù đôi, ngẫu nhiên	Ý	Thực nghiệm lâm sàng
10	L.C.W. Kisiel và cs (2010) [14]	Báo cáo ca lâm sàng	Hoa Kỳ	Báo cáo lâm sàng
11	M.G. D'Angelo và cs (2012) [15]	Thử nghiệm lâm sàng đơn trung tâm, nhãn mở	Ý	Thử nghiệm giai đoạn II
12	M.C. Walter và cs (2013) [16]	Thử nghiệm chéo có giả dược, mù đôi, ngẫu nhiên	Đức	Thử nghiệm giai đoạn II
13	M.A.V. Albuquerque và cs (2014) [17]	Nghiên cứu hồi cứu	Brazil	Mô tả hồi cứu
14	A.L. Álvarez và cs (2014) [18]	Báo cáo ca lâm sàng	Tây Ban Nha	Báo cáo lâm sàng
15	L. Politano và cs (2017) [19]	Thử nghiệm lâm sàng, đơn trung tâm, nhãn mở	Ý	Thử nghiệm giai đoạn Ib/Ila
16	C. Lomma và cs (2018) [20]	Báo cáo ca lâm sàng	Hoa Kỳ	Báo cáo lâm sàng
17	O.Z. Karaahmet và cs (2018) [21]	Báo cáo ca lâm sàng	Anh	Báo cáo lâm sàng
18	J.R. Mendell và cs (2019) [22]	Thử nghiệm lâm sàng đơn trung tâm, nhãn mở	Hoa Kỳ	Thử nghiệm giai đoạn I/IIa
19	R. Rajendram và cs (2020) [23]	Báo cáo ca lâm sàng	Anh	Báo cáo lâm sàng
20	D.G. Leung và cs (2021) [24]	Thử nghiệm lâm sàng mở rộng, nhãn mở	Hoa Kỳ	Thử nghiệm giai đoạn Ib/Ila
21	A.S. Zelikovich và cs (2022) [25]	Thử nghiệm lâm sàng đơn trung tâm, nhãn mở	Hoa Kỳ	Thử nghiệm giai đoạn I/II

Kết quả bảng 1 cho thấy, 21 nghiên cứu hầu hết được thực hiện ở các nước châu Âu và Hoa Kỳ. Phương pháp nghiên cứu đa dạng: báo cáo các trường hợp lâm sàng (8 nghiên cứu); thử nghiệm lâm sàng đơn/đa trung tâm, nhãn mở (6 nghiên cứu); thử nghiệm chéo, mù đôi, có kiểm soát giả dược (5 nghiên cứu); 1 nghiên cứu hồi cứu và 1 nghiên cứu tiền cứu. Cỡ mẫu giữa các nghiên cứu có sự dao động lớn (1-502 người), chủ yếu là các nghiên cứu ít hơn 30 người. Đối tượng nghiên cứu chủ yếu là nam, không giới hạn độ tuổi (người lớn nhiều hơn trẻ em). Số lượng BN mắc các bệnh loạn dưỡng cơ khác (Duchenne, Becker) vẫn nhiều hơn so với các BN mắc loạn dưỡng cơ vùng đai chi.

3.1.1. Kết quả các nghiên cứu liên quan tới glucocorticoid

Trong các nghiên cứu trên có 10 nghiên cứu về glucocorticoid, trong đó có 3 nghiên cứu về Deflazacort, 4 nghiên cứu về Prednisone, 2 nghiên cứu về Prednisolone và 1 nghiên cứu về Betamethasone. Liều Prednisone thường trong khoảng 0,75-1 mg/kg/ngày. Deflazacort thường dùng với liều 0,9 mg/kg/ngày hoặc 1 mg/kg/ngày và dùng chủ yếu bằng đường uống. Prednisolone dùng với liều 0,35 mg/kg/ngày hoặc 1 mg/kg/ngày. Betamethasone dùng đường tiêm với liều 6,43 mg/ml. Một số nghiên cứu cho thấy, sau khi điều trị bằng glucocorticoid, BN có cải thiện về chức năng vận động đáng kể, nhưng tình trạng bệnh sẽ xấu đi khi

giảm liều hoặc ngưng dùng thuốc [6, 7, 9], trong khi một số nghiên cứu khác thì không thấy cải thiện rõ rệt [16, 17]. Cả 10 nghiên cứu đều không ghi nhận tác dụng phụ nào nghiêm trọng.

3.1.2. Kết quả các nghiên cứu liên quan tới nhóm thuốc kháng thể sinh học

Có 2 nghiên cứu về kháng thể đơn dòng MYO-029 với liều 1-30 mg/kg/ngày, dùng trong 6 tháng, kết quả nghiên cứu cho thấy, MYO-029 cải thiện đặc tính co rút của từng sợi cơ và có độ an toàn, khả năng dung nạp tốt, ngoại trừ hiện tượng quá mẫn trên da ở liều 10 và 30 mg/kg. Điều trị bằng Rituximab truyền với liều 375 mg/m², 4 lần/tuần cho thấy sự cải thiện sức mạnh cơ bắp ở BN.

3.1.3. Kết quả các nghiên cứu liên quan tới các nhóm thuốc khác

Có 1 nghiên cứu về coenzyme Q10 với cỡ mẫu nhỏ (8 BN). Nghiên cứu dùng thuốc cho BN với liều 33 mg/3 lần/ngày, kết quả cho thấy, có 4/8 BN cải thiện về thể chất, 5/8 BN cải thiện về chức năng tim mạch, nghiên cứu không phát hiện các tác dụng phụ nghiêm trọng. Có 1 nghiên cứu về liệu pháp gen với liều 1×10¹² vg/kg/chi. Kết quả cho thấy, biểu hiện gen *SGCA* sau điều trị cường độ bắt màu tăng lên khi nhuộm miễn dịch huỳnh quang nhưng các phương pháp được sử dụng trong thử nghiệm này không đủ để cải

thiện các chức năng vận động chính. Các phương pháp điều trị được sử dụng trong các nghiên cứu còn lại rất đa dạng, từ thuốc chống viêm không steroid (1 nghiên cứu về Ibuprofen với liều 200 mg/ngày) đến các dược phẩm khác như Creatine monohydrate (2 nghiên cứu), thuốc ức chế miễn dịch Rituximab (1 nghiên cứu), Ivabradine (1 nghiên cứu), Domagrozumab (1 nghiên cứu).

3.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở bệnh nhân loạn dưỡng cơ vùng đai chi tại Khoa Cơ xương khớp, Bệnh viện E và Bệnh viện Bạch Mai

3.2.1. Đặc điểm lâm sàng

Tổng số BN thu thập được trong nghiên cứu là 15 BN với 9 BN nữ (chiếm 60%), 6 BN nam (chiếm 40%), tỷ lệ nữ/nam tương ứng là 1,5/1.

Tuổi trung bình của nhóm nghiên cứu là $27 \pm 12,0$ (năm), thấp nhất là 8 tuổi và cao nhất là 53 tuổi. Tuổi khởi phát khá cao: $20,7 \pm 12,5$ năm (7-49 tuổi). Tuổi trung bình của nhóm BN này cao hơn so với nghiên cứu ở Hà Lan với độ tuổi khởi phát trung bình là 12 (1-57 tuổi) [1]. Thời gian từ khi xuất hiện triệu chứng đến khi được chẩn đoán trung bình là $6,3 \pm 5,5$ năm, nhanh nhất là trong vòng 1 năm và muộn nhất là sau 18 năm.

Trong khi đó, nghiên cứu của A.J.V.D. Kooi và cs (1996) [1] chỉ ra thời gian mắc bệnh trung bình của nhóm bệnh nhân là 20 năm (2-52 năm); có 15/42 BN (35,7%) phải ngồi xe lăn và vẫn duy trì được sự chủ động đi lại. Điều này thể hiện chất lượng chăm sóc sức khỏe cho người bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi ở đó rất tốt.

Bảng 2. Triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân nghiên cứu.

Triệu chứng	Số bệnh nhân (n=15)		Tổng
	Có	Không	
Teo cơ	13 (86,7%)	2 (13,3%)	15
Yếu cơ	15 (100%)	0 (0%)	15
Dấu hiệu Gower's	14 (93,3%)	1 (6,7%)	15
Dáng đi lạch bạch	14 (93,3%)	1 (6,7%)	15
Gù ưỡn cột sống	10 (66,7%)	5 (33,3%)	15
Vẹo cột sống	10 (66,7%)	5 (33,3%)	15
Có ruto gân Achilles	2 (13,3%)	13 (86,7%)	15

Kết quả bảng 2 cho thấy, phần lớn BN đều có biểu hiện yếu cơ và teo cơ rõ (tương ứng là 15/15 và 13/15 BN), trong đó có 2 trường hợp chưa teo cơ là mới ở giai đoạn đầu và được chẩn đoán sớm trong vòng 1 năm, vì trong gia đình đã có người mắc loạn dưỡng cơ vùng đai chi. Phần lớn BN đều có dáng đi lạch bạch và có dấu hiệu Gower's (đều là 14/15 BN). Số BN có biểu hiện gù ưỡn và vẹo cột sống khá nhiều, chiếm tỷ lệ đều là 10/15 BN. Trong nhóm nghiên cứu, có 2/15 BN có dấu hiệu co rút gân Achilles, bệnh nhiều năm, hiện tại đã mất khả năng đi lại, đồng thời có co cứng cơ cạnh cột sống thắt lưng, gù vẹo.

3.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng của bệnh nhân nghiên cứu

Tất cả các BN trong nhóm nghiên cứu đều có chung đặc điểm là tăng men cơ (15/15 BN), trung bình là $1648,5 \pm 2235,8$ U/l (thấp nhất là 180 và cao nhất là 8457,8 U/l). Đánh giá bilan viêm của nhóm nghiên cứu cho thấy: 100% BN có chỉ số CRP bình thường, trung bình $1,1 \pm 1,0$ (mg/l); chỉ số máu lắng có 13 BN (chiếm tỷ lệ 86,67%) bình thường, chỉ có 2 BN có tăng nhẹ, trung bình $11,8 \pm 7,6$ (mm/h).

Bảng 3. Đặc điểm các xét nghiệm điện cơ, siêu âm và mô bệnh học của bệnh nhân nghiên cứu.

Xét nghiệm	Số bệnh nhân (n = 15)		Tổng
	Có	Không	
Điện cơ có nguồn gốc cơ	15 (100%)	0 (0%)	15
Siêu âm	Teo cơ	13 (86,7%) 2 (13,3%)	15
	Xâm nhập mỡ	13 (86,7%) 2 (13,3%)	15
Giải phẫu bệnh	Thoái hóa sợi cơ	13 (86,7%) 2 (13,3%)	15
	Xâm nhập tổ chức xơ	13 (86,7%) 2 (13,3%)	15
	Xâm nhập mỡ	13 (86,7%) 2 (13,3%)	15
	Xâm nhập tế bào viêm	1 (6,7%) 14 (93,3%)	15
	Phi đại sợi cơ	13 (86,7%) 2 (13,3%)	15

Kết quả bảng 3 cho thấy, tất cả các BN đều có biểu hiện trên điện cơ là có tổn thương với nguồn gốc từ cơ (15/15 BN). Trên hình ảnh thăm dò qua siêu âm, phần lớn BN có hình ảnh teo cơ và xâm nhập mỡ trong mô cơ ở các mức độ khác nhau (13/15 BN). Trên mô bệnh học mô cơ, phần lớn BN có hình ảnh thoái hóa sợi cơ, xâm nhập tổ chức xơ, xâm nhập mỡ và phi đại sợi cơ (13/15 BN), chỉ có 1/15 BN là có xâm nhập tế bào viêm.

4. Kết luận

Tổng quan về dược trị liệu ở BN mắc loạn dưỡng cơ vùng đai chi: Có 21 nghiên cứu được thực hiện, chủ yếu với nhóm thuốc glucocorticoid (11 nghiên cứu) và các thuốc còn lại ít hơn: Coenzyme Q10, MYO-029, Ibuprofen, Creatine monohydrate, Rituximab, Ivabradine, Domagrozumab. Không thấy tác dụng phụ nghiêm trọng về glucocorticoid, tuy nhiên hiệu quả điều trị chưa thống nhất, một số nghiên cứu nhận thấy BN có cải thiện sức cơ, trong khi một số nghiên cứu khác thì không được ghi nhận. Nghiên cứu về MYO-029 cho thấy sự an toàn và dung nạp tốt, có hiện tượng quá mẫn trên da ở liều 10 và 30 mg/kg. Nghiên cứu về coenzyme Q10 có cải thiện về thể chất và chức năng tim mạch, không tác dụng phụ nghiêm trọng.

Qua nghiên cứu trên 15 BN loạn dưỡng cơ vùng đai chi tại Khoa Cơ xương khớp, Bệnh viện E và Bệnh viện Bạch Mai từ tháng 12/2022 đến tháng 5/2023 cho thấy, về lâm sàng, tất cả BN đều có biểu hiện yếu cơ vùng đai chi, phần lớn có teo cơ, dáng đi lạch bạch, dấu hiệu Gower's, gù ưỡn,

vẹo cột sống, một số cơ rút gân Achilles. Về cận lâm sàng, tất cả BN đều có biểu hiện tăng men cơ, bilan viêm âm tính, tổn thương nguồn gốc cơ trên điện cơ và mô bệnh học cơ có dấu hiệu loạn dưỡng cơ: xâm nhập mô xơ, mỡ, phì đại tế bào cơ. Trên siêu âm, phần lớn BN có hình ảnh teo cơ và xâm nhập mỡ.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, mã số CS.22.06. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] A.J.V.D. Kooi, P.G. Barth, H.F. Busch, et al. (1996), "The clinical spectrum of limb-girdle muscular dystrophy: A survey in the Netherlands", *Brain*, **119**, Pt. 5, pp.1471-1480, DOI: 10.1093/brain/119.5.1471.
- [2] F.L.M. Norwood, C. Harling, P.F. Chinnery, et al. (2009), "Prevalence of genetic muscle disease in Northern England: In-depth analysis of a muscle clinic population", *Brain*, **132**, Pt. 11, pp.3175-3186, DOI: 10.1093/brain/awp236.
- [3] J. Domingos, A. Sarcozy, M. Scoto, et al. (2017), "Dystrophinopathies and limb-girdle muscular dystrophies", *Neuropediatrics*, **48**(4), pp.262-272, DOI: 10.1055/s-0037-1601860.
- [4] P. Narayanaswami, M. Weiss, D. Selcen, et al. (2014), "Evidence-based guideline summary: Diagnosis and treatment of limb-girdle and distal dystrophies: Report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology and the practice issues review panel of the American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine", *Neurology*, **83**(16), pp.1453-1463, DOI: 10.1212/WNL.0000000000000892.
- [5] K. Folkers, J. Wolaniuk, R. Simonsen, et al. (1985), "Biochemical rationale and the cardiac response of patients with muscle disease to therapy with coenzyme Q10", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **82**(13), pp.4513-4516, DOI: 10.1073/pnas.82.13.4513.
- [6] M.C. Dalakas, W.K. Engel (1987), "Prednisone-responsive limb-girdle syndrome: A special disorder?", *Neuropediatrics*, **18**(2), pp.88-90, DOI: 10.1055/s-2008-1052459.
- [7] C. Angelini, M. Fanin, E. Menegazzo, et al. (1998), "Homozygous α -sarcoglycan mutation in two siblings: One asymptomatic and one steroid-responsive mild limb-girdle muscular dystrophy patient", *Muscle Nerve*, **21**(6), pp.769-775, DOI: 10.1002/(sici)1097-4598(199806)21:6<769::aid-mus9>3.0.co;2-5.
- [8] M.C. Walter, H. Lockmueller, P. Reilich, et al. (2000), "Creatine monohydrate in muscular dystrophies: A double-blind, placebo-controlled clinical study", *Neurology*, **54**(9), pp.1848-1850, DOI: 10.1212/wnl.54.9.1848.
- [9] M.R. Hussein, S.A. Hamed, M.G. Mostafa, et al. (2006), "The effects of glucocorticoid therapy on the inflammatory and dendritic cells in muscular dystrophies", *Int. J. Exp. Pathol.*, **87**(6), pp.451-461, DOI: 10.1111/j.1365-2613.2006.00470.x.
- [10] N. Darin, A.K. Kroksmark, A.C. Ahlander, et al. (2007), "Inflammation and response to steroid treatment in limb-girdle muscular dystrophy 2I", *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, **11**(6), pp.353-357, DOI: 10.1016/j.ejpn.2007.02.018.
- [11] K.R. Wagner, J.L. Fleckenstein, A.A. Amato, et al. (2008), "A phase I/II trial of MYO-029 in adult subjects with muscular dystrophy", *Ann. Neurol.*, **63**(5), pp.561-571, DOI: 10.1002/ana.21338.
- [12] L.S. Krivickas, R. Walsh, A.A. Amato (2009), "Single muscle fiber contractile properties in adults with muscular dystrophy treated with MYO-029", *Muscle Nerve*, **39**(1), pp.3-9, DOI: 10.1002/mus.21200.
- [13] A. Lerario, F. Cogiamanian, C. Marchesi, et al. (2010), "Effects of rituximab in two patients with dysferlin-deficient muscular dystrophy", *BMC Musculoskelet. Disord.*, **11**, DOI: 10.1186/1471-2474-11-157.
- [14] L.C.W. Kiesel, N.L. Kuntz (2010), "Two siblings with limb-girdle muscular dystrophy type 2E responsive to deflazacort", *Neuromuscul. Disord.*, **20**(2), pp.122-124, DOI: 10.1016/j.nmd.2009.11.005.
- [15] M.G. D'Angelo, S. Gandossini, F.M. Boneschi, et al. (2012), "Nitric oxide donor and non-steroidal anti-inflammatory drugs as a therapy for muscular dystrophies: Evidence from a safety study with pilot efficacy measures in adult dystrophic patients", *Pharmacol. Res.*, **65**(4), pp.472-479, DOI: 10.1016/j.phrs.2012.01.006.
- [16] M.C. Walter, P. Reilich, S. Thiele, et al. (2013), "Treatment of dysferlinopathy with deflazacort: A double-blind, placebo-controlled clinical trial", *Orphanet J. Rare Dis.*, **8**, DOI: 10.1186/1750-1172-8-26.
- [17] M.A.V. Albuquerque, O.A. Neto, J.R. Maximino, et al. (2014), "Clinical aspects of patients with sarcoglycanopathies under steroids therapy", *Arq. Neuropsiquiatr.*, **72**(10), pp.768-772, DOI: 10.1590/0004-282x20140126.
- [18] A.L. Álvarez, A.R. Fernández, V.V. Vazquez, et al. (2014), "Total intravenous anesthesia for aortic aneurysm replacement surgery in a patient with limb-girdle dystrophy", *Rev. Esp. Anesthesiol. Reanim.*, **61**(7), pp.385-387, DOI: 10.1016/j.redar.2013.06.014.
- [19] L. Politano, M. Scutifero, M. Patalano, et al. (2017), "Integrated care of muscular dystrophies in Italy. Part 1. Pharmacological treatment and rehabilitative interventions", *Acta Myol.*, **36**(1), pp.19-24.
- [20] C. Lomma, D. Ransom (2018), "Chemotherapy dosing and toxicity in a patient with muscular dystrophy", *Cancer Rep.*, **1**(2), DOI: 10.1002/cnr2.1106.
- [21] O.Z. Karaahmet, E. Gurcay, D. Ozturk, et al. (2018), "A rare presentation of meralgia paraesthetica in limb-girdle muscular dystrophy", *Scott. Med. J.*, **63**(1), pp.25-27, DOI: 10.1177/0036933017707162.
- [22] J.R. Mendell, L.G. Chicoine, S.A.A. Zaidy, et al. (2019), "Gene delivery for limb-girdle muscular dystrophy type 2D by isolated limb infusion", *Hum. Gene Ther.*, **30**(7), pp.794-801, DOI: 10.1089/hum.2019.006.
- [23] R. Rajendram, F. Aldhahi, N. Mahmood, et al. (2020), "The use of ivabradine in a patient with inappropriate sinus tachycardia and cardiomyopathy due to limb-girdle muscular dystrophy type 2I", *BMJ Case Rep.*, **13**(1), DOI: 10.1136/bcr-2019-230647.
- [24] D.G. Leung, A.E. Bocchieri, S. Ahlawat, et al. (2021), "A phase Ib/IIa, open-label, multiple ascending-dose trial of domagrozumab in fukutin-related protein limb-girdle muscular dystrophy", *Muscle Nerve*, **64**(2), pp.172-179, DOI: 10.1002/mus.27259.
- [25] A.S. Zelikovich, B.C. Joslin, P. Casey, et al. (2022), "An open label exploratory clinical trial evaluating safety and tolerability of once-weekly prednisone in becker and limb-girdle muscular dystrophy", *J. Neuromuscul. Dis.*, **9**(2), pp.275-287, DOI: 10.3233/JND-210741.

Đánh giá đặc điểm các dòng G_1 trong phục tráng giống lúa mùa Tài Nguyên (*Oryza sativa*) tại tỉnh Trà Vinh

Trịnh Ngọc Ái^{1*}, Nghị Khắc Nhu¹, Nguyễn Tấn Thanh¹, Lã Cao Thắng², Nguyễn Tiến Dũng³

¹Trường Đại học Trà Vinh, 126 Nguyễn Thiện Thành, phường 5, TP Trà Vinh, tỉnh Trà Vinh, Việt Nam

²Trường Nông nghiệp, Trường Đại học Cần Thơ, khu II, đường 3/2, phường Xuân Khánh, quận Ninh Kiều, TP Cần Thơ, Việt Nam

³Trường Đại học Nông Lâm, Đại học Thái Nguyên, xã Quyết Thắng, TP Thái Nguyên, tỉnh Thái Nguyên, Việt Nam

Ngày nhận bài 2/12/2023; ngày chuyển phản biện 5/12/2023; ngày nhận phản biện 27/12/2023; ngày chấp nhận đăng 30/12/2023

Tóm tắt:

Tài Nguyên là giống lúa mùa địa phương được gieo trồng tại một số huyện ở tỉnh Trà Vinh. Giống lúa này có gạo ngon cơm và khả năng thích nghi cao với vùng đất nhiễm phèn và mặn ở Đồng bằng sông Cửu Long. Sự đa dạng kiểu hình của các đặc điểm nông học ở các dòng lúa Tài Nguyên được phân tích để loại bỏ sự đa dạng di truyền của quần thể lúa Tài Nguyên. 40 cá thể G_1 được theo dõi thời gian sinh trưởng và đặc điểm nông học đồng đều để chọn lại các dòng G_2 tại 3 huyện: Châu Thành, Trà Cú và Cầu Ngang của tỉnh Trà Vinh. Các chỉ số nông học của 40 dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 đạt giá trị trung bình như sau: chiều cao cây 128,8 cm, số nhánh 40,5, dài lá 53,4 cm, rộng lá 1,0 cm, số bông 34,8, dài bông 24,7 cm, tổng số hạt chắc đạt 134,3, tổng số hạt 170,7, chiều dài hạt 8,4 mm, chiều rộng hạt 2,4 mm, khối lượng khô 193,0 g và khối lượng 1000 hạt đạt 22,9 g. Kết quả so sánh đã chọn lọc được 13 dòng G_1 tốt nhất để làm nguyên liệu cho vụ G_2 .

Từ khóa: đa dạng di truyền, đặc điểm, lúa mùa Tài Nguyên, phục tráng.

Chỉ số phân loại: 4.1, 4.6

Evaluation of the characteristics of G_1 genotypes in Tai Nguyen seasonal rice (*Oryza sativa*) in Tra Vinh province

Ngoc Ai Trinh^{1*}, Khắc Nhu Nghị¹, Tấn Thanh Nguyễn¹, Cao Thang La², Tiến Dũng Nguyễn³

¹Tra Vinh University, 126 Nguyen Thien Thanh Street, Ward 5, Tra Vinh City, Tra Vinh Province, Vietnam

²College of Agriculture, Can Tho University, Campus II, 3/2 Street, Ninh Kieu District, Can Tho City, Vietnam

³Thai Nguyen University of Agriculture and Forestry, Thai Nguyen University, Quyet Thang Commune, Thai Nguyen City, Thai Nguyen Province, Vietnam

Received 2 December 2023; revised 27 December 2023; accepted 30 December 2023

Abstract:

Tai Nguyen variety is a local seasonal rice variety, grown in some districts in Tra Vinh province. This rice variety has delicious rice and is highly adaptable to acidic and saline soils in the Mekong delta. Phenotypic variation of agronomic characters was investigated to eliminate the genetic diversity of the Tai Nguyen populations. Forty G_1 individuals with the same maturing day and uniform agro-morphological characteristics were selected for G_2 generation at 3 locations as Chau Thanh, Tra Cu and Cau Ngang of Tra Vinh province. The agronomic indexes of 40 Tai Nguyen rice lines in the G_1 crop reached the following average values such as culm length 128.8 cm, number of branches 40.5, leaf length 53.4 cm, leaf width 1.0 cm, number of panicles 34.8, panicle length 24.7 cm, total number of firm seeds 134.3, total number of seeds 170.7, grain length 8.4 mm, grain width 2.4 mm, dry weight 193.0 g, and weight of 1000 grain 22.9 g. The comparison results have selected the 13 best G_1 lines to be used as raw materials for the G_2 crop.

Keywords: characteristics, genetic diversity, genotypes, Tai Nguyen seasonal rice.

Classification numbers: 4.1, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: ngocai@tvu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Lúa (*Oryza sativa* L.) là một trong năm loại cây lương thực quan trọng, cung cấp lương thực cho hơn 50% dân số thế giới. Hằng năm, lúa gạo được trồng khoảng trên 154 triệu ha, chiếm 11% diện tích đất canh tác trên thế giới [1]. Khu vực châu Á có 46 triệu ha trồng lúa mùa, tương đương 30% tổng diện tích canh tác lúa trên toàn thế giới và chiếm 34% tổng diện tích lúa trong toàn khu vực [2]. Trong tiểu vùng sông Mê Kông, Thái Lan có diện tích trồng lúa mùa lớn nhất là 8.160.000 ha, tiếp đến là Việt Nam với 2.614.000 ha, theo sau là Myanmar 2.511.000 ha, Campuchia 1.418.000 ha và sau cùng là Lào 348.000 ha [3]. Khối lượng gạo xuất khẩu năm 2021 của Việt Nam đạt 6,2 triệu tấn với giá trị đạt 3,2 tỷ USD, chiếm khoảng 12,5% thị phần xuất khẩu gạo thế giới (đứng sau Ấn Độ và Thái Lan). Riêng Đồng bằng sông Cửu Long tính đến năm 2020 diện tích lúa gieo trồng hằng năm khoảng 3,9 triệu ha, là vựa lúa chính của cả nước và cung cấp khoảng 90% sản lượng gạo cho xuất khẩu [4]. Điều này cho thấy lúa gạo có tầm quan trọng đối với an ninh lương thực thế giới nói chung và Việt Nam nói riêng.

Tài Nguyên là giống lúa mùa đặc trưng ở tỉnh Trà Vinh, có cảm ứng với quang kỳ ngắn (quang cảm) chỉ trở vào những thời điểm nhất định trong năm, lúc mà quang kỳ bắt đầu ngắn dần từ sau ngày thu phân (23/9 dương lịch). Các giống lúa địa phương trồng ở Đồng bằng sông Cửu Long phần lớn đều có đặc tính này nên gọi là lúa mùa (lúa trở và chín theo mùa). Do tính quang cảm, lại phải gieo cấy trước khi nước ngập sâu trên ruộng nên các giống lúa mùa thường có thời gian sinh trưởng rất dài và chỉ trồng được một vụ trong năm, năng suất rất thấp (khoảng 1-2 tấn/ha) [5]. Nguồn giống lúa mùa chủ yếu được người dân chọn lọc từ vụ trước trong một thời gian dài, dẫn đến tình trạng thoái hoá giống [6]. Các giống lúa mùa dần dần bị thoái hoá làm thay đổi các đặc tính, tình trạng tốt ban đầu như thời gian sinh trưởng, chống chịu bệnh, phẩm chất hạt. Nguyên nhân dẫn đến thoái hoá là do sự lẫn giống cơ giới trong quá trình canh tác (xen lẫn vụ lúa ngắn ngày), hoặc quá trình thụ phấn chéo (giữa các ruộng với nhau, không có khoảng cách địa lý, hoặc sự phân ly, làm xuất hiện nhiều tính trạng lạ không mong muốn (do tập quán giữ giống của người dân). Đồng thời, canh tác lúa mùa còn phụ thuộc nhiều vào thời tiết, nên năng suất lúa mùa hàng năm giảm. Ảnh hưởng của tình hình biến đổi khí hậu dẫn đến diện tích gieo trồng lúa mùa ở Đồng bằng sông Cửu Long giảm trong 5 năm qua (171,2 nghìn ha vào năm 2022 so với 197,2 nghìn ha vào năm 2018). Từ những năm 1990 trở lại đây, diện tích lúa

mùa giảm nhanh và thay thế bằng các giống lúa cao sản ngắn ngày với 2-3 vụ/năm [5], đặc biệt tỉnh Trà Vinh, diện tích lúa mùa giảm 0,6 nghìn ha vào năm 2022 so với năm 2018 [4]. Chính vì vậy, chương trình phục tráng và bảo tồn giống lúa mùa địa phương được Ủy ban nhân dân tỉnh Trà Vinh quan tâm và triển khai thực hiện, trong đó có giống lúa mùa Tài Nguyên.

Theo P.T. Kiem (2008) [7], để giải quyết hiện tượng thoái hóa của giống trước hết cần thực hiện tốt quy trình nhân giống, khoảng cách ly. Kiểm soát tốt công đoạn sản xuất hạt giống, giảm thiểu sự tiếp xúc của động vật trong sản xuất và chế biến giống. Không trồng nhiều giống gần nhau trong cùng một vùng. Biện pháp khắc phục tình trạng lẫn tạp, thoái hóa giống là tiến hành phục tráng giống. Việc phục tráng giống lúa mùa là rất cần thiết trong giai đoạn hiện nay, nhằm bảo tồn và phát huy nguồn gen lúa mùa quý của quốc gia có tính chống chịu tốt với sâu bệnh, phẩm chất gạo ngon, dinh dưỡng cao.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng

40 cá thể lúa mùa Tài Nguyên ưu tú từ vụ G_0 (năm 2020-2021) được tuyển chọn cho vụ G_1 (2021-2022).

2.2. Bố trí thí nghiệm

Lúa mùa Tài Nguyên vụ thứ hai (G_1 , 2021-2022) được tuyển chọn và tiến hành bố trí thí nghiệm theo phương pháp khảo sát tập đoàn tương tự không nhắc lại. 1000 hạt giống của 40 cá thể được chọn ở vụ G_0 được gieo riêng thành từng ô, mỗi ô có diện tích 2 m², sau 45 ngày gieo, mạ được cấy. Thường xuyên theo dõi từ khi gieo, cấy đến thu hoạch. Loại bỏ các dòng cây khác dạng, sinh trưởng kém. Cây được bón phân phù hợp theo từng giai đoạn sinh trưởng. Trước khi thu hoạch 5-7 ngày, đánh giá lần cuối các dạng được chọn, mỗi dòng thu 10 cây tại 2 điểm ngẫu nhiên để đánh giá đặc điểm nông học, thu hạt của các cá thể còn lại theo từng dòng riêng lẻ. Tiếp tục loại bỏ các dòng có giá trị trung bình của bất cứ tính trạng nào ngoài độ lệch chuẩn. Các dòng được tuyển chọn sẽ được thu, phơi và bảo quản trong các túi riêng, ghi mã dòng.

Nghiên cứu được thực hiện tại 3 huyện: Cầu Ngang, Châu Thành và Trà Cú, tỉnh Trà Vinh. Thời gian nghiên cứu: 2021-2022, gieo tháng 7/2021, sau 45 ngày mạ được cấy, thu hoạch tháng 1/2022. Kỹ thuật canh tác theo tập quán của địa phương, khoảng cách cấy 25x25 cm/cây khi mạ 45 ngày tuổi và bón phân ure và NPK.

2.3. Chỉ tiêu theo dõi và chọn lọc

Chọn lọc ngoài đồng: Khi lúa ở giai đoạn trổ bông sẽ tiến hành chọn lọc các cây đẹp, không bị sâu bệnh và được đánh dấu cho đến khi hạt đạt độ chín thu hoạch thì được cắt sát gốc và thu hoạch riêng để tiếp tục chọn lọc trong phòng.

Chọn lọc trong phòng: Những bụi được chọn lọc về nhà tiếp tục công việc giám định chọn lọc lại lần đầu bằng mắt thường để loại bỏ những cây bị cắt nhầm hoặc không đạt tiêu chuẩn. Các dòng còn lại được đo đạc và phân tích thống kê. Những cá thể có trung bình $\pm$ độ lệch chuẩn (s) được chọn để làm vật liệu chọn lọc ở vụ G_2 .

Các chỉ tiêu đánh giá cho các tính trạng số lượng và chất lượng dựa theo bảng mô tả của IRRI (IBPGR - IRRI, 1980), bao gồm các đặc tính sau:

- Chiều cao cây (cm): được đo từ mặt đất đến đỉnh của bông lúa.
- Khả năng đẻ nhánh (số chồi thân): tổng số nhánh/bụi.
- Chiều dài lá (cm): được đo từ góc lá đến đỉnh của chóp lá.
- Chiều rộng lá (cm): được đo tại vị trí rộng nhất của lá.
- Số bông/khóm: là tổng số bông lúa có được trên 1 khóm lúa.
- Chiều dài bông (cm): là chiều dài của bông lúa ở giai đoạn trưởng thành được đo từ cổ bông đến đỉnh của bông.
- Hạt chắc trên bông (hạt): tổng số hạt chắc đếm được trên 1 bông lúa.
- Tỷ lệ hạt lép (%): số hạt lép trên bông/tổng số hạt trên bông.
- Chiều dài hạt (mm): là khoảng cách từ đầu hạt đến đỉnh cuối của hạt.

- Rộng hạt (mm): được đo tại vị trí rộng nhất của hạt.

- Sinh khối: cân khối lượng khô của cây.

- Khối lượng 1000 hạt (g): đếm 1000 hạt ngẫu nhiên, sau đó đem cân.

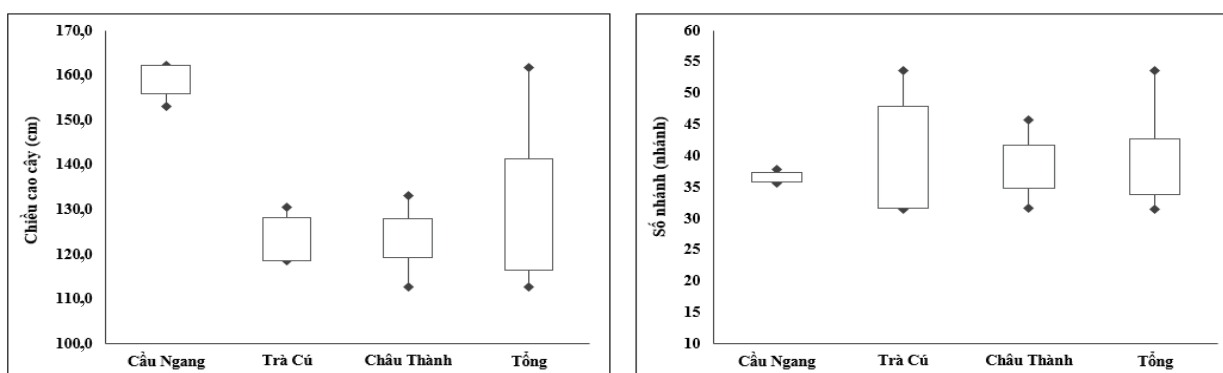
2.4. Phân tích thống kê

Số liệu thu thập được phân tích theo chương trình thống kê mô tả để thu được giá trị trung bình và độ lệch chuẩn của các chỉ tiêu định lượng bằng phần mềm Microsoft Excel.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Chiều cao cây

Chiều cao cây lúa tăng dần qua từng giai đoạn sinh trưởng. Đồng thời tính trạng chiều cao cây lúa do kiểu gen quy định nhưng kiểu hình là kết quả tương tác giữa kiểu gen và môi trường [5]. Kết quả đánh giá chiều cao cây lúa của các dòng lúa Tài Nguyên sau khi phục tráng ở vụ G_1 cho thấy, chiều cao dao động 112,8-161,7 cm (hình 1, bảng 1). Kết quả hình 1 cũng cho thấy, chiều cao trung bình của cây lúa ở 2 huyện Trà Cú (118,7-130,5 cm) và Châu Thành (112,8-133,2 cm) thấp hơn huyện Cầu Ngang (153,2-161,7 cm). Chiều cao cây là một tính trạng phức tạp và là sản phẩm cuối cùng của vài yếu tố kiểm soát tính di truyền, được gọi là lóng. Các dòng lúa có chiều cao cây dưới 140 cm được xem là nhóm lúa cao. Trong nghiên cứu này hầu hết các dòng lúa ở 2 huyện Trà Cú và Châu Thành tập trung ở nhóm lúa cao, trong khi đó nhóm lúa ở huyện Cầu Ngang tập trung ở nhóm lúa rất cao (>140 cm). Kết quả phân nhóm chiều cao cây lúa cũng giống với nghiên cứu của A.K. Sarawgi và cs (2013) [8]. Cây lúa có chiều cao thấp giúp cây cải thiện khả năng chống chịu với môi trường và giảm tổn thất năng suất đáng kể. Tuy nhiên, chiều cao cây cũng còn phụ thuộc vào liều lượng phân bón và kỹ thuật trong quá trình canh tác. Trong thí nghiệm này, chiều cao cây ở các huyện khác nhau



Hình 1. Phân nhóm chiều cao cây và số nhánh của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trồng tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.

nguyên nhân có thể là do hệ thống kiểm soát nước ở Châu Thành và Trà Cú tốt hơn huyện Cầu Ngang.

3.2. Khả năng đẻ nhánh

Khả năng đẻ nhánh cũng là một đặc tính tốt của giống, là yếu tố quan trọng góp phần làm tăng năng suất lúa. Để đạt được năng suất cao đối với một số giống cây trồng, những đặc điểm góp phần tạo nên năng suất cây trồng bao gồm chiều cao cây, số nhánh, chiều dài bông. Số bông được xác định dựa trên sự sinh trưởng của nhánh, chúng ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất của cây trồng. Chất lượng của nhánh không chỉ góp phần tạo sự vững chắc cho cây mà còn là nguồn thực phẩm cung cấp cho động vật [9]. Số nhánh nhiều hay ít còn bị tác động bởi yếu tố môi trường như phân bón, đất đai, nước và kỹ thuật canh tác. Các dòng lúa G_1 có số nhánh cao nhất tại huyện Trà Cú (53,7 nhánh), theo sau là Châu Thành (45,8 nhánh), Cầu Ngang có số nhánh thấp nhất (37,8 nhánh) (hình 1). N.H. Hiệp và cs (2018) [10] cho rằng, mật độ cây và phân bón ảnh hưởng trực tiếp đến khả năng nảy chồi và hình thành chồi hữu hiệu của cây lúa. Kết quả này cũng cho thấy quá trình nảy chồi ở các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 có cao hơn so với vụ G_0 (20-22 nhánh). Nguyên nhân trong vụ G_0 người dân lo lắng cây thưa và từng cây riêng lẻ sẽ ảnh hưởng đến năng suất, tuy nhiên kết

quả cho thấy khi áp dụng khoảng cách cây 25x25 cm và cấy từng cây riêng lẻ ở vụ G_1 sẽ thúc đẩy quá trình nảy chồi hiệu quả. Cụ thể, số nhánh gia tăng, đạt cao nhất là 53,7 nhánh (bảng 1).

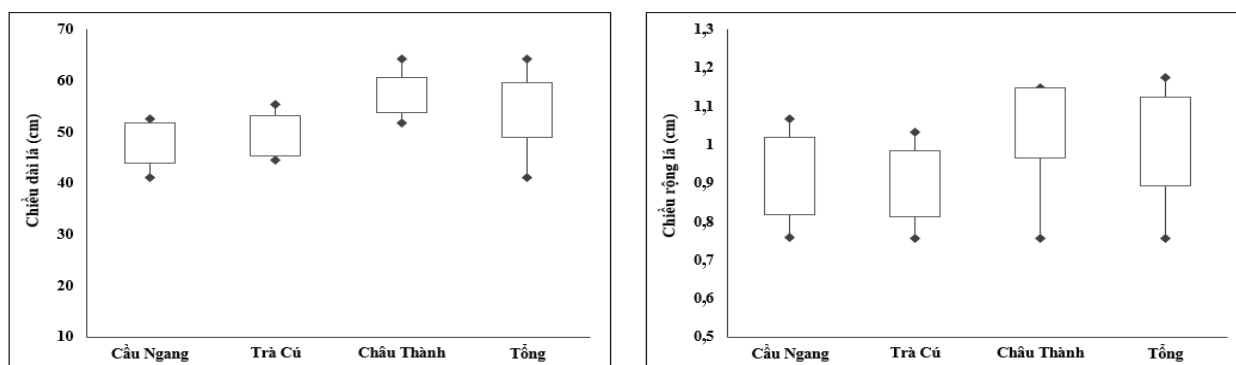
3.3. Kích thước lá

Các đặc điểm hình thái chiều dài lá đồng và chiều rộng lá đồng cũng được đánh giá và trình bày ở hình 2 và bảng 1. Hình thái, màu sắc và kích thước lá những yếu tố quyết định trực tiếp đến khả năng quang hợp, khả năng chống chịu sâu bệnh của cây lúa. Diện tích bề mặt của lá đồng giúp tăng hiệu suất quang hợp cho cây lúa, đặc biệt từ giai đoạn trổ bông, do đó làm tăng khả năng tích lũy chất khô và năng suất [11]. Những dòng lúa có lá to, bản lá dày, màu xanh đậm sẽ có lợi cho quang hợp và giúp tích lũy chất khô cho lúa [12]. Kết quả đánh giá theo dõi hình thái của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 cho thấy chiều dài lá đồng tập trung khoảng 41,2-64,3 cm (bảng 1, hình 2). Chiều dài lá ở huyện Cầu Ngang ngắn nhất so với 2 huyện Trà Cú và Châu Thành. Chiều dài lá quan sát đạt 41,2-52,5 cm (Cầu Ngang), 44,6-55,3 cm (Trà Cú) và 51,7-64,3 cm (Châu Thành). Chiều rộng lá đạt 0,6-1,2 cm, chiều rộng lá trung bình là 1,0 cm ở cả 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành (bảng 1, hình 2).

Bảng 1. Thống kê mô tả các tính trạng khác nhau của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.

	Cao cây (cm)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)	Số nhánh (nhánh)	Số bông (bông)	Chiều dài bông (cm)	Hạt chắc (hạt)	Tổng số hạt (hạt)	Khối lượng khô (g)	Dài hạt lúa (mm)	Rộng hạt lúa (mm)	Dài/rộng (hạt lúa)	Khối lượng 1000 hạt (g)
Trung bình	128,8	53,4	1,0	40,5	34,8	24,7	134,3	170,7	193,0	8,4	2,4	3,6	22,9
Độ lệch chuẩn	12,6	9,3	0,1	20,8	5,2	1,1	15,9	17,1	156,3	0,2	0,2	0,2	0,9
Giá trị tối thiểu	116,2	44,1	0,9	19,7	29,7	23,6	118,4	153,5	36,7	8,2	2,2	3,3	22,0
Giá trị tối đa	141,3	62,8	1,1	61,2	40,0	25,8	150,2	187,8	349,3	8,7	2,5	3,8	23,7
CV (%)*	8,63	15,60	17,47	21,05	21,91	6,87	19,15	17,79	32,76	3,13	6,75	31,37	7,26
Phạm vi chọn dòng	128,8±12,6	53,4±9,3	1,0±0,1	40,5±20,8	34,8±5,2	24,7±1,1	134,3±15,9	170,7±17,1	193,0±156,3	8,4±0,2	2,4±0,2	3,6±0,2	22,9±0,9

*CV: hệ số biến thiên.



Hình 2. Phân nhóm chiều dài lá đồng, chiều rộng lá đồng của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trồng tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.

3.4. Số bông và chiều dài bông

Theo N.N. De (2008) [5], số chồi hình thành bông (chồi hữu hiệu) thấp hơn so với chồi tối đa và ổn định khoảng 10 ngày trước khi đạt được số chồi tối đa. Kết quả đánh giá chỉ tiêu về số bông và chiều dài bông của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trình bày ở bảng 1 và hình 3. Nhìn chung các dòng lúa Tài Nguyên có số bông tập trung 23,3-56 bông, số bông cao nhất được quan sát ở huyện Trà Cú (38,3 bông), theo sau là huyện Châu Thành (34,8 bông) và Cầu Ngang (30,8 bông).

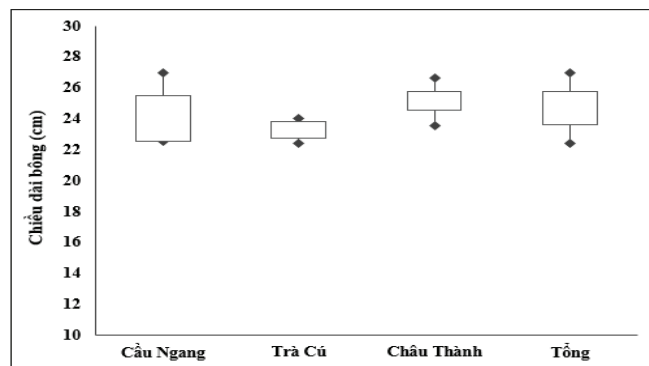
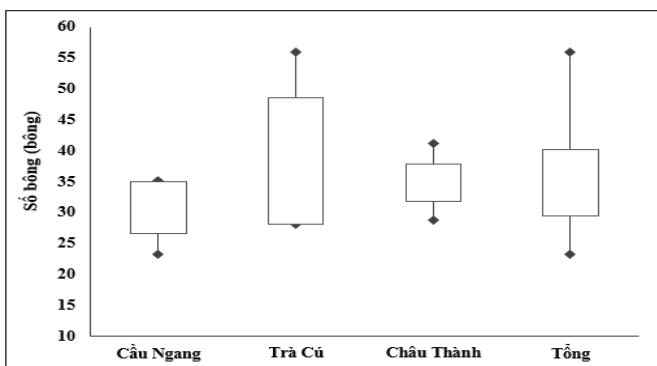
Chiều dài bông ở giống lúa Tài Nguyên trung bình đạt 24,7 cm (bảng 1). Chiều dài bông các dòng Tài Nguyên được trồng ở huyện Châu Thành đạt 25,2 cm, Cầu Ngang đạt 24,0 cm và Trà Cú đạt 23,3 cm (hình 3). Theo Y.D. Moukoubi và cs (2011) [13], chiều dài bông là đặc điểm di truyền của giống, thay đổi theo giống và chịu ảnh hưởng bởi điều kiện môi trường, nhất là điều kiện dinh dưỡng trong giai đoạn đầu hình thành bông. Kết quả nghiên cứu này cũng cho thấy chiều dài bông tăng nhẹ so với dòng G_0 (20-22 cm).

3.5. Tổng số hạt chắc, tổng số hạt và tỷ lệ hạt lép

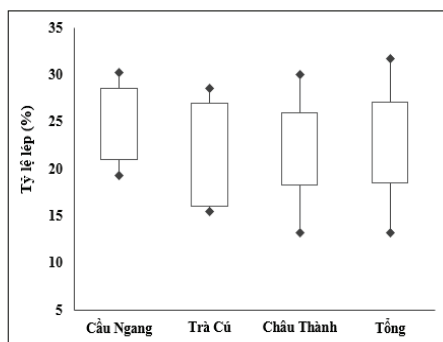
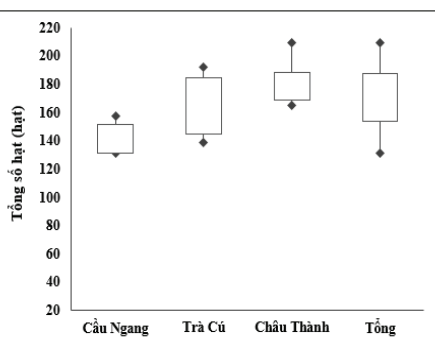
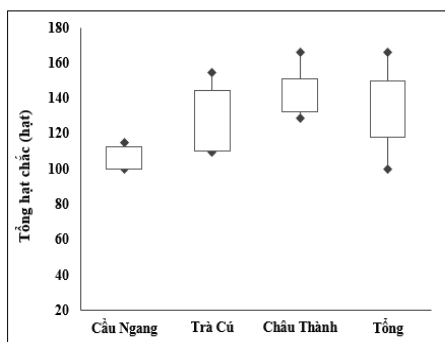
Các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 có tổng số hạt chắc dao động 100,1-166,3 và tổng số hạt đạt 131,3-209,6 hạt (hình 4, bảng 1). Cụ thể, các dòng lúa Tài Nguyên có tổng số hạt chắc và tổng số hạt lần lượt ở các huyện Cầu Ngang

(106,3 và 141,6 hạt), Trà Cú (127,4 và 165,1 hạt) và Châu Thành (141,9 và 178,8 hạt) (hình 4). Theo P.R. Jennings và cs (1979) [14], cây lúa phải ổn định về chiều cao vào thời kỳ trổ chín để quá trình tích lũy chất khô về hạt xảy ra càng mạnh. Giai đoạn này quyết định số hạt chắc/bông và khối lượng 1000 hạt của cây lúa. Trong giai đoạn này, khi trời có mưa nhiều hoặc thời tiết lạnh có thể kéo dài thêm giai đoạn chín. Ngược lại, trời nắng và ẩm làm rút ngắn giai đoạn chín của cây lúa. Y.D. Moukoubi và cs (2011) [13] cho rằng, lúa đẻ nhánh nhiều hơn cung cấp khả năng quang hợp tốt hơn để hỗ trợ sự phát triển của rễ và chồi, cuối cùng góp phần làm đầy hạt nhiều hơn và hạt chắc hơn. Điều này cũng cung cấp đầy đủ chất dinh dưỡng cho sự phát triển sinh dưỡng.

Bên cạnh đó, tỷ lệ hạt lép cũng được đánh giá ở các dòng lúa vụ G_1 , kết quả cho thấy tỷ lệ hạt lép trung bình đạt 22,8% (bảng 1). Tỷ lệ hạt lép cao nhất được quan sát ở huyện Cầu Ngang (24,8%), theo sau là huyện Châu Thành (22,1%) và Trà Cú (21,5%). Theo N.N. De (2008) [5], thường số hoa trên bông quá nhiều sẽ dẫn đến tỷ lệ hạt lép cao. Các giống lúa có khả năng quang hợp, tích lũy và chuyển vị các chất mạnh cộng với cấu tạo mô cơ giới vững chắc không đổ ngã sớm, trổ và tạo hạt trong điều kiện thời tiết tốt, dinh dưỡng trong đất đầy đủ thì tỷ lệ hạt lép sẽ thấp và ngược lại.



Hình 3. Phân nhóm số bông, chiều dài bông của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trồng tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.



Hình 4. Phân nhóm tổng số hạt chắc, tổng số hạt và tỷ lệ hạt lép (%) của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trồng tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.

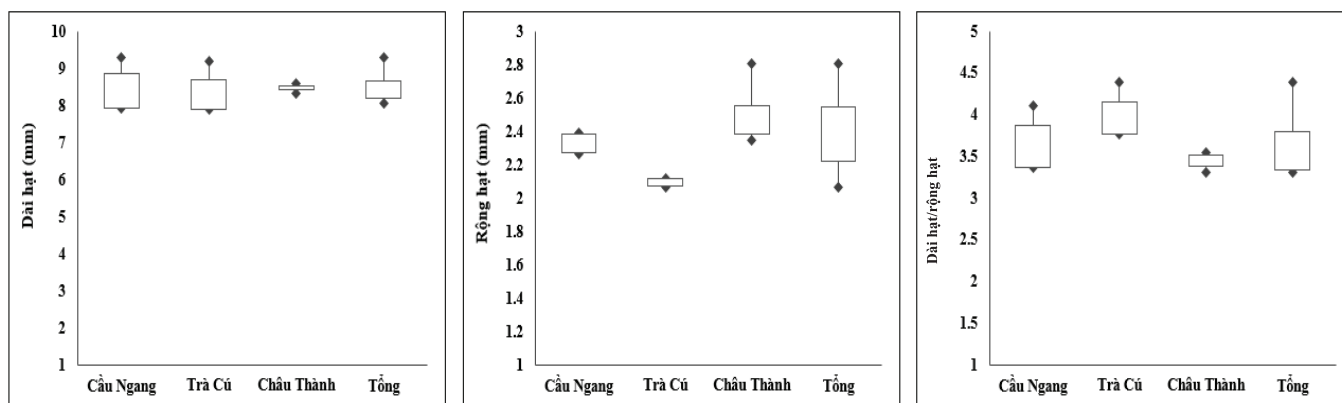
S. Yoshida (1981) [15] cho rằng, sự lép hạt là hiện tượng phổ biến trong các dòng tuyển chọn do 3 nguyên nhân chính là: nhiệt độ vượt quá mức tối ưu, đổ ngã và bất thụ do lai hay tính không tương hợp di truyền. Vì vậy, để có tỷ lệ hạt chắc/bông cần phải cung cấp đầy đủ dinh dưỡng cũng như chế độ tưới tiêu hợp lý.

3.6. Kích thước hạt lúa

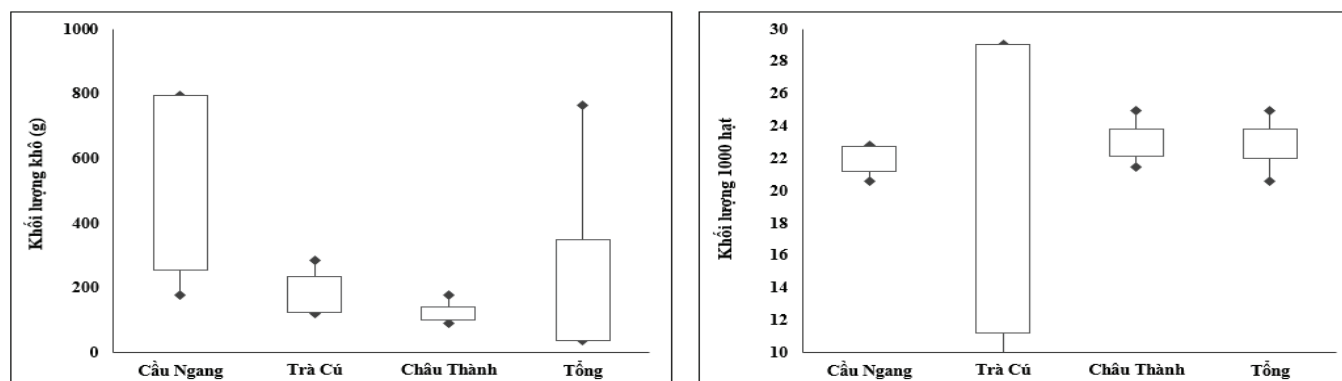
Kết quả đo chiều dài hạt lúa cho thấy, các dòng lúa Tài Nguyên chiều dài hạt dao động 8,1-9,3 mm (hình 5, bảng 1). Chiều dài hạt lúa ở huyện Châu Thành tương đối ổn định ở các dòng (8,3-8,6 mm), trong khi đó chiều dài hạt lúa ở huyện Cầu Ngang và Trà Cú có khoảng cách tương đối xa, cụ thể 8,1-9,3 mm ở huyện Cầu Ngang và 8,0-8,2 mm ở huyện Trà Cú (hình 5, bảng 1). Chiều dài hạt là một yếu tố chất lượng quan trọng. Hạt gạo được phân loại theo kích cỡ rất dài, dài và ngắn [16]. Chiều rộng hạt ở các dòng lúa Tài Nguyên dao động 2,1-2,8 mm và tỷ lệ dài hạt/rộng hạt là 3,3-4,3 mm. Dựa vào chiều dài hạt và tỷ lệ dài rộng cho thấy các dòng lúa Tài Nguyên thuộc nhóm rất dài.

3.7. Sinh khối và khối lượng 1000 hạt

Các dòng lúa Tài Nguyên được thu và phơi khô để đánh giá chỉ tiêu sinh khối. Sinh khối của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 dao động 70-340 g được trình bày ở hình 6 và bảng 1. Kết quả cho thấy, sinh khối các dòng lúa Cầu Ngang dao động 300-800 g; Trà Cú 150-250 g và không có sự chênh lệch sinh khối giữa các dòng trong huyện Châu Thành. Khối lượng 1.000 hạt của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 tập trung khoảng 19,6-30,7 g; khối lượng 1.000 hạt ở huyện Trà Cú dao động khá lớn (12-28 g), trong khi đó ở 2 huyện Cầu Ngang và Châu Thành tương đối đồng nhất (dao động 21-24 g). Theo S. Yoshida (1981) [15], khối lượng hạt mang đặc tính ổn định của cây lúa. Khối lượng 1.000 hạt là yếu tố cấu thành nên năng suất lúa và cũng là yếu tố ít biến động theo điều kiện ngoại cảnh, chịu sự kiểm soát chặt chẽ bởi yếu tố di truyền. Trong các điều kiện canh tác và làm đất khác nhau cũng không làm biến động khối lượng 1.000 hạt của cây lúa (hình 6, bảng 1).



Hình 5. Phân nhóm chiều dài hạt, chiều rộng và tỷ lệ dài hạt/rộng hạt của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trồng tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.



Hình 6. Phân nhóm khối lượng khô và khối lượng 1000 hạt của các dòng lúa Tài Nguyên vụ G_1 được trồng tại 3 huyện Cầu Ngang, Trà Cú và Châu Thành.

Bảng 2. Một số đặc tính nông học các dòng được chọn lọc ở vụ G₁.

Dòng	Cao cây (cm)	Số nhánh (nhánh)	Dài lá (cm)	Rộng lá (cm)	Số bông (bông)	Dài bông (cm)	Dài hạt (mm)	Rộng hạt (mm)	Dài/rộng	Khối lượng 1000 hạt (hạt)
TNCT 7-8	126,2	38,2	58,4	1,1	38,0	24,5	8,3	2,3	3,6	22,9
TNCT 7-17	129,3	41,0	59,0	1,1	37,3	25,2	8,5	2,5	3,4	23,4
TNCT 7-20	123,8	45,8	61,3	1,2	39,0	25,4	8,5	2,4	3,5	22,2
TNCT 8-3	123,8	37,0	53,3	1,1	32,8	25,5	8,5	2,5	3,5	22,7
TNCT 8-9	126,6	35,0	52,0	0,9	31,0	25,3	8,5	2,4	3,5	22,6
TNCT 8-16	133,2	37,8	54,6	0,9	34,3	25,6	8,5	2,5	3,5	22,7
TNCT 8-17	121,3	34,0	53,3	1,0	30,7	25,5	8,5	2,4	3,5	22,3
TNCT 8-19	126,7	38,4	51,7	1,0	34,7	25,5	8,5	2,4	3,5	22,3
TNCT 8-23	125,4	36,8	56,1	1,0	35,0	24,5	8,4	2,4	3,5	22,9
TNCT 8-26	125,7	34,0	56,3	1,0	31,3	25,3	8,5	2,5	3,4	22,3
TNCT 8-28	124,0	37,6	57,2	1,2	33,6	25,4	8,5	2,6	3,3	23,5
TNCT 9-1	119,4	40,9	55,4	1,1	37,0	24,5	8,5	2,5	3,5	22,5
TNCT 9-29	126,3	38,6	60,3	1,1	36,3	25,6	8,5	2,4	3,5	23,4

Kết quả đánh giá và tham số thống kê của một số tính trạng chính của 40 dòng vụ G₁ đã lựa chọn được 13 dòng với chiều cao cây 128,8±12,6 cm; chiều dài lá 53,4±9,3 cm; chiều rộng lá 1,0±0,1 cm; số nhánh 40,5±20,8; số bông 34,8±5,2; chiều dài bông 24,7±1,1; dài hạt lúa 8,4±0,2; khối lượng 1000 hạt 22,9±0,9 (bảng 2).

4. Kết luận

Kết quả đánh giá 40 dòng lúa Tài Nguyên vụ G₁ cho 12 chỉ tiêu nông học đã chọn lọc được 13 dòng. Các dòng lúa lúa Tài Nguyên G₁ đạt tiêu chuẩn được dùng làm nguyên liệu cho vụ G₂. Các dữ liệu của nghiên cứu này góp phần làm cơ sở để so sánh và chọn lọc, duy trì dòng thuần theo các đặc trưng phục vụ công tác bảo tồn và phát triển nguồn gen ngoài sản xuất.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu được hỗ trợ kinh phí từ Ủy ban nhân dân tỉnh Trà Vinh. Các tác giả cũng xin cảm ơn Sở Khoa học và Công nghệ tỉnh Trà Vinh và Trường Đại học Trà Vinh đã tạo điều kiện để hoàn thành nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] G.S. Khush (2005), "What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030", *Plant Molecular Biology*, **59**(1), pp.1-6, DOI: 10.1007/s11103-005-2159-5.
- [2] S.M. Haefele, K. Naklang, D. Harnpichitvitaya, et al. (2006), "Factors affecting rice yield and fertilizer response in rainfed lowlands of northeast Thailand", *Field Crops Research*, **98**(1), pp.39-51, DOI: 10.1016/j.fcr.2005.12.003.
- [3] R.E. Huke (1982), *Rice Area by Type of Culture: South, Southeast, and East Asia*, International Rice Research Institute, 32pp.
- [4] General Statistics Office (2021), *Statistical Yearbook of Vietnam*, Statistical Publishing House, 1058pp (in Vietnamese).

- [5] N.N. De (2008), *Rice*, Can Tho University, 20pp (in Vietnamese).

- [6] S. Fukuoka, T.D. Suu, K. Ebana, et al. (2006), "Diversity in phenotypic profiles in landrace populations of Vietnamese rice: A case study of agronomic characters for conserving crop genetic diversity on farm", *Genetic Resources and Crop Evolution*, **53**, pp.753-761.

- [7] P.T. Kiem (2008), *Seed Technology for Short-term Plants*, Agricultural Publishing House, 162pp.

- [8] A.K. Sarawgi, L.V.S Rao, M. Parikh, et al. (2013), "Assessment of variability of rice (*Oryza sativa* L.) germplasm using agro-morphological characterisation", *Journal of Rice Research*, **6**(1), pp.15-28.

- [9] B. Wang, J. Li (2019), "Understanding the molecular bases of agronomic trait improvement in rice", *The Plant Cell*, **31**(7), pp.1416-1417, DOI: 10.1105/tpc.19.00343.

- [10] N.H. Hiep, N.D. Luong, T.T. V. Nga, et al. (2018), "Hydrological model using ground-and satellite-based data for river flow simulation towards supporting water resource management in the Red River Basin, Vietnam", *Journal of Environmental Management*, **217**, pp.346-355, DOI: 10.1016/j.jenvman.2018.03.100.

- [11] N.D. Giao, N.T. Huyen, N. H. Te (1997), *Food Crops*, Agricultural Publishing House, **1**, 103pp (in Vietnamese).

- [12] D.V. Tran (2005), *World Rice Production: Current Status and Development Trends in The 21st Century*, Agricultural Publishing House, 502pp (in Vietnamese).

- [13] Y.D. Moukoubi, M. Sie, R. Vodouhe, et al. (2011), "Assessing phenotypic diversity of interspecific rice varieties using agro-morphological characterisation", *Journal of Plant Breeding and Crop Science*, **3**(5), pp.74-86.

- [14] P.R. Jennings, W.R. Coffman, H.E. Kauffman (1979), *Rice Improvement*, International Rice Research Institute, 186pp.

- [15] S. Yoshida (1981), *Fundamentals of Rice Crop Science*, International Rice Research Institute, 269pp.

- [16] M. Akram, F.M. Abbasi, M.A. Sagar, et al. (1994), "Increasing rice productivity through better utilisation of germplasm", *PARC/IPGRI*, pp.107-114.

Phân tích gen biểu hiện của buồng trứng tôm sú (*Penaeus monodon*) liên quan đến tính trạng sinh sản dựa vào hệ gen tham chiếu

Lê Thị Hồng Thắm¹, Trần Thị Hải Yến¹, Võ Thị Minh Thu¹, Nguyễn Việt Tuấn², Nguyễn Minh Thành^{1*}

¹Khoa Công nghệ Sinh học, Trường Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia TP Hồ Chí Minh, khu phố 6, phường Linh Trung, TP Thủ Đức, TP Hồ Chí Minh, Việt Nam

²Bộ Nông nghiệp bang Victoria, Melbourne, 5 Ring Road, Bundoora Victoria, Australia

Ngày nhận bài 8/6/2023; ngày chuyển phản biện 10/6/2023; ngày nhận phản biện 21/6/2023; ngày chấp nhận đăng 25/6/2023

Tóm tắt:

Tôm sú (*Penaeus monodon*) là loài được nuôi phổ biến ở nước ta và trên thế giới. Hiện nay, nguồn tôm bố mẹ phục vụ cho sản xuất giống vẫn phụ thuộc vào tôm sú tự nhiên bởi vì chất lượng sinh sản của tôm tự nhiên cao hơn tôm gia hóa. Mục tiêu của nghiên cứu là phân tích sự biểu hiện gen của buồng trứng tôm sú tự nhiên ở giai đoạn chưa thành thực và thành thực sinh sản bằng các phương pháp phân tích dựa vào hệ gen tham chiếu, và so sánh kết quả từ các phương pháp phân tích này. cDNA của các mẫu buồng trứng được giải trình tự bằng thiết bị Illumina. Kết quả lắp ráp bằng phương pháp có hệ gen tham chiếu đạt 71.678 contig, trong đó độ dài N50 của contig là 1.587 bp. Kết quả phân tích sự biểu hiện gen dựa vào hệ phiên mã vừa xây dựng xác định được 288 gen có biểu hiện khác biệt khi so sánh mẫu buồng trứng của giai đoạn thành thực và chưa thành thực. Trường hợp phân tích gen biểu hiện bằng cách căn chỉnh trực tiếp lên hệ gen tham chiếu chỉ xác định được 49 gen có biểu hiện khác biệt. Kết quả phân tích sự biểu hiện gen cũng cho thấy những gen liên quan đến tính trạng sinh sản có biểu hiện tăng ở giai đoạn thành thực, bao gồm vitellogenin, NADH dehydrogenase subunit 2, anti-lipopolysaccharide factor-like. Kết quả biểu hiện gen không đồng nhất giữa 2 phương pháp phân tích được thảo luận.

Từ khóa: hệ gen tham chiếu, *Penaeus monodon*, sự biểu hiện gen, tính trạng sinh sản, tôm sú.

Chỉ số phân loại: 4.5, 4.6

Gene expression analyses of the ovaries in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) for reproductive trait using reference genome

Thi Hong Tham Le¹, Thi Hai Yen Tran¹, Thi Minh Thu Vo¹, Viet Tuan Nguyen², Minh Thanh Nguyen^{1*}

¹School of Biotechnology, International University, Vietnam National University - Ho Chi Minh City, Quarter 6, Linh Trung Ward, Thu Duc City, Ho Chi Minh City, Vietnam

²Agriculture Victoria, Melbourne, 5 Ring Road, Bundoora Victoria, Australia

Received 8 June 2023; revised 21 June 2023; accepted 25 June 2023

Abstract:

The black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) is widely cultured in Vietnam and worldwide. Broodstock source for post-larval production still relies on the wild shrimps due to their higher reproductive quality in comparison with the domesticated broodstock. The aims of the current study were to analyse differential gene expression in the ovaries of black tiger shrimp between the stages of reproductive maturation using the reference genome-based approaches and to compare the results generated by these approaches. cDNAs of the ovarian samples were sequenced using the Illumina platform. Genome-guided assembly (GGA) was employed to generate 71,678 contigs with an N50 length of 1,587 bp. For gene expression analysis, the newly built-transcriptome-based approach identified a total number of 288 differentially expressed genes (DEGs) when the samples between the non-mature and mature stages were compared. The gene expression analysis using the reference mapping approach resulted in only 49 DEGs. The analyses indicated that many genes involved in the reproductive maturation were up-regulated, including vitellogenin, NADH dehydrogenase subunit 2, and anti-lipopolysaccharide factor-like. Different results of gene expression from both approaches are discussed.

Keywords: black tiger shrimp, gene expression, *Penaeus monodon*, reference genome, reproductive trait.

Classification numbers: 4.5, 4.6

*Tác giả liên hệ: Email: nmthanh@hcmiu.edu.vn

1. Đặt vấn đề

Hơn một thập kỷ qua, sự phát triển của kỹ thuật giải trình tự gen thế hệ mới (NGS) đã tạo điều kiện thuận lợi giải trình tự toàn bộ hệ gen hoặc hệ gen phiên mã cho nhiều loài không phải là loài nghiên cứu mẫu, trong đó có các loài thủy sản. NGS cũng tạo ra cuộc cách mạng trong lĩnh vực nghiên cứu hệ gen chức năng và sự biểu hiện của các gen. Tuy nhiên, hạn chế của đa số thiết bị NGS hiện nay là chỉ giải trình tự các đoạn ngắn nên gây khó khăn cho bước lắp ráp tiếp theo, đặc biệt là các hệ gen có nhiều vùng lặp lại như tôm sú [1]. Phần lớn các nghiên cứu sử dụng phương pháp lắp ráp không có hệ gen tham chiếu vì nhiều loài chưa có hệ gen hoàn chỉnh được công bố. Đối với những loài có hệ gen tham chiếu, phương pháp lắp ráp dựa vào hệ gen tham chiếu (GGA) để hướng dẫn quá trình định vị chính xác hơn và cho kết quả lắp ráp tốt hơn. Tất cả các bước chú giải và phân tích gen biểu hiện phụ thuộc hoàn toàn vào kết quả lắp ráp. Vì vậy chất lượng của kết quả lắp ráp tác động trực tiếp đến kết quả của các phân tích về sau. Phương pháp lắp ráp dựa vào hệ gen tham chiếu có thể là một lựa chọn để đạt chất lượng lắp ráp tốt hơn.

Hiện tại, tôm sú (*Penaeus monodon*) vẫn là đối tượng nuôi chủ lực ở nước ta và đóng góp đáng kể vào giá trị xuất khẩu của ngành thủy sản. Năm 2022, sản lượng tôm sú đạt 271.000 tấn và xuất khẩu đạt 574 triệu USD, chiếm 13,3% cơ cấu các sản phẩm tôm xuất khẩu của Việt Nam [2]. Tôm sú bố mẹ chủ yếu đánh bắt từ tự nhiên vì sức sinh sản của tôm mẹ và chất lượng tôm giống vượt trội so với tôm bố mẹ gia hóa. Nhiều nghiên cứu so sánh hệ phiên mã của tôm sú tự nhiên và gia hóa để tìm kiếm các gen tiềm năng liên quan đến tính trạng sinh sản [3, 4]. Nghiên cứu hiện tại phân tích sự biểu hiện gen khác biệt ở buồng trứng giai đoạn tiền thành thực và thành thực của tôm mẹ tự nhiên. Đối với tôm sú, hệ gen hoàn chỉnh đã được công bố bởi T. Uengwetwanit và cs (2021) [5]. Vì vậy, phương pháp lắp ráp hệ gen phiên mã và phân tích sự biểu hiện gen của mô buồng trứng sử dụng phương pháp có hệ gen tham chiếu. Mục tiêu của nghiên cứu là xác định các gen tiềm năng đóng góp vào sự thành thực sinh sản của tôm sú tự nhiên và so sánh kết quả của các phương pháp phân tích sự biểu hiện gen.

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Mẫu tôm thí nghiệm

Mẫu tôm sú cái tự nhiên ở giai đoạn tiền thành thực (giai đoạn 1, n=3) và giai đoạn thành thực sinh sản (giai đoạn 4, n=3) được thu thập tại vùng biển tỉnh Bà Rịa - Vũng Tàu

do ngư dân địa phương đánh bắt. Các giai đoạn phát triển buồng trứng của tôm cái được xác định bằng phương pháp soi đèn dưới bụng để kiểm tra kích thước của buồng trứng [6]. Buồng trứng là cơ quan đích của nghiên cứu hệ gen phiên mã được lưu trữ trong RNAlater (Invitrogen, Hoa Kỳ) và bảo quản ở -80°C cho đến khi thực hiện ly trích RNA.

2.2. Ly trích RNA tổng số, tổng hợp thư viện cDNA và giải trình tự bằng Illumina

Mẫu buồng trứng được ly trích RNA tổng số bằng phương pháp TRIzol/Chloroform (Invitrogen) [7]. RNA tổng số được định tính và định lượng bằng máy quang phổ Nanodrop™ (ThermoFisher) và Bioanalyser 2100 (Agilent). mRNA được ly tách khỏi hỗn hợp RNA tổng số bằng Dynabeads mRNA purification kit (Invitrogen) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Sau đó mRNA được phân cắt đoạn ngẫu nhiên và được sử dụng làm khuôn mẫu để tổng hợp cDNA bằng TruSeq® Stranded mRNA Library Prep kit của Illumina theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Thư viện cDNA được giải trình tự bằng máy Illumina NovaSeq 6000 tại Novogene (25 Pandan Crescent #05-15 TIC Centre, Singapore 128477) vào năm 2022.

2.3. Lắp ráp các đoạn trình tự có hệ gen tham chiếu và chú giải các đoạn mRNA

Chất lượng các đoạn trình tự thô được đánh giá bằng phần mềm FastQC phiên bản 0.11.6 (<http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/>). Sau đó, các đoạn trình tự thô kém chất lượng và các đoạn adapter được loại bỏ bằng phần mềm Trimmomatic [8] với các tham số được đặt ra như sau: ILLUMINACLIP: TruSeq3-PE-2.fa: 2: 30: 10 HEADCROP:13 LEADING:5 TRAILING:5 SLIDINGWINDOW:5:15 MINLEN:50. Tất cả các đoạn trình tự ngắn đạt chất lượng sau đánh giá được tập hợp và lắp ráp thành bộ phiên mã theo trình tự của hệ gen tham chiếu. Đầu tiên, các tập tin danh mục gen được xây dựng từ hệ gen tôm sú *P. monodon* lưu trữ trên GenBank với mã số PRJNA679074 bằng công cụ HISAT2 phiên bản 2.1.0 [9]. Tiếp theo, các đoạn trình tự ngắn tinh sạch được sắp xếp và định vị vào các tập tin danh mục gen vừa tạo ra bằng công cụ HISAT2 phiên bản 2.1.0 với những thông số mặc định của công cụ. Sau đó, các đoạn trình tự ngắn đã được sắp xếp theo trình tự trên hệ gen được lắp ráp để xây dựng hệ gen phiên mã tôm sú cho nghiên cứu của chúng tôi bằng Trinity [10] dựa trên hệ gen tham chiếu. Cuối cùng, các contig trùng lặp được nhóm lại bằng CD-HIT phiên bản 4.8.1 [11]. Chất lượng của hệ gen phiên mã vừa lắp ráp được

đánh giá căn cứ vào cơ sở dữ liệu bộ gen của động vật chân khớp (arthropoda_odb10 lineage) sử dụng BUSCO [12]. Các contig được chú giải bằng BLASTx của NCBI [13] dựa vào cơ sở dữ liệu NR (Non-redundant) với giá trị $E < 1e^{-6}$.

2.4. Phân tích sự biểu hiện gen của mẫu buồng trứng ở giai đoạn tiền thành thực và thành thực

Trong nghiên cứu này, chúng tôi phân tích so sánh sự biểu hiện gen của buồng trứng giữa giai đoạn tiền thành thực và thành thực bằng 2 phương pháp: (i) Sắp xếp và định vị trực tiếp vào hệ gen tham chiếu (mã số PRJNA679074) (reference mapping - phương pháp RM); (ii) Sắp xếp và định vị dựa vào hệ gen phiên mã vừa được xây dựng từ phương pháp lắp ráp có hệ gen tham chiếu ở bên trên (phương pháp GGA).

Đối với phương pháp RM, các đoạn trình tự ngắn của từng mẫu buồng trứng được sắp xếp và định vị vào các tập tin danh mục gen bằng công cụ HISAT2 phiên bản 2.1.0. Tiếp đó, các đoạn trình tự đã được định vị được sắp xếp thứ tự bằng công cụ Samtools phiên bản 1.15 [14]. Công cụ HTSeq phiên bản 0.9.1 [15] được sử dụng để xác định số lượng đoạn trình tự được sắp xếp lên mỗi gen ở các mẫu buồng trứng có giai đoạn thành thực khác nhau. Kết thúc bước này tạo ra các tập số liệu định lượng các đoạn trình tự ngắn cho mỗi gen biểu hiện (transcript).

Đối với phương pháp GGA, các đoạn trình tự ngắn của từng mẫu buồng trứng được sắp xếp trình tự dựa vào thư viện contig thay cho các tập danh mục gen bằng công cụ Bowtie 2 [16]. Các đoạn trình tự ngắn đã được định vị vào thư viện contig cũng tiếp tục được sắp xếp theo thứ tự bằng Samtools. Công cụ RSEM [17] được sử dụng để xác định số lượng đoạn trình tự ngắn của các mẫu buồng trứng được sắp xếp lên mỗi contig. Tương tự bên trên, kết thúc bước này tạo ra các tập số liệu định lượng các đoạn trình tự ngắn cho mỗi contig.

Các tập số liệu định lượng các đoạn trình tự ngắn từ mỗi phương pháp phân tích được sử dụng để phân tích sự biểu hiện gen khác biệt giữa mẫu buồng trứng ở giai đoạn 1 và giai đoạn 4 bằng công cụ DESeq2 phiên bản 3.5.3 [18]

trên nền tảng R. Những transcript hay contig có tổng số các đoạn trình tự ngắn từ tất cả mẫu nhỏ hơn 10 bị loại bỏ. Một transcript hay contig được xác định là có biểu hiện gen khác biệt giữa giai đoạn 1 và 4 dựa vào các giá trị: $|\log_2(\text{fold change})| \geq 2$, giá trị p điều chỉnh (p-adjusted value) $< 0,05$.

3. Kết quả và bàn luận

3.1. Kết quả lắp ráp bằng phương pháp có hệ gen tham chiếu

Kết quả giải trình tự thư viện cDNA của các mẫu mô buồng trứng và chất lượng của các đoạn trình tự được trình bày ở bảng 1. Số lượng đoạn trình tự thô lần lượt là 43.284.300-45.841.714 cho mẫu buồng trứng ở giai đoạn 1 và 44.647.570-55.300.914 cho mẫu buồng trứng ở giai đoạn 4. Bước sàng lọc bằng công cụ Trimmomatic đã loại bỏ đoạn adapter và các đoạn trình tự chất lượng kém. Số lượng đoạn trình tự sau đánh giá đạt 41.194.378-44.154.658 cho mẫu buồng trứng ở giai đoạn 1 và 42.517.950-52.755.746 cho mẫu buồng trứng ở giai đoạn 4. Kích thước của các đoạn trình tự sau đánh giá là 50-137 bp.

Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp lắp ráp dựa vào hệ gen tham chiếu. Vì vậy chỉ các đoạn trình tự được sắp xếp và định vị vào hệ gen tham chiếu mới được giữ lại cho bước lắp ráp. Các chỉ số chính của hệ gen phiên mã được trình bày ở bảng 2. Kết quả lắp ráp đạt 71.678 contig (đã loại bỏ các contig lặp lại) từ các đoạn trình tự tinh sạch cộng gộp của tất cả mẫu buồng trứng ở 2 giai đoạn. Chiều dài trung bình của các contig là 825 bp (dao động từ 191 đến 25.504 bp). Chiều dài contig N50 là chỉ tiêu để đánh giá chất lượng của phần mềm lắp ráp đạt 1.587 bp. Nghiên cứu hiện tại có chiều dài N50 lớn hơn các nghiên cứu trước đây công bố cho chỉ tiêu này trên cùng đối tượng nghiên cứu [19, 20]. Đối với các nghiên cứu sử dụng kỹ thuật giải trình tự đoạn dài bằng thiết bị PacBio hoặc Nanopore, chiều dài N50 lần lượt là 1.919 bp [21] và 1.728 bp [22], không lớn hơn nhiều so với N50 của nghiên cứu hiện tại. Đối với hệ gen có nhiều vùng lặp lại, phần mềm thường bị lỗi trong xác định vị trí khi sắp xếp các đoạn trình tự ngắn và dẫn đến chất lượng hệ gen lắp ráp thấp [23]. Vì vậy, nghiên cứu hiện

Bảng 1. Tóm tắt kết quả giải trình tự và đánh giá chất lượng các đoạn trình tự ngắn.

Mẫu	Buồng trứng giai đoạn 1			Buồng trứng giai đoạn 4		
	1	2	3	1	2	3
Mẫu lắp						
Số lượng trình tự thô	45.841.714	43.284.300	44.784.006	44.647.570	47.042.688	55.300.914
Số lượng trình tự sau đánh giá	44.154.658	41.194.378	43.299.180	42.517.950	44.134.854	52.755.746
Kích thước (bp)	50-137	50-137	50-137	50-137	50-137	50-137
Q30 (%)	91,09	92,50	91,88	91,84	91,54	91,50
Tỷ lệ sắp xếp và định vị vào hệ gen tham chiếu (%)	84,36	87,51	83,50	87,77	87,17	86,69

Q30: chỉ số Phred đánh giá chất lượng các đoạn trình tự.

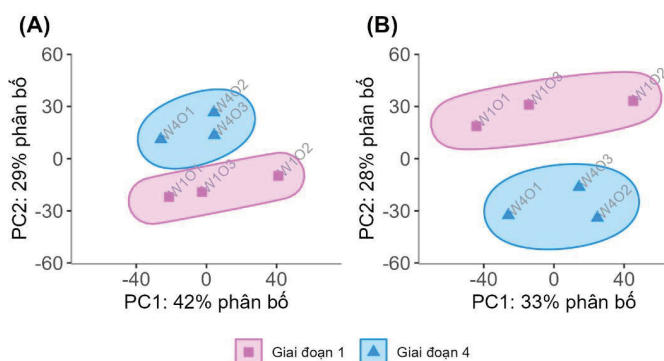
tại lựa chọn phương pháp lắp ráp có hệ gen tham chiếu để cải thiện chất lượng hệ gen phiên mã được lắp ráp. Kết quả phân tích BUSCO cho thấy mức độ hoàn chỉnh của hệ gen phiên mã mới lắp ráp đạt 79,3%.

Bảng 2. Kết quả lắp ráp và sàng lọc các contig.

Chỉ số phân tích	Giá trị
Tổng số contig	71.678
Tổng số base (bp)	59.141.777
Chiều dài contig trung bình (bp)	825
Chiều dài contig ngắn nhất (bp)	191
Chiều dài contig lớn nhất (bp)	22.504
Chiều dài contig N50 (bp)	1.587
Số lượng contig ≥ 1000 bp	16.491

3.2. Phân tích sự biểu hiện gen của mẫu buồng trứng ở giai đoạn tiền thành thực (giai đoạn 1) và giai đoạn thành thực (giai đoạn 4)

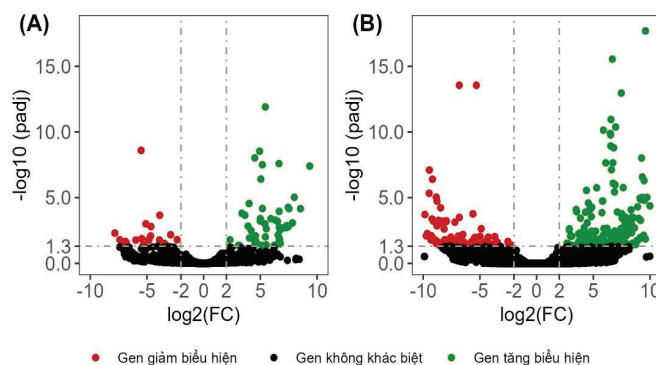
Sự phân bố số liệu của thư viện hệ gen phiên mã của các mẫu buồng trứng ở giai đoạn 1 và 4 được trình bày bằng đồ thị PCA (hình 1). Đồ thị PCA minh họa sự phân bố số liệu của các mẫu dựa vào mức độ tương đồng số liệu giữa các mẫu phân tích. Hình 1 cho thấy sự biểu hiện gen của hệ phiên mã có thể phân thành nhóm riêng biệt giữa giai đoạn 1 và 4. Trục PC1 của hình 1A giải thích 42% sai khác giữa các nhóm mẫu khi phân tích bằng phương pháp RM. Trong khi đó, trục này của hình 1B giải thích 33% sai khác giữa các nhóm mẫu khi phân tích bằng phương pháp GGA. Tuy nhiên, phương pháp GGA có phân bố số liệu khác biệt rõ rệt giữa giai đoạn 1 và 4. Đồ thị PCA cũng thể hiện số liệu của 3 mẫu lặp trong cùng 1 giai đoạn có thể gom thành nhóm tách biệt. Điều này cho thấy sự tương đồng của biểu hiện gen giữa các mẫu lặp sinh học ở cùng 1 giai đoạn nên đủ tin cậy cho các phân tích tiếp theo.



Hình 1. Đồ thị PCA của thư viện hệ gen phiên mã của các mẫu buồng trứng. (A) Phương pháp RM; (B) Phương pháp GGA.

Số lượng gen biểu hiện khác biệt khi so sánh mẫu buồng trứng ở giai đoạn 4 với 1 được trình bày bằng đồ thị volcano. Đối với phương pháp RM, tổng cộng 49 gen có biểu hiện

khác biệt được xác định, bao gồm 37 gen tăng cường biểu hiện và 12 gen giảm biểu hiện (hình 2A). Trường hợp phân tích theo phương pháp GGA, tổng cộng 288 gen có biểu hiện khác biệt khi so sánh mẫu của giai đoạn 4 với 1. Trong đó, 182 gen có biểu hiện tăng cường và 106 gen có biểu hiện giảm (hình 2B). Số lượng gen biểu hiện khác biệt giữa 2 giai đoạn thành thực phân tích bằng phương pháp GGA cao gần gấp 6 lần so với phương pháp RM. Phương pháp GGA cũng xác định được 8 gen có biểu hiện tăng gần 10 lần, trong đó có gen NADH dehydrogenase subunit 2 (mitochondrion). A. Conesa và cs (2016) [24] cho biết phương pháp định lượng bằng cách sắp xếp và định vị các đoạn trình tự trực tiếp lên hệ gen tham chiếu có thể sử dụng nếu tỷ lệ định vị vào hệ gen tham chiếu đạt 70-90%. Tỷ lệ định vị của bộ dữ liệu trong nghiên cứu hiện tại đạt 83,50-87,77% (bảng 1). Tỷ lệ này cho thấy phương pháp RM có thể áp dụng để phân tích sự biểu hiện gen. Tuy nhiên các mẫu buồng trứng nghiên cứu có thể có khác biệt về mặt di truyền so với mẫu tôm của hệ gen tham chiếu (mẫu tôm Thái Lan) được sử dụng để sắp xếp và định vị các đoạn trình tự. Các biến đổi hay đột biến về mặt di truyền có thể là sai khác nucleotide đơn hoặc đa nucleotide và sai khác các cấu trúc gen lớn đều ảnh hưởng đến kết quả sắp xếp và định vị trình tự. Ngoài ra, các đoạn trình tự của bộ dữ liệu hệ gen phiên mã đang nghiên cứu có thể không trùng khớp với các đoạn chú giải của hệ gen tham chiếu cũng bị loại trong quá trình định vị và dẫn tới kết quả định lượng các gen bị giảm [25]. Số lượng đoạn trình tự bị loại bỏ trong quá trình định vị đã làm giảm mức độ chính xác của phân tích sự biểu hiện gen ở mẫu buồng trứng khi so sánh các mẫu có giai đoạn phát triển khác nhau. Nghiên cứu hiện tại cho thấy phương pháp RM xác định được số lượng gen có biểu hiện khác biệt thấp hơn nhiều lần so với phương pháp GGA. Kết quả này phù hợp với nhận định của A. Srivastava và cs (2020) [25].

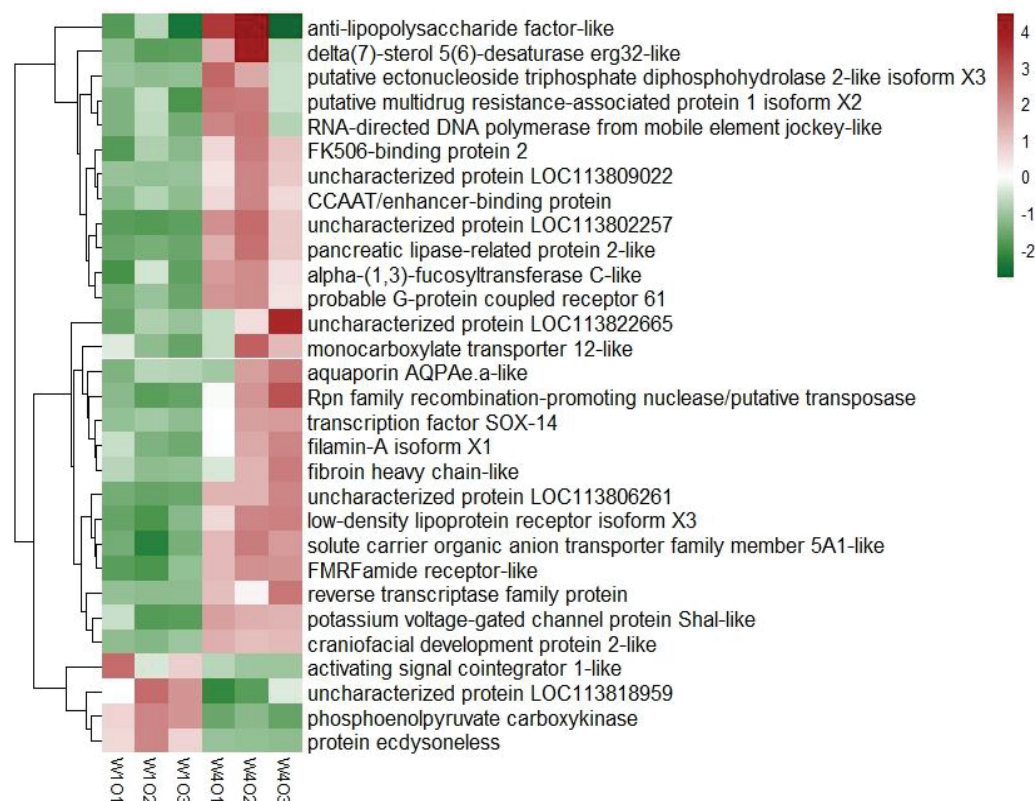


Hình 2. Đồ thị volcano. (A) Phương pháp RM; (B) Phương pháp GGA. Chấm xanh (bên phải đồ thị) cho thấy gen tăng cường biểu hiện, chấm đỏ (bên trái đồ thị) cho thấy gen suy giảm biểu hiện, chấm đen (sát trục hoành) cho thấy các gen biểu hiện không khác biệt giữa 2 giai đoạn.

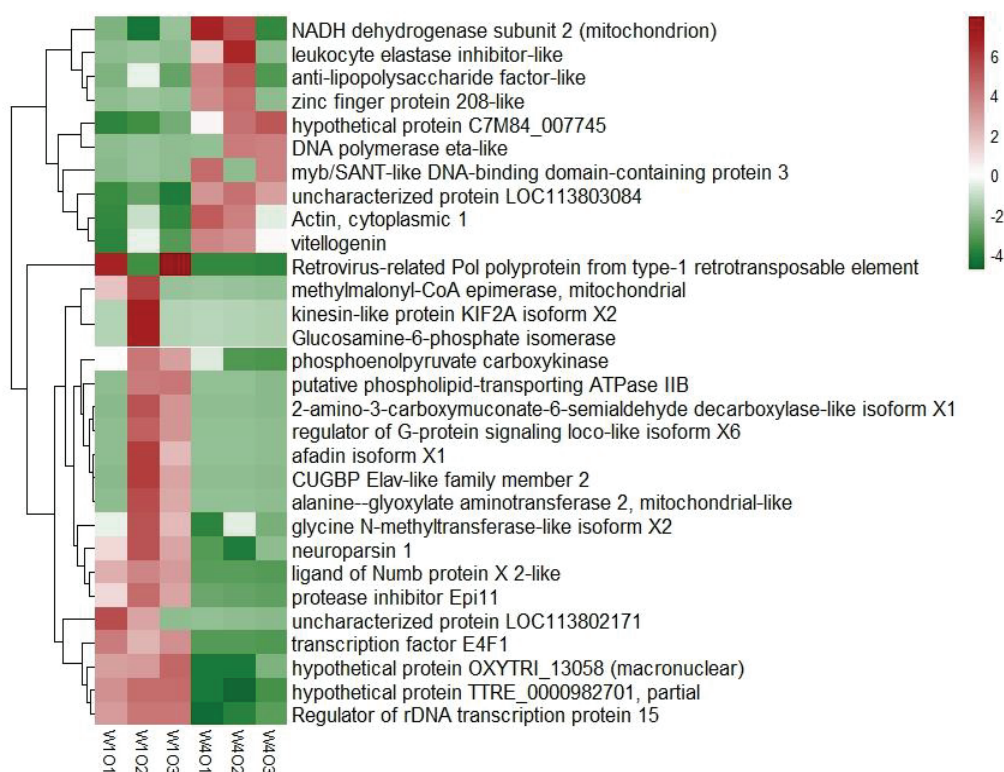
Kết quả top 30 của các gen có biểu hiện tăng hoặc giảm nhiều nhất ở giai đoạn 4 khi so sánh với giai đoạn 1 bằng phương pháp phân tích RM được trình bày ở đồ thị heatmap (hình 3). Các gen có biểu hiện tăng nhiều nhất bao gồm anti-lipopolysaccharide factor-like, low-density lipoprotein receptor isoform X3, pancreatic lipase-related protein 2-like, probable G-protein coupled receptor 61. Các gen có biểu hiện giảm ở giai đoạn 4 bao gồm phosphoenolpyruvate carboxykinase, activating signal cointegrator 1-like, protein ecdysoneless. Tương tự, đồ thị heatmap (hình 4) của phương pháp phân tích GGA cho thấy gen có biểu hiện tăng ở giai đoạn 4 là anti-lipopolysaccharide factor-like, vitellogenin, NADH dehydrogenase subunit 2 (mitochondrion), actin, cytoplasmic 1, leukocyte elastase inhibitor-like, myb/SANT-like DNA-binding domain-containing protein 3, zinc finger protein 208-like và DNA polymerase eta-like. Các gen có biểu hiện giảm ở giai đoạn 4 là neuroparsin 1, regulator of G-protein signaling loco-like isoform X6, phosphoenolpyruvate carboxykinase.

Phương pháp RM và GGA đều xác định gen anti-lipopolysaccharide factor-like có biểu hiện tăng ở giai đoạn buồng trứng thành thực. S. Li và cs (2015) [26] báo cáo gen

anti-lipopolysaccharide factor tổng hợp 1 protein có kích thước nhỏ có hoạt tính kháng khuẩn và được xác định tồn tại ở nhiều loại giáp xác, kể cả tôm sú. H. Ye và cs (2016) [27] công bố rằng, nhiều gen tham gia vào quá trình miễn dịch cũng đồng thời tham gia vào quá trình thành thực sinh sản của buồng trứng. Tuy nhiên, cho tới thời điểm hiện tại chưa có nghiên cứu nào khẳng định gen anti-lipopolysaccharide factor-like có ảnh hưởng tới quá trình thành thực sinh sản ở giáp xác. Do đó kết quả của chúng tôi có thể bổ sung thêm chức năng của gen này liên quan đến sự thành thực sinh sản ở tôm sú. Đặc biệt phương pháp GGA xác định được gen vitellogenin có biểu hiện tăng khác biệt ở giai đoạn 4. Theo S.J. Gutierrez và cs (2019) [28] buồng trứng thành thực bao gồm quá trình tổng hợp protein noãn hoàng vitellin là nguồn năng lượng và dinh dưỡng quan trọng nhất cho quá trình phát triển phôi. Vitellin được sản xuất từ sự phân giải tiền chất vitellogenin. Quá trình tổng hợp và tích lũy vitellogenin ở buồng trứng quyết định sự thành thực của buồng trứng. Quá trình tổng hợp vitellogenin xảy ra ở buồng trứng và/hoặc cơ quan gan tùy thuộc vào loài giáp xác và môi trường sống của nó. Gen vitellogenin biểu hiện tăng khác biệt ở buồng trứng giai đoạn 4 của nghiên cứu hiện tại là tương đồng với công bố trước đây [29]. Phương pháp GGA cũng phát hiện



Hình 3. Đồ thị heatmap của phương pháp RM. Màu xanh cho thấy sự biểu hiện giảm, màu đỏ cho thấy sự biểu hiện tăng; W1O1-W1O3: mẫu buồng trứng ở giai đoạn 1; W4O1-W4O3: mẫu buồng trứng ở giai đoạn 4.



Hình 4. Đồ thị heatmap của phương pháp GGA. Màu xanh cho thấy sự biểu hiện giảm, màu đỏ cho thấy sự biểu hiện tăng; W1O1-W1O3: mẫu buồng trứng ở giai đoạn 1; W4O1-W4O3: mẫu buồng trứng ở giai đoạn 4.

gen NADH dehydrogenase subunit 2 của ty thể có biểu hiện tăng khác biệt ở giai đoạn 4. Gen NADH dehydrogenase subunit 1-4 là gen liên quan đến sản sinh năng lượng và được xác nhận có biểu hiện tăng ở tôm sú bị cắt mắt để kích thích thành thực sinh sản [22]. Hai phương pháp phân tích đều xác định gen phosphoenolpyruvate carboxykinase có biểu hiện giảm ở giai đoạn 4. Đây là gen tổng hợp enzyme tham gia vào quá trình tạo glucose và được báo cáo tăng biểu hiện ở nghiên cứu của K. Sittikankaew và cs (2020) [22]. Phương pháp GGA cũng xác định gen neuroparsin 1 có biểu hiện khác biệt khi so sánh mẫu buồng trứng của giai đoạn 4 và giai đoạn 1. Gen neuroparsin tổng hợp các peptide thần kinh tham gia vào quá trình lột xác, sinh sản và trao đổi chất ở các loài giáp xác. Nghiên cứu hiện tại cho thấy gen neuroparsin 1 có biểu hiện giảm ở giai đoạn 4, trong khi gen này được báo cáo không có sự biểu hiện khác biệt có ý nghĩa giữa giai đoạn buồng trứng non và giai đoạn tích lũy noãn hoàng [29]. Vì vậy kết quả phân tích gen biểu hiện khác biệt phụ thuộc hoàn toàn vào phương pháp phân tích, giai đoạn thành thực của buồng trứng, nguồn gốc của mẫu phân tích (tôm tự nhiên hay tôm gia hóa) và mức độ đa dạng di truyền của mẫu phân tích. Tuy nhiên, các gen biểu hiện khác biệt phải được kiểm định bằng phương pháp PCR định lượng (qRT-PCR) để khẳng định mức độ chính xác của phương pháp phân tích bằng kỹ thuật giải trình tự RNA.

4. Kết luận

Nghiên cứu hiện tại giải trình tự hệ gen phiên mã đạt 41.194.378-52.755.746 đoạn trình tự tính sạch tùy thuộc vào mẫu buồng trứng ở các giai đoạn khác nhau. Kết quả lắp ráp dựa vào hệ gen tham chiếu đạt 71.678 contig với chiều dài N50 là 1.587 bp. Phân tích sự biểu hiện gen khác biệt giữa giai đoạn buồng trứng tiền thành thực và thành thực của tôm sú tự nhiên được thực hiện bằng 2 phương pháp. Phương pháp phân tích dựa vào hệ phiên mã mới xây dựng xác định được số lượng gen biểu hiện khác biệt cao gấp nhiều lần so với phương pháp căn chỉnh các đoạn trình tự trực tiếp lên hệ gen tham chiếu. Đồng thời, nghiên cứu cũng xác định được một số gen liên quan đến quá trình phát triển và thành thực của buồng trứng có biểu hiện tăng ở giai đoạn thành thực sinh sản. Nghiên cứu hiện tại đã đề xuất các phương pháp khả thi trong phân tích sự biểu hiện gen cho các nghiên cứu sắp tới.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được tài trợ bởi Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Quốc gia (NAFOSTED) thông qua đề tài mã số 106.05-2019.36. Nhóm tác giả xin trân trọng cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] R. Huerlimann, N.M. Wade, L. Gordon, et al. (2018), “De novo assembly, characterization, functional annotation and expression patterns of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) transcriptome”, *Sci. Rep.*, **8**(1), DOI: 10.1038/s41598-018-31148-4.
- [2] Vietnam Association of Seafood Exporters and Producers (2023), *Report on Vietnam Seafood Exports in 2022*, 102pp (in Vietnamese).
- [3] T. Uengwetwanit, P. Ponza, D. Sangsrakru, et al. (2018), “Transcriptome-based discovery of pathways and genes related to reproduction of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*)”, *Mar. Genomics*, **37**, pp.69-73, DOI: 10.1016/j.margen.2017.08.007.
- [4] G. Rotllant, N.M. Wade, S.J. Arnold, et al. (2015), “Identification of genes involved in reproduction and lipid pathway metabolism in wild and domesticated shrimps”, *Mar. Genomics*, **22**, pp.55-61, DOI: 10.1016/j.margen.2015.04.001.
- [5] T. Uengwetwanit, W. Pootakham, I. Nookaew, et al. (2021), “A chromosome-level assembly of the black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) genome facilitates the identification of growth-associated genes”, *Mol. Ecol. Resour.*, **21**(5), pp.1620-1640, DOI: 10.1111/1755-0998.13357.
- [6] S.A. Uddin, N.G. Das, A.H.M. Kamal (2005), “Maturation and spawning of penaeid shrimp *Penaeus monodon* fabricius collected from off shore water of the Bay of Bengal”, *Int. J. Agri. Biol.*, **7**(6), pp.925-927.
- [7] P. Chomczynski, K. Mackey (1995), “Short technical reports: Modification of the TRI reagent procedure for isolation of RNA from polysaccharide-and proteoglycan-rich sources”, *Biotechniques*, **19**(6), pp.942-945.
- [8] A.M. Bolger, M. Lohse, B. Usadel (2014), “Trimmomatic: A flexible trimmer for Illumina sequence data”, *Bioinformatics*, **30**(15), pp.2114-2120, DOI: 10.1093/bioinformatics/btu170.
- [9] D. Kim, J.M. Paggi, C. Park, et al. (2019), “Graph-based genome alignment and genotyping with HISAT2 and HISAT-genotype”, *Nat. Biotechnol.*, **37**(8), pp.907-915, DOI: 10.1038/s41587-019-0201-4.
- [10] M.G. Grabherr, B.J. Haas, M. Yassour, et al. (2011), “Trinity: Reconstructing a full-length transcriptome without a genome from RNA-Seq data”, *Nat. Biotechnol.*, **29**(7), pp.644-652, DOI: 10.1038/nbt.1883.
- [11] W. Li, A. Godzik (2006), “Cd-hit: A fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences”, *Bioinformatics*, **22**(13), pp.1658-1659, DOI: 10.1093/bioinformatics/btl158.
- [12] F.A. Simão, R.M. Waterhouse, P. Ioannidis, et al. (2015), “BUSCO: Assessing genome assembly and annotation completeness with single-copy orthologs”, *Bioinformatics*, **31**(19), pp.3210-3212, DOI: 10.1093/bioinformatics/btv351.
- [13] S.F. Altschul, T.L. Madden, A.A. Schäffer, et al. (1997), “Gapped BLAST and PSI-BLAST: A new generation of protein database search programs”, *Nucleic Acids Research*, **25**(17), pp.3389-3402, DOI: 10.1093/nar/25.17.3389.
- [14] H. Li, B. Handsaker, A. Wysoker, et al. (2009), “The Sequence Alignment/Map format and SAMtools”, *Bioinformatics*, **25**(16), pp.2078-2079, DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
- [15] S. Anders, P.T. Pyl, W. Huber (2015), “HTSeq-A python framework to work with high-throughput sequencing data”, *Bioinformatics*, **31**(2), pp.166-169, DOI: 10.1093/bioinformatics/btu638.
- [16] B. Langmead, S.L. Salzberg (2012), “Fast gapped-read alignment with Bowtie 2”, *Nat. Methods*, **9**, pp.357-359, DOI: 10.1038/nmeth.1923.
- [17] B. Li, C.N. Dewey (2011), “RSEM: Accurate transcript quantification from RNA-seq data with or without a reference genome”, *BMC Bioinformatics*, **12**, DOI: 10.1186/1471-2105-12-323.
- [18] M.I. Love, W. Huber, S. Anders (2014), “Moderated estimation of fold change and dispersion for RNA-seq data with DESeq2”, *Genome Biol.*, **15**(12), DOI: 10.1186/s13059-014-0550-8.
- [19] N.M. Thanh, T.T.H. Yen, V.T.M. Thu, et al. (2021), Transcriptome analyses of female black tiger shrimps (*Penaeus monodon*) for reproductive trait using RNA-sequencing approach”, *Vietnam Journal of Science and Technology*, **63**(12), pp.47-51, DOI: 10.31276/VJST.63(12).47-51 (in Vietnamese).
- [20] J. Yuan, X. Zhang, C. Liu, et al. (2018), “Genomic resources and comparative analyses of two economical penaeid shrimp species, *Marsupenaeus japonicus* and *Penaeus monodon*”, *Mar. Genomics*, **39**, pp.22-25, DOI: 10.1016/j.margen.2017.12.006.
- [21] D.V. Quyen, H.M. Gan, Y.P. Lee, et al. (2020), “Improved genomic resources for the black tiger prawn (*Penaeus monodon*)”, *Mar. Genomics*, **52**, DOI: 10.1016/j.margen.2020.100751.
- [22] K. Sittikankaew, W. Pootakham, C. Sonthirod, et al. (2020), “Transcriptome analyses reveal the synergistic effects of feeding and eyestalk ablation on ovarian maturation in black tiger shrimp”, *Sci. Rep.*, **10**(1), DOI: 10.1038/s41598-020-60192-2.
- [23] H.E.L. Lischer, K.K. Shimizu (2017), “Reference-guided de novo assembly approach improves genome reconstruction for related species”, *BMC Bioinformatics*, **18**(1), DOI: 10.1186/s12859-017-1911-6.
- [24] A. Conesa, P. Madrigal, S. Tarazona, et al. (2016), “A survey of best practices for RNA-seq data analysis”, *Genome Biol.*, **17**, DOI: 10.1186/s13059-016-0881-8.
- [25] A. Srivastava, L. Malik, H. Sarkar, et al. (2020), “Alignment and mapping methodology influence transcript abundance estimation”, *Genome Biol.*, **21**(1), DOI: 10.1186/s13059-020-02151-8.
- [26] S. Li, S. Guo, F. Li, et al. (2015), “Functional diversity of anti-lipopolysaccharide factor isoforms in shrimp and their characters related to antiviral activity”, *Mar. Drugs*, **13**(5), pp.2602-2616, DOI: 10.3390/md13052602.
- [27] H. Ye, X. Li, T. Zheng, et al. (2016), “The effect of the immune system on ovarian function and features of ovarian germline stem cells”, *SpringerPlus*, **5**(1), DOI: 10.1186/s40064-016-2390-3.
- [28] S.J. Gutierrez, C.E.C. Caballero, C.B. Hernandez, et al. (2019), “Crustacean vitellogenin: A systematic and experimental analysis of their genes, genomes, mRNAs and proteins; and perspective to Next Generation Sequencing”, *Crustaceana*, **92**(10), pp.1169-1205, DOI: 10.1163/15685403-00003930.
- [29] T.V. Nguyen, L.W. Ryan, J. Nocillado, et al. (2020), “Transcriptomic changes across vitellogenesis in the black tiger prawn (*Penaeus monodon*), neuropeptides and G protein-coupled receptors repertoire curation”, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **298**, DOI: 10.1016/j.ygcen.2020.113585.

QUY ĐỊNH VỀ BÀI BÁO ĐĂNG TẢI TRÊN TẠP CHÍ

Yêu cầu chung

Bài báo gửi đăng trên Tạp chí phải là bài báo nguyên thủy (chưa được công bố trước đó). Tác giả không được gửi đăng bài báo trên các tạp chí khác cho đến khi có quyết định xét duyệt của Ban Biên tập.

Bài báo dài không quá 10 trang (bao gồm cả bảng biểu, ghi chú, tài liệu tham khảo và phụ lục); font chữ: Times New Roman; cỡ chữ 13; khổ giấy A4, lề trên 2 cm, lề dưới 2 cm, lề trái 3 cm, lề phải 2 cm.

Bài báo gửi qua Hệ thống gửi bài trực tuyến tại địa chỉ https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/about/submissions hoặc có thể gửi trực tiếp đến Tạp chí (Phòng 507, số 113 Trần Duy Hưng, phường Trung Hòa, quận Cầu Giấy, Hà Nội, Việt Nam) hoặc qua hòm thư điện tử: khoahocvacongnghevietnam@most.gov.vn.

Cấu trúc của các loại bài báo khác nhau có thể thay đổi tùy theo loại hình nghiên cứu và nội dung của bài báo. Sau đây là chi tiết các thành phần chính của bài báo.

Tên bài báo

- Tên bài báo được viết bằng tiếng Việt và tiếng Anh, trên trang đầu của bài báo, in đậm, không gạch chân hay viết nghiêng.
- Tên bài báo phải ngắn gọn, rõ ràng và phù hợp với nội dung bài báo.
- Phía dưới tên bài báo là tên tác giả không viết chức danh và học hàm, học vị. Nếu có nhiều tác giả làm việc ở các cơ quan khác nhau thì tên tác giả được đánh số ^(1,2,...) ở phía trên. Dấu hoa thị (*) chỉ tác giả liên hệ, được viết ở cuối trang đầu tiên của bài báo.
- Khí liệt kê cơ quan công tác của tác giả, cần nêu rõ tên cơ quan và địa chỉ cơ quan (số nhà, tên đường, phường, quận, thành phố, quốc gia) bằng tiếng Việt và tiếng Anh.

Tóm tắt

Tóm tắt bằng tiếng Việt và tiếng Anh (khoảng 160-250 từ). Nêu được mục đích, phương pháp nghiên cứu chính, kết quả nghiên cứu và kết luận chủ yếu. Từ khóa bằng cả tiếng Việt và tiếng Anh theo thứ tự alphabet (ít nhất 3 từ khóa). Chỉ số phân loại (theo hướng dẫn).

1. Đặt vấn đề/Dẫn nhập/Mở đầu

Định nghĩa vấn đề; tóm lược vấn đề nghiên cứu đã được công bố trong và ngoài nước, nêu mục tiêu nghiên cứu và giải thích sự lựa chọn đề tài và mục tiêu nghiên cứu để thấy được tính thời sự, tính khoa học và sự cần thiết của vấn đề nghiên cứu.

2. Đối tượng/Vật liệu và phương pháp nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu cần trình bày tiêu chuẩn lựa chọn, đặc điểm đối tượng nghiên cứu. Phương pháp nghiên cứu cần nêu rõ cách tiếp cận nghiên cứu, loại hình nghiên cứu, phương pháp đo lường, công thức tính cỡ mẫu, phương pháp xử lý số liệu, mô tả kỹ các kỹ thuật tiến hành trong nghiên cứu; các quan điểm, lập luận, ý kiến tranh luận, các dẫn chứng...

3. Kết quả

Trình bày đầy đủ, khách quan các kết quả thu được sau nghiên cứu, các kết quả này phải phục vụ cho mục tiêu nghiên cứu. Các số liệu phải chính xác và khớp với nhau.

Phần kết quả nghiên cứu chỉ trình bày các kết quả nghiên cứu của đề tài, không giải thích, so sánh và bàn luận.

4. Bàn luận (phần này có thể gộp với phần kết quả)

Chủ yếu bàn luận các vấn đề liên quan đến mục tiêu đề tài. Nhận xét, đánh giá một cách khách quan các kết quả nghiên cứu, có so sánh với các tác giả khác để khẳng định hoặc phủ định những hiểu biết đã có, qua đó nêu được những điểm mới và đóng góp của đề tài. Dự báo hướng nghiên cứu tiếp và khả năng ứng dụng các kết quả nghiên cứu vào thực tiễn.

5. Kết luận

Nêu kết quả nghiên cứu chủ yếu của đề tài có tính khái quát liên quan đến mục tiêu nghiên cứu, đề xuất các vấn đề tiếp tục nghiên cứu.

LỜI CẢM ƠN (nếu có)

Tác giả cảm ơn các tổ chức/cá nhân đã tài trợ kinh phí hoặc hỗ trợ cho nghiên cứu.

Phụ lục (nếu có)

Đăng tải bảng số liệu, thông tin để hỗ trợ thêm cho nội dung bài báo.

Chú thích và tài liệu tham khảo

Chú thích được đánh số theo thứ tự xuất hiện ^(1,2,3,...) và được trình bày ngay ở cuối trang viết (footnote). Các tài liệu tham khảo được đánh số theo thứ tự xuất hiện để chỉ dẫn chúng được trích dẫn ở đâu trong bài báo. Số thứ tự được đánh trong ngoặc vuông, ví dụ: [3] với một hoặc [2, 5, 7-9] với nhiều số chỉ dẫn.

Lưu ý:

- Đối với trích dẫn trong bài báo: tài liệu tham khảo có nhiều hơn một tác giả chỉ để tên tác giả đầu tiên và cộng sự, viết tắt là cs, ví dụ: T.V. Nguyen và cs (năm xuất bản) [thứ tự trong danh mục tài liệu tham khảo].
- Đối với danh mục tài liệu tham khảo cuối bài: tài liệu tham khảo bằng tiếng Anh, các tài liệu không phải tiếng Anh cần được dịch sang tiếng Anh và chú thích ở cuối câu, ví dụ: (in Vietnamese), (in French)...
- Tài liệu tham khảo là các đường link cần bổ sung ngày truy cập.

Tác giả (Năm xuất bản), "Tên tài liệu được trích dẫn", *Tên nguồn*, **tập(số)**, trang/số trang/trang đầu-trang cuối (nếu có), số DOI (nếu có), URL (nếu có), ngày truy cập (ghi rõ ngôn ngữ nào nếu không phải tài liệu bằng tiếng Anh).

Tác giả: là tác giả/các tác giả của tài liệu được tham khảo, trích dẫn: liệt kê đầy đủ tên tác giả (chữ viết tắt đưa lên trước) với những tài liệu tham khảo có ≤3 tác giả; liệt kê 3 tác giả đầu tiên và theo sau là "et al." khi có từ 4 tác giả trở lên.

Năm xuất bản: năm xuất bản của tài liệu được tham khảo, trích dẫn.

Tên tài liệu được trích dẫn: là tên bài báo, chương/phần sách... (chỉ viết hoa chữ cái đầu, trừ tên riêng và sau dấu hai chấm), viết trong ngoặc kép.

Tên nguồn có thể là tên tạp chí, tên sách, hay tên tài liệu gốc của tài liệu được trích dẫn (phần này được *in nghiêng*), viết hoa chữ cái đầu tiên của mỗi từ chính.

Tập(số): dành cho nguồn trích là tạp chí, sách hoặc các xuất bản phẩm khác (phần này **in đậm**).

Trang/số trang/trang đầu cuối phần ảnh nơi cư trú của tài liệu được trích dẫn trong tài liệu nguồn.

Nếu có ≥2 tài liệu tham khảo do cùng tác giả đầu tiên và cùng năm công bố, thì các tài liệu tham khảo này cần được đánh dấu a, b... sau năm xuất bản (ví dụ: 1986a, 1986b...).

Nếu có một số tài liệu tham khảo có cùng 1 bài báo được trích dẫn có số trang khác nhau thì cần trích dẫn thêm số trang, ví dụ: A. Amber (1982, p.39).

Chi tiết vui lòng xem thêm tại: https://b.vjst.vn/index.php/ban_b/quy-dinh-bai-viet.

Các yêu cầu khác

- Bài viết không đạt yêu cầu, Toà soạn không trả lại bản thảo.
- Bài viết chỉ được đăng khi phản biện nhận xét về chất lượng bài báo đồng ý cho đăng.
- Bản quyền: tác giả đồng ý trao bản quyền bài viết (bao gồm cả phần tóm tắt) cho Ban Biên tập Tạp chí.

Quy định này áp dụng từ năm 2022 trở đi.

PHÂN LOẠI LĨNH VỰC KHOA HỌC

1. Khoa học tự nhiên

- 1.1. Toán học và thống kê
- 1.2. Khoa học máy tính và thông tin
- 1.3. Vật lý
- 1.4. Hóa học
- 1.5. Khoa học trái đất và môi trường
- 1.6. Khoa học sự sống
- 1.7. Khoa học nano
- 1.8. Khoa học tính toán
- 1.9. Các lĩnh vực khác của khoa học tự nhiên

2. Khoa học kỹ thuật và công nghệ

- 2.1. Kỹ thuật dân dụng; kỹ thuật kiến trúc; kỹ thuật xây dựng; kỹ thuật kết cấu và đô thị; kỹ thuật giao thông vận tải; kỹ thuật thủy lợi; kỹ thuật địa chất công trình
- 2.2. Kỹ thuật điện, kỹ thuật điện tử, kỹ thuật thông tin
- 2.3. Kỹ thuật cơ khí, chế tạo máy
- 2.4. Kỹ thuật hóa học
- 2.5. Kỹ thuật vật liệu và luyện kim
- 2.6. Kỹ thuật y học
- 2.7. Kỹ thuật môi trường
- 2.8. Công nghệ sinh học công nghiệp
- 2.9. Công nghệ nano
- 2.10. Kỹ thuật thực phẩm và đồ uống
- 2.11. Các lĩnh vực khác của khoa học kỹ thuật và công nghệ

3. Khoa học y - dược

- 3.1. Y học cơ sở
- 3.2. Y học lâm sàng
- 3.3. Y học dự phòng
- 3.4. Dược học
- 3.5. Các lĩnh vực khác của khoa học y - dược

4. Khoa học nông nghiệp

- 4.1. Trồng trọt
- 4.2. Chăn nuôi
- 4.3. Thú y
- 4.4. Lâm nghiệp
- 4.5. Thủy sản
- 4.6. Công nghệ sinh học trong nông nghiệp, thủy sản
- 4.7. Các lĩnh vực khác của khoa học nông nghiệp

5. Khoa học xã hội và nhân văn

- 5.1. Tâm lý học
- 5.2. Kinh tế và kinh doanh
- 5.3. Khoa học giáo dục
- 5.4. Xã hội học
- 5.5. Pháp luật
- 5.6. Khoa học chính trị
- 5.7. Địa lý kinh tế và xã hội
- 5.8. Thông tin đại chúng và truyền thông
- 5.9. Lịch sử và khảo cổ học
- 5.10. Ngôn ngữ học và văn học
- 5.11. Triết học, đạo đức và tôn giáo
- 5.12. Nghiên cứu về khu vực và quốc tế
- 5.13. Các lĩnh vực khác của khoa học xã hội và nhân văn

TẠP CHÍ KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM

Vietnam Journal of Science and Technology - MOST

Volume 66 - Number 7 - July 2024

Chế tạo vật liệu quang nhiệt từ thân cây ngô và lớp phức giữa ion Fe^{3+} và axit tannic cho hệ bay hơi nước.

Phạm Tiến Thành, Nguyễn Hoàng Oanh

Tổng hợp và đánh giá tác động ức chế lipase tụy của các dẫn chất aurone thế trên vòng benzyldiene.

Võ Thị Cẩm Vân, Nguyễn Thanh Trang, Lê Thị Mỹ Chi, Đặng Ngọc Thiện

Tạo tế bào thần kinh tiết Orexin-A từ tế bào gốc vạn năng cảm ứng của người Việt Nam.

Đặng Thị Minh Anh, Đỗ Minh Hiếu, Nguyễn Thị Hồng Nhung, Nguyễn Xuân Hưng

Biểu hiện giảm của lncRNA UCA1 trong exosome huyết tương của bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ.

Nguyễn Thị Tú Linh, Vũ Thị Trinh, Lê Lan Phương, Lê Trung Thọ, Trịnh Hồng Thái

Tác dụng hạ đường huyết của các cao chiết từ Rau trai (*Commelina diffusa*) trên mô hình chuột đái tháo đường.

Chương Thị Ngọc Hiếu, Hà Quang Thanh, Nguyễn Hoàng Minh, Trịnh Minh Thiên, Mai Thành Chung, Chung Thị Mỹ Duyên

Đánh giá tác dụng hạ sốt của bài thuốc nam chữa sốt xuất huyết Dengue trên chuột nhắt trắng bị gây sốt bằng men bia.

Phạm Luân Hòa An, Phan Lê Như Quỳnh, Hứa Hoàng Oanh

Sàng lọc người mang đột biến gen *SRD5A2* gây thiếu hụt 5-alpha reductase 2 trên thai phụ Việt Nam.

Nguyễn Thị Trang, Nguyễn Doan Trang, Lê Hoàng Đan, Lê Thị Ngọc Anh, Phạm Quang Anh, Ngô Toàn Anh, Nguyễn Thanh Sáng, Hoàng Thái Thanh, Hà Hữu Hào, Nguyễn Đức Nhựt, Đỗ Thị Huyền Trang, Nguyễn Thanh Tuấn

Ảnh hưởng của độ mặn và vị trí địa lý các cửa sông Mê Kông lên mật độ và sinh khối của tôm trướng *Macrobrachium equidens* Dana, 1852 (Crustacea, Palaemonidae).

Trần Thành Thái, Võ Bích Xoàn, Nguyễn Thị Mỹ Yến, Trần Thị Hoàng Yến, Nguyễn Xuân Đồng, Phạm Thanh Lưu, Ngô Xuân Quảng

Nghiên cứu bào chế gel rửa tay Chè xanh.

Vũ Văn Tuấn, Vũ Thị Huyền Trang, Triệu Thị Hương

Đánh giá kết quả sớm chẩn đoán và điều trị tổn thương động mạch khoeo trong chấn thương vùng gối tại Bệnh viện Bình Dân.

Nguyễn Ngọc Hiếu, Cao Kim Xoa, Dương Hoàng Kim Kiều, Huỳnh Quang Khánh, Hồ Khánh Đức

Tổng quan dược điều trị và đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng ở người bệnh loạn dưỡng cơ vùng đai chi.

Trần Nam Chung, Đặng Hồng Hoa, Bùi Sơn Nhật, Đặng Chí Hiếu, Nguyễn Văn Hùng, Trần Văn Khánh

Đánh giá đặc điểm các dòng G1 trong phục tráng giống lúa mùa Tàì Nguyên (*Oryza sativa*) tại tỉnh Trà Vinh.

Trịnh Ngọc Ái, Nghị Khắc Nhu, Nguyễn Tấn Thanh, Lê Cao Thắng, Nguyễn Tiến Dũng

Phân tích gen biểu hiện của buồng trứng tôm sú (*Penaeus monodon*) liên quan đến tính trạng sinh sản dựa vào hệ gen tham chiếu.

Lê Thị Hồng Thắm, Trần Thị Hải Yến, Võ Thị Minh Thư, Nguyễn Việt Tuấn, Nguyễn Minh Thành

1 Corn straw coated with Fe^{3+} -tannic acid bilayers as a photothermal material for solar steam generation.

Tien Thanh Pham, Hoang Oanh Nguyen

7 Synthesis and pancreatic lipase inhibition activity evaluation of aurone derivatives with substituents on benzyldiene ring.

Thi Cam Van Vo, Thanh Trang Nguyen, Thi My Chi Le, Ngoc Thien Dang

14 Establishment of Vietnamese human induced pluripotent stem cell-derived Orexin-A neurons.

Thi Minh Anh Dang, Minh Hieu Do, Thi Hong Nhung Nguyen, Xuan Hung Nguyen

21 Downregulated expression of exosomal long non-coding RNA UCA1 in plasma of patients with non-small cell lung cancer.

Thi Tu Linh Nguyen, Thi Trinh Vu, Lan Phuong Le, Trung Tho Le, Hong Thai Trinh

28 Anti-hyperglycemic effect of *Commelina diffusa* extracts on diabetic mice model.

Thi Ngoc Hieu Chuong, Quang Thanh Ha, Hoang Minh Nguyen, Minh Thien Trinh, Thanh Chung Mai, Thi My Duyên Chung

33 Antipyretic activity of the anti-Dengue herbal formula on yeast-induced pyrexia mice.

Luan Hoa An Pham, Le Nhu Quỳnh Phan, Hoang Oanh Hua

38 Screening for carriers of the *SRD5A2* gene mutation 5-alpha-reductase 2 deficiency in Vietnamese pregnant women.

Thi Trang Nguyen, Doan Trang Nguyen, Hoang Dan Le, Thi Ngoc Anh Le, Quang Anh Pham, Toan Anh Ngo, Thanh Sang Nguyen, Thai Thanh Hoang, Huu Hao Ha, Duc Nhu Nguyen, Thi Huyen Trang Do, Thanh Tuan Nguyen

43 Influence of salinity and geographical locations of Mekong river estuaries on the abundance and biomass of rough river shrimp *Macrobrachium equidens* Dana, 1852 (Crustacea, Palaemonidae).

Thanh Thai Tran, Bich Xoan Vo, Thi My Yen Nguyen, Thi Hoang Yen Tran, Xuan Dong Nguyen, Thanh Luu Pham, Xuan Quang Ngo

51 Study on the preparation of green tea hand wash gel.

Van Tuan Vu, Thi Huyen Trang Vu, Thi Huong Trieu

55 Evaluation of early results of diagnosis and treatment of popliteal artery injury in knee trauma at Binh Dan Hospital.

Ngoc Hieu Nguyen, Kim Xoa Cao, Hoang Kim Kieu Duong, Quang Khanh Huynh, Khanh Duc Ho

62 Pharmacotherapy review and clinical, sub-clinical characteristics in limb-girdle muscular dystrophy.

Nam Chung Tran, Hong Hoa Dang, Son Nhat Bui, Chi Hieu Dang, Van Hung Nguyen, Van Khanh Tran

67 Evaluation of the characteristics of G_1 genotypes in Tai Nguyen seasonal rice (*Oryza sativa*) in Tra Vinh province.

Ngoc Ai Trinh, Khắc Nhu Nghi, Tân Thanh Nguyen, Cao Thang La, Tien Dung Nguyen

74 Gene expression analyses of the ovaries in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) for reproductive trait using reference genome.

Thi Hong Tham Le, Thi Hai Yen Tran, Thi Minh Thu Vo, Viet Tuan Nguyen, Minh Thanh Nguyen