

Nghiên cứu một số yếu tố liên quan đến hoạt độ enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase trong sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu hụt enzyme G6PD

Tạ Thị Lan Anh², Lê Minh Trác¹, Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2}, Đào Thị Thu Hiền¹, Lê Phạm Sỹ Cường¹, Phạm Xuân Đức¹, Nguyễn Thị Ngọc Ly¹, Trần Danh Cường^{1,2}, Đoàn Thị Kim Phương^{1,2,✉}

¹ Bệnh viện Phụ sản Trung ương

² Trường Đại học Y Hà Nội

doi: 10.46755/vjog.2022.3.1434

Tác giả liên hệ (Corresponding author): Đoàn Thị Kim Phương, email: doankimphuong@hmu.edu.vn

Nhận bài (received): 9/9/2022 - Chấp nhận đăng (accepted): 25/9/2022

Tóm tắt

Đo hoạt độ enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase trong mẫu máu thấm khô được áp dụng trong sàng lọc thiếu hụt enzyme G6PD ở trẻ sơ sinh.

Mục tiêu: Phân tích mối liên quan giữa hoạt độ enzyme G6PD trong mẫu máu thấm khô với giới tính, tuổi lấy mẫu, cân nặng khi sinh và thuốc kháng sinh sử dụng ở trẻ sơ sinh.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: Phương pháp mô tả cắt ngang hồi cứu. Thu thập số liệu về các biến số giới tính, tuổi lấy mẫu, cân nặng khi sinh, thuốc kháng sinh sử dụng và hoạt độ G6PD trong mẫu máu thấm khô trên 5886 trẻ sơ sinh. Nhóm nguy cơ thấp và nhóm nguy cơ cao được phân loại dựa trên ngưỡng hoạt độ G6PD lần lượt là ≤ 18 U/dL và > 18 U/dL.

Kết quả: Giá trị trung bình của hoạt độ enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase ở trẻ nam là $54,93 \pm 15,999$, ở trẻ nữ là $57,37 \pm 15,767$ U/dL. Nguy cơ cao thiếu hụt G6PD ở trẻ nam cao hơn đáng kể so với ở trẻ nữ. Nguy cơ cao ở nhóm có sử dụng kháng sinh cũng tăng có ý nghĩa thống kê so với trẻ không sử dụng kháng sinh với $p < 0,01$. Đối với nhóm cân nặng < 2500 g có tỷ lệ trẻ thuộc nhóm nguy cơ cao gấp khoảng 2,5 lần so với nhóm trẻ có cân nặng ≥ 2500 g. Giữa các nhóm tuổi lấy mẫu khác nhau và thời điểm lấy mẫu ở các mùa nóng và mùa lạnh không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê đến hoạt độ G6PD ở trẻ sơ sinh.

Kết luận: Hoạt độ G6PD ở mẫu giấy thấm máu gót chân của trẻ sơ sinh chịu ảnh hưởng của các yếu tố như giới tính, cân nặng lúc sinh và việc sử dụng thuốc kháng sinh nhưng không bị ảnh hưởng bởi tuổi lấy mẫu xét nghiệm và thời điểm lấy mẫu ở mùa nóng và mùa lạnh. Vì vậy, trong đánh giá nguy cơ thiếu enzyme G6PD cần chú ý phân tích đến các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt độ enzym này.

Từ khóa: thiếu enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase, G6PD, sàng lọc sơ sinh.

Study on some factors affecting Glucose-6-phosphate Dehydrogenase enzyme activity in newborn screening for G6PD deficiency

Tạ Thị Lan Anh², Hoàng Thị Ngọc Lan^{1,2}, Đào Thị Thu Hiền¹, Lê Phạm Sỹ Cường¹, Phạm Xuân Đức¹, Nguyễn Thị Ngọc Ly¹, Trần Danh Cường^{1,2}, Đoàn Thị Kim Phương^{1,2,✉}

¹ National hospital of obstetrics and gynecology

² Hanoi Medical University

Abstract

Objectives: To analyze the relationship between G6PD enzyme activity in dry blotting blood samples with gender, age, birth weight and antibiotics used in newborns.

Subjects and research methods: A retrospective cross-sectional descriptive method. Collect data on variables such as gender, age at sampling, birth weight, antibiotics used and G6PD activity in blotting blood samples on 5886 neonates. Low-risk and high-risk groups were classified based on G6PD activity thresholds of ≤ 18 U/dL and > 18 U/dL, respectively.

Results: The average value of Glucose-6-phosphate Dehydrogenase enzyme activity in boys was 54.93 ± 15.999 , in girls it was 57.37 ± 15.767 U/dL. The high risk of G6PD deficiency in boys is significantly higher than in girls. The high risk in the group that used antibiotics also increased statistically significantly compared to the infants who did not use antibiotics with $p < 0.01$. For the group weighing < 2500 g, the proportion of infants in the risk group was about 2.5 times

higher than that of the group of children weighing ≥ 2500 g. There was no statistically significant difference between the different age groups and the time of sampling in the hot and cold seasons on G6PD activity in infants.

Conclusions: G6PD activity in newborn dry blotting paper samples is influenced by factors such as gender, birth weight and antibiotic use but not by age of sample collection. and sampling time in hot and cold seasons. Therefore, in assessing the risk of G6PD enzyme deficiency, it is necessary to pay attention to analyze factors affecting this enzyme activity.

Keywords: Glucose-6-phosphate Dehydrogenase enzyme deficiency, G6PD, newborn screening.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiếu hụt Glucose-6-phosphate Dehydrogenase (G6PD) là một bệnh lý rối loạn chuyển hóa enzyme ở người, di truyền lặn liên kết với nhiễm sắc thể giới tính X. Trên thế giới, ước tính khoảng 4,9% dân số mắc bệnh thiếu hụt enzyme G6PD, tương ứng với khoảng hơn 500 triệu người [1]. Bệnh xảy ra ở mọi lục địa, mỗi năm khoảng 11 triệu trẻ sơ sinh thiếu men G6PD được sinh ra, khoảng 7% dân số thế giới bị ảnh hưởng [2, 3]. Sàng lọc sơ sinh bệnh thiếu hụt enzyme G6PD nhằm phát hiện sớm bệnh nhi có nguy cơ cao thiếu hụt enzyme G6PD là rất quan trọng để can thiệp và điều trị kịp thời, giúp phòng một số biến chứng như thiếu máu tan máu, vàng da nhân não ở trẻ sơ sinh. Theo Huỳnh Văn Quốc Vũ và Trần Ngọc Dung, tỷ lệ thiếu hụt enzyme G6PD có liên quan đến giới tính và yếu tố địa dư nhưng không liên quan đến tuổi thai, dân tộc hay cân nặng của trẻ [4]. Như vậy, hoạt độ của enzyme G6PD trong mẫu máu thấm khô chịu ảnh hưởng bởi nhiều yếu tố nên chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu: phân tích mối liên quan giữa giới tính, tuổi lấy mẫu, cân nặng khi sinh, sử dụng thuốc kháng sinh và thời điểm lấy mẫu trong năm đến hoạt độ enzyme G6PD.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Giá trị trung bình của hoạt độ enzyme Glucose-6-phosphat Dehydrogenase ở trẻ nam là $54,93 \pm 15,999$, ở trẻ nữ là $57,37 \pm 15,767$ U/dL. Hoạt độ G6PD thấp nhất trong nghiên cứu là 2 U/dL, hoạt độ cao nhất là 216 U/dL.

Bảng 1. Mối tương quan giữa giới tính và nguy cơ thiếu G6PD

Giới	Hoạt độ G6PD	Tổng	Nguy cơ cao	Tỷ lệ %	OR (CI 95%)	p
Nam		3280	72	2,2	14,301	<0,01
Nữ		2606	4	0,2	(5,232- 39,090)	

Tỷ lệ trẻ sơ sinh nam có hoạt độ enzyme G6PD thuộc nhóm nguy cơ cao có sự khác biệt đáng kể so với trẻ sơ sinh nữ với độ tin cậy 99% ($p < 0,01$). Trong đó tỷ lệ nguy cơ cao ở trẻ nam cao gấp 14,301 lần so với trẻ nữ với độ tin cậy 95%.

Bảng 2. Mối tương quan giữa cân nặng và nguy cơ thiếu G6PD

Cân nặng	Nguy cơ	Cao		Thấp		OR (CI 95%)	p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)		
< 2500 g		24	2,6	904	97,4	2,466	< 0,01
≥ 2500 g		52	1,0	4906	99,0	(1,528 - 3,979)	

Tỷ lệ trẻ có hoạt độ G6PD ở mức nguy cơ cao tại các nhóm cân nặng < 2500 g, ≥ 2500 g lần lượt là 2,6% và 1,0%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hoạt độ enzyme G6PD ở nhóm nguy cơ cao và nguy cơ thấp ở các nhóm trẻ phân nhóm cân nặng khác nhau với độ tin cậy 99% ($p < 0,01$). Ở nhóm cân nặng < 2500 g có tỷ lệ trẻ thuộc nhóm nguy cơ cao gấp khoảng 2,5 lần so với nhóm trẻ có cân nặng ≥ 2500 g với độ tin cậy 95%.

2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu:

Tiêu chuẩn lựa chọn:

+ Trẻ sơ sinh được lấy máu gót chân tham gia sàng lọc bệnh thiếu enzyme G6PD có đầy đủ dữ liệu về các yếu tố liên quan trong thời gian từ tháng 7/2020 đến tháng 8/2021. Ước tính cỡ mẫu: $n = 5586$ trẻ.

+ Được sự đồng ý tham gia nghiên cứu của cha/ mẹ trẻ.

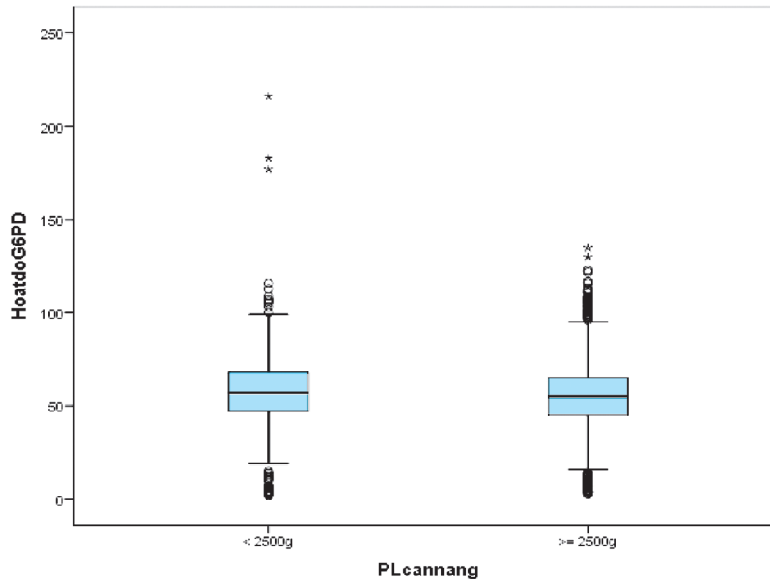
Tiêu chuẩn loại trừ: trẻ sơ sinh được truyền máu.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu mô tả cắt ngang hồi cứu với phương pháp chọn mẫu thuận tiện

2.3. Các bước tiến hành:

Tất cả các trường hợp trong mẫu được định lượng hoạt độ enzyme G6PD bằng kỹ thuật bán định lượng sử dụng bộ kit GSP Neonatal G6PD trên hệ thống máy GSP 2021-0010. Hoạt độ enzyme < 18 U/dL được phân loại nhóm nguy cơ thấp; ≥ 18 U/dL: nhóm nguy cơ cao.

Các chỉ số giới tính, tuổi lấy mẫu, cân nặng lúc sinh, sử dụng kháng sinh và thời điểm lấy máu gót chân trong năm được phân nhóm và tìm mối liên quan với ngưỡng hoạt độ cao thấp của G6PD. Sử dụng các kiểm định χ^2 hoặc Fisher exact test với các biến định tính, kiểm định Student hoặc ANOVA test với các biến định lượng



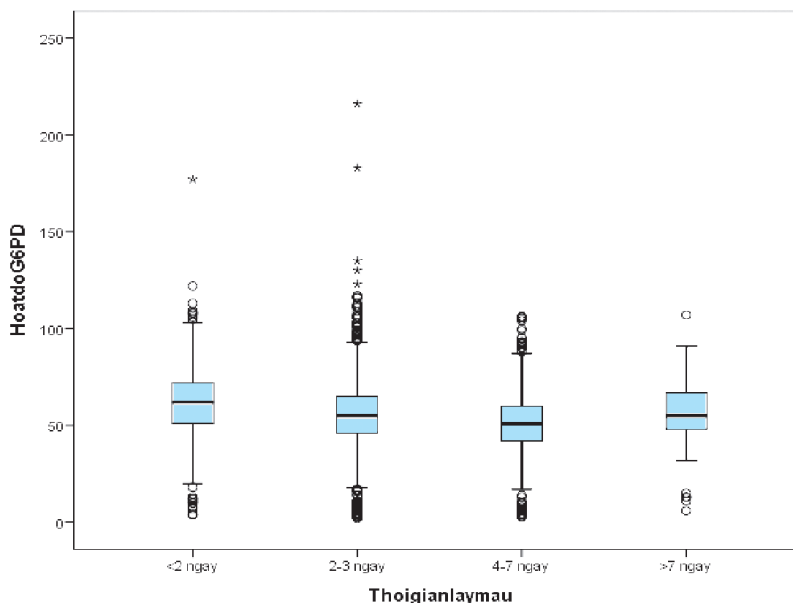
Biểu đồ 1. Phân bố hoạt độ G6PD trong các nhóm cân nặng được khảo sát

Hoạt độ G6PD trung bình ở các nhóm cân nặng < 2500 g và \geq 2500 g lần lượt là $57,23 \pm 18,756$ và $55,78 \pm 15,349$. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p < 0,05$).

Bảng 3. Mối tương quan giữa ngày tuổi lấy mẫu và nguy cơ thiếu G6PD

Ngày tuổi	Nguy cơ Cao		Nguy cơ Thấp		p
	Số lượng	Tỷ lệ	Số lượng	Tỷ lệ	
< 2 ngày	10	13,2	1141	19,6	> 0,05
2-3 ngày	41	53,9	3226	55,5	
4-7 ngày	20	26,3	1269	21,8	
>7 ngày	5	6,6	174	3,0	
Tổng số	76	100	5918	100	

Tỷ lệ trẻ có hoạt độ G6PD ở ngưỡng nguy cơ cao tại các ngày tuổi khác nhau có sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với độ tin cậy 95% ($p > 0,05$).



Biểu đồ 2. Phân bố hoạt độ G6PD trong các nhóm tuổi được khảo sát

Độ tuổi lấy mẫu trung bình là $2,85 \pm 1,913$ (ngày tuổi). Hoạt độ G6PD trung bình của các nhóm tuổi < 2 ngày, 2 - 3 ngày, 4 - 7 ngày và > 7 ngày lần lượt là 61,70 U/dL, **55,71 U/dL**, 51,58 U/dL, 56,72 U/dL. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về giá trung bình của hoạt độ G6PD giữa các nhóm tuổi được sàng lọc ($p < 0,01$).

Bảng 4. Mối tương quan giữa thuốc kháng sinh trẻ sử dụng và nguy cơ thiếu G6PD

Sử dụng kháng sinh	Nguy cơ	Cao		Thấp		OR (CI 95%)	p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)		
Có		9	2,8	313	97,2	2,308 (1,161 - 4,586)	< 0,05
Không		67	1,2	5465	98,8		

Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa hoạt độ enzyme G6PD ở các nhóm trẻ có sử dụng kháng sinh với nhóm trẻ không sử dụng kháng sinh. Cụ thể, tỷ lệ trẻ trong nhóm có sử dụng kháng sinh có hoạt độ G6PD ở mức nguy cơ cao gấp 2.308 lần nhóm trẻ không sử dụng kháng sinh ($p < 0,05$).

Bảng 5. Mối tương quan giữa thời điểm lấy mẫu và nguy cơ thiếu G6PD

Mùa	Nguy cơ	Cao		Thấp		p
		Số lượng	Tỷ lệ (%)	Số lượng	Tỷ lệ (%)	
Mùa lạnh		35	1,2	2858	98,8	p > 0,05
Mùa nóng		41	1,4	2952	98,6	

Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ trẻ có hoạt độ G6PD ở nguy cơ cao tại thời điểm mùa nóng và mùa lạnh với độ tin cậy 95% ($p > 0,05$).

4. BÀN LUẬN

Thiếu hụt enzyme G6PD là một rối loạn di truyền chưa có phương pháp điều trị đặc hiệu, tan máu và vàng da sơ sinh là hai biến chứng nguy hiểm nhất. Chương trình sàng lọc sơ sinh cho phép phát hiện sớm nguy cơ mắc bệnh, chi phí hợp lý để can thiệp điều trị kịp thời, có hiệu quả.

Những trẻ có kết quả sàng lọc sơ sinh nguy cơ cao thiếu enzym G6PD được liên hệ và làm lại xét nghiệm sàng lọc máu gót chân. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ trẻ nam/nữ là 1,26, trong đó trẻ nam có tỷ lệ sàng lọc G6PD nguy cơ cao cao hơn so với trẻ nữ. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Điều này cũng phù hợp với sự biểu hiện của bệnh. Thiếu hụt enzyme G6PD di truyền theo gen lặn trên nhiễm sắc thể giới tính X vậy nên nam giới (XY) có tần suất biểu hiện bệnh cao hơn nữ giới (XX). Thêm vào đó, xét nghiệm enzym ở trẻ nam bị bệnh có hoạt độ enzyme thấp hơn đáng kể so với trẻ nữ bị bệnh, thể hiện rõ tính chất nghiêm trọng hơn của bệnh ở nam giới [5].

Một nghiên cứu ở Ấn Độ về mối liên quan giữa tỷ lệ thiếu hụt G6PD và các yếu tố giới tính, dân tộc, tuổi thai, tuổi lấy mẫu, cân nặng khi sinh, tình trạng hôn nhân cận huyết của bố mẹ cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [6]. Tuy nhiên, một nghiên cứu tại Việt Nam ở Bệnh viện Phụ sản thành phố Cần Thơ, cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tình trạng giảm hoạt độ G6PD với giới tính và nơi cư trú ($p < 0,05$) [4].

Trẻ thuộc 2 nhóm có cân nặng < 2500 g và ≥ 2500 g có hoạt độ G6PD trung bình lần lượt là $57,23 \pm 18,756$ U/dL và $55,78 \pm 15,349$ U/dL. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ trẻ có hoạt độ enzyme G6PD ở nhóm

nguy cơ cao và nguy cơ thấp ở các phân nhóm cân nặng khác nhau với $p < 0,05$. Ngoài ra, hoạt động của G6PD ở trẻ sinh non từ 29 đến 32 tuần tuổi thai cao hơn so với trẻ sinh đủ tháng. Điều này không ảnh hưởng vào chẩn đoán thiếu men G6PD [7]. Theo hướng dẫn sàng lọc sơ sinh của Bệnh viện Nhi miền Đông Ontario, tất cả trẻ sơ sinh sinh non dưới 33 tuần, cân nặng khi sinh dưới 1500 g được khuyến cáo được thực hiện lại sàng lọc máu gót chân khi trẻ đạt 28 ngày tuổi. Những trẻ sinh non ≥ 33 tuần, cân nặng khi sinh ≥ 1500 g được sàng lọc như trẻ đủ tháng [8].

Dữ liệu nghiên cứu cũng cho thấy trong nhóm trẻ sơ sinh sử dụng thuốc kháng sinh, tỷ lệ nguy cơ cao mắc G6PD cao hơn đáng kể so với nhóm trẻ không sử dụng kháng sinh ($p < 0,05$). Theo Yang và cộng sự nghiên cứu trên 410 trẻ 7 - 90 ngày tuổi, hoạt độ G6PD tỷ lệ nghịch so với tuổi [9]. Điều này cũng tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi, ở các trẻ được lấy mẫu < 48 h có hoạt độ G6PD (61,70 U/dL) cao hơn hẳn so với các trẻ được lấy mẫu > 48h (lần lượt là 55,71 U/dL, 51,58 U/dL, 56,72 U/dL). Tuy nhiên, yếu tố tuổi lấy mẫu cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa các nhóm tuổi lấy mẫu khác nhau. Vậy nên, việc lấy mẫu sàng lọc G6PD ở các nhóm ngày tuổi khác nhau có giá trị sàng lọc là như nhau.

Do sự thiếu hụt G6PD rất phổ biến ở các vùng nhiệt đới và cận nhiệt đới, nơi có nhiệt độ và độ ẩm tương đối cao, nên việc kiểm soát chất lượng đối với việc thu thập, vận chuyển và lưu trữ mẫu là cần thiết để duy trì độ chính xác của quá trình sàng lọc. Việc bảo quản mẫu trong môi trường có nhiệt độ và độ ẩm cao có thể làm tăng nguy cơ dương tính giả. Hoạt độ G6PD có thể giảm 20%

sau 3 ngày được bảo quản ở nhiệt độ phòng và độ ẩm thấp (< 30%) nhưng có thể giảm đến 60% nếu bảo quản ở 35 độ C với độ ẩm cao [10]. Tuy nhiên, các mẫu được bảo quản ở 4°C trong 1 tháng hoặc ở -20°C trong 1 năm vẫn giữ được hơn 90% hoạt tính của enzyme [11]. Nhiệt độ trung bình của các tháng mùa đông và các tháng mùa hè ở Hà Nội có sự chênh lệch khoảng 14 - 20°C. Ảnh hưởng của nhiệt độ lên hoạt độ enzyme G6PD tác động rõ nhất vào khâu vận chuyển và bảo quản mẫu. Ở nghiên cứu của chúng tôi, thời điểm lấy mẫu cũng cho thấy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê giữa tỷ lệ trẻ có hoạt độ G6PD ở ngưỡng nguy cơ cao giữa mùa nóng và mùa lạnh. Các mẫu máu thấm khô trong nghiên cứu đều được lấy mẫu và thực hiện tại Bệnh viện Phụ sản Trung ương nên việc vận chuyển vào bảo quản sẽ thuận tiện hơn mẫu gửi từ các tỉnh khác.

5. KẾT LUẬN

Hoạt độ G6PD ở mẫu giấy thấm máu khô của trẻ sơ sinh chịu ảnh hưởng của các yếu tố như cân nặng lúc sinh, việc sử dụng thuốc kháng sinh ở trẻ, nhưng không bị ảnh hưởng bởi tuổi lấy mẫu xét nghiệm và thời điểm lấy mẫu là mùa nóng hay mùa lạnh. Tỷ lệ trẻ sơ sinh nam có kết quả sàng lọc thuộc nguy cơ cao thiếu hụt enzyme G6PD nhiều hơn trẻ sơ sinh nữ. Vì vậy, trong đánh giá nguy cơ thiếu enzyme G6PD cần chú ý phân tích đến các yếu tố ảnh hưởng đến hoạt độ enzym này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Luzzatto L, Nannelli C, Notaro R. Glucose-6-Phosphate Dehydrogenase Deficiency. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2016 Apr 1;30(2):373–93.
2. Nkhoma ET, Poole C, Vannappagari V, Hall SA, Beutler E. The global prevalence of glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency: a systematic review and meta-analysis. *Blood Cells Mol Dis.* 2009 Jun;42(3):267–78.
3. Bhutani VK, Zipursky A, Blencowe H, Khanna R, Sgro M, Ebbesen F, et al. Neonatal hyperbilirubinemia and Rhesus disease of the newborn: incidence and impairment estimates for 2010 at regional and global levels. *Pediatr Res.* 2013 Dec;74(1):86–100.
4. Văn Quốc Vũ H, Ngọc Dung T. Tỷ lệ thiếu men G6PD và một số yếu tố liên quan ở trẻ sơ sinh tại Bệnh viện Phụ Sản thành phố Cần Thơ năm 2021 - 2022. *Tạp Chí Y học Việt Nam [Internet].* 2022 Jul 17;516(1). Available from: <https://tapchihocvietnam.vn/index.php/vmj/article/view/2938>
5. AlSaif S, Ponferrada MaB, AlKhairy K, AlTawil K, Sallam A, Ahmed I, et al. Screening for glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency in neonates: a comparison between cord and peripheral blood samples. *BMC Pediatr.* 2017 Jul 11;17(1):159.
6. Biso S, Chakraborty S, Chattopadhyay D, Biswas B, Ray S. Glucose-6-phosphate dehydrogenase screening

- of babies born in a tertiary care hospital in West Bengal. *Indian J Public Health.* 2012 Jan 4;56(2):146.
7. Mesner O, Hammerman C, Goldschmidt D, Rudensky B, Bader D, Kaplan M. Glucose-6-phosphate dehydrogenase activity in male premature and term neonates. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2004 Nov;89(6):F555–7.
8. Newborn screening ontario. *Newborn screening manual: a guide for newborn care providers.* 2018.
9. Yang WC, Tai S, Hsu CL, Fu CM, Chou AK, Shao PL, et al. Reference levels for glucose-6-phosphate dehydrogenase enzyme activity in infants 7–90 days old in Taiwan. *J Formos Med Assoc.* 2020 Jan 1;119(1, Part 1):69–74.
10. Freer DE. Observations on Heat/Humidity Denaturation of Enzymes in Filter-Paper Blood Spots from Newborns. *Clin Chem.* 2005 Jun 1;51(6):1060–2.
11. Wang X, Xia Z, He Y, Zhou X, Zhang H, Gao C, et al. Newborn Screening for G6PD Deficiency in Xiamen, China: Prevalence, Variant Spectrum, and Genotype-Phenotype Correlations. *Front Genet [Internet].* 2021;12. Available from: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fgene.2021.718503>.