

BƯỚC ĐẦU ĐÁNH GIÁ HÀM LƯỢNG Alpha-fetoprotein (AFP) TRONG HUYẾT THANH NGƯỜI MANG HBsAg(-), HBsAg(+) VÀ BỆNH NHÂN UNG THƯ GAN

Nguyễn Hạnh Phúc, Trần thị Nguyệt Lan

Viện Vệ sinh dịch tễ trung ương, Hà nội.

TÓM TẮT

Bộ sinh phẩm AFP- nano[®], dựa trên nguyên lý của kỹ thuật ELISA, được sử dụng cho định lượng AFP huyết thanh 165 người bình thường HBsAg(-) và 418 người mang HBsAg(+). Hàm lượng AFP trung bình ở người HBsAg(-) là $0,13 \pm 0,12$ ng/ml ($P < 0,001$) và ở người mang HBsAg(+) là $1,10 \pm 0,27$ ng/ml ($P < 0,05$). Xét nghiệm huyết thanh học trên 32 bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng ung thư gan đã phát hiện sự tăng bất thường về nồng độ AFP. Tỷ lệ bệnh nhân có hàm lượng AFP trên ngưỡng 20ng/ml chiếm 93,75% (30/32 mẫu), trong đó AFP >100 ng/ml chiếm 78% (25/32 mẫu).

Từ khoá: alpha-fetoprotein, kháng nguyên virus viêm gan, xơ gan, ung thư gan.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Alfa-fetoprotein là một glycoprotein có trong huyết thanh của người bình thường với nồng độ khoảng 0-5ng/ml. Trong trường hợp người mang bệnh lý đặc biệt là trường hợp ung thư gan tiên phát và thứ phát nồng độ alpha-fetoprotein tăng cao có thể đạt đến 100.000ng/ml[1]. Vì vậy alpha-fetoprotein (AFP) còn được coi là một trong những chỉ thị ung thư. Phát hiện huyết thanh mang nồng độ AFP >20ng/ml cho biết bệnh nhân có mang tế bào ung thư, khối u càng lớn, nồng độ AFP càng cao [2]. Để điều trị đạt hiệu quả, điều cần thiết là phát hiện bệnh sớm. Viêm gan virus B là một bệnh phổ biến và nguy hiểm là nguy cơ cao dẫn đến xơ gan và ung thư gan nguyên phát. Các trường hợp viêm gan và xơ gan cũng làm tăng AFP.

Đối với bệnh nhân không mang kháng nguyên bề mặt virus viêm gan B (HBsAg -), khi nồng độ AFP > 25ng/ml mức độ chẩn đoán đặc hiệu với ung thư tế bào gan đạt đến 100%. Đối với bệnh nhân có HBsAg (+), tính đặc hiệu với ung thư gan đạt 79,8% khi nồng độ AFP < 200ng/ml và lên đến 91,5% nếu nồng độ AFP cao hơn 200ng/ml [2,3]. Sự xuất hiện nồng độ AFP bất thường cũng được phát hiện trong các trường hợp ung thư vú, buồng trứng, tinh hoàn và nhiễm độc thai nhi ở phụ nữ mang thai [4].

Về góc nhìn dự phòng, việc phát hiện tính bất thường về nồng độ AFP có thể tạo thế chủ động và giảm bớt phí tổn trong thực hành y học và cho bệnh nhân. Bài báo này trình bày kết quả bước đầu thăm dò khả năng chẩn đoán và phát hiện sớm một số

bệnh ung thư, đặc biệt là ung thư tế bào biểu mô gan tiên phát dựa trên sự biến đổi về hàm lượng AFP.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Đối tượng và vật liệu

Huyết thanh người không mang kháng nguyên virus viêm gan B-HBsAg(-), huyết thanh người mang HBsAg(+) và huyết thanh bệnh nhân thu thập tại Trung tâm xét nghiệm Viện VSDTTU, Viện Huyết học và truyền máu, Khoa Miễn dịch Bệnh viện Quân đội 108.

Bộ sinh phẩm định lượng AFP- nano® do Viện Pasteur tp. HCM cung cấp.

2.2. Phương pháp

Các mẫu huyết thanh thu thập cho định lượng AFP được phân tích theo 5 nhóm dựa trên nguồn mẫu huyết thanh: 1- nhóm huyết thanh người khỏe mạnh, tham gia hiến máu nhân đạo, lứa tuổi 19-25, đã xét nghiệm HBsAg(-); 2- nhóm huyết thanh người khỏe mạnh, lứa tuổi 19-25, được xét nghiệm sàng lọc HBsAg(+); 3- nhóm huyết thanh người bình thường kiểm tra sức khỏe được xét nghiệm HBsAg(-); 4- nhóm huyết thanh bệnh nhân được xét nghiệm mang HBsAg(+); 5- nhóm mẫu bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng ung thư gan.

Thực hiện định lượng nồng độ AFP theo qui trình của bộ sinh phẩm AFP- nano®, dựa trên nguyên lý của kỹ thuật ELISA. Hàm lượng AFP được xác định dựa trên đồ thị nồng độ AFP chuẩn xây dựng theo phương pháp hồi quy.

Các số liệu được tính toán dựa trên phương pháp thống kê sinh học.

III. KẾT QUẢ

3.1. Định lượng AFP huyết thanh người khỏe mạnh HBsAg (-)

Kết quả định lượng AFP trên 100 mẫu huyết thanh người bình thường không mang kháng nguyên virus viêm gan B ở lứa tuổi 18-25 bằng bộ sinh phẩm AFP-nano cho thấy hàm lượng AFP có giá trị trung bình $0,13 \pm 0,12$ ng/ml ($P < 0,001$). Đây là các mẫu huyết thanh từ nhóm thanh niên hoàn toàn khỏe mạnh, tham gia hiến máu nhân đạo đã được Viện huyết học và truyền máu xác định HBsAg âm tính.

Định lượng AFP trên 65 mẫu huyết thanh người bình thường có độ tuổi 16-60 cho kết quả xác định hàm lượng AFP có giá trị trung bình là 12 ng/ml. Tất cả các mẫu huyết thanh trên được thu thập ngẫu nhiên từ nhóm người khỏe mạnh đến kiểm tra sức khỏe tại Trung tâm Y-sinh DH Y Hà nội và đều được xét nghiệm HBsAg (-). Do độ tuổi tương đối rộng nên các giá trị thu được không có ý nghĩa thống kê rõ ràng như với nhóm thanh niên độ tuổi 18-25 ở trên. Sự chênh lệch về hàm lượng AFP trong các mẫu xét nghiệm dẫn đến sự tăng nhẹ giá trị AFP trung bình.

Trong số người bình thường có độ tuổi ngoài 50 đến kiểm tra sức khỏe đã phát hiện 9 trường hợp (13%) có nồng độ AFP > 20 ng/ml và 2 trường hợp AFP > 300 ng/ml. Nồng độ AFP cao bất thường trong nhóm người có độ tuổi ngoài 50 cho thấy sự biểu hiện của bệnh lý. Điều này cho thấy có mối liên quan giữa độ tuổi với khả năng mắc bệnh. Kết quả thu nhận cho phép nhận định về khả năng phát hiện sớm và tiên lượng một số bệnh, đặc biệt là ung thư biểu mô tế bào gan ở người chưa có triệu chứng lâm sàng dựa trên sự tăng cao về hàm lượng AFP huyết thanh.

3.2. Định lượng AFP huyết thanh người khỏe mạnh mang HBsAg (+)

Tiến hành định lượng AFP tổng số 418 mẫu huyết thanh người bình thường mang HBsAg (+) ở các lứa tuổi khác nhau (19-78 tuổi). Kết quả thu nhận

394/418 mẫu có hàm lượng AFP trung bình là $1,10 \pm 0,27$ ng/ml ($P < 0,05$). So sánh hàm lượng trung bình của nhóm huyết thanh mẫu mang HBsAg (+) với nhóm người bình thường khỏe mạnh HBsAg(-) cho thấy sự chênh lệch có ý nghĩa thống kê (với $P < 0,001$). Tuy nhiên giá trị này vẫn nằm trong giới hạn của hàm lượng AFP ở người bình thường.

24/418 mẫu có hàm lượng AFP > 200 ng/ml. Với tỷ lệ 5,7% trường hợp người bình thường mang HBsAg(+) có hàm lượng AFP cao bất thường một lần nữa cho phép khả năng phát hiện sớm các bệnh lý dựa trên xét nghiệm định lượng AFP huyết thanh.

3.3. Định lượng AFP huyết thanh bệnh nhân ung thư gan

Sinh phẩm AFP- nano[®] cũng được sử dụng trong định lượng AFP các mẫu huyết thanh thu thập từ bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng mắc bệnh ung thư gan tại Bệnh viện quân đội 108. Kết quả phân tích cho thấy sự khác biệt rõ rệt về hàm lượng AFP trong các mẫu xét nghiệm. Trong tổng số 32 mẫu huyết thanh bệnh nhân phát hiện:

Bệnh nhân ung thư gan: 9/10 mẫu huyết thanh có hàm lượng AFP tăng cao trên 20 ng/ml. Trong đó 1 trường hợp có hàm lượng AFP cao bất thường 19.500 ng/ml; 6/10 mẫu đạt giá trị từ 100-1000 ng/ml; chỉ có 1/10 mẫu huyết thanh xét nghiệm cho hàm lượng AFP dưới 20 ng/ml.

Bệnh nhân u gan: 21/22 mẫu xét nghiệm phát hiện hàm lượng AFP tăng trên giới hạn 20 ng/ml. Trong đó 1/22 mẫu có hàm lượng 12.247 ng/ml; 17/22 mẫu có AFP tăng cao từ trên 100 -1000 ng/ml; chỉ có 1/22 mẫu cho hàm lượng nhỏ hơn 20 ng/ml.

Kết quả thu nhận cho thấy rõ sự tăng đáng kể về hàm lượng AFP trong các mẫu huyết thanh bệnh nhân ung thư gan so với người bình thường. Trong tổng số 32 mẫu được chẩn đoán là ung thư gan và ung thư biểu mô tế bào gan tỷ lệ huyết thanh có hàm lượng AFP > 20 ng/ml chiếm 93,75 % (30/32 mẫu), trong đó huyết thanh có hàm lượng AFP > 100 ng/ml chiếm 78% (25/32 mẫu).

IV. BÀN LUẬN

Kết quả bước đầu thu được trong nghiên cứu đánh giá hàm lượng AFP huyết thanh ở những nhóm đối tượng khác nhau, tập trung ở nhóm người khỏe mạnh được xét nghiệm chẩn đoán HBsAg (+), HBsAg (-) và nhóm bệnh nhân được chẩn đoán lâm sàng ung thư gan cho thấy sự tăng bất thường hàm lượng AFP là một trong những chỉ định có giá trị cho chẩn đoán bệnh gan.

Kết quả định lượng AFP trên 165 mẫu huyết thanh người bình thường không mang kháng nguyên virus viêm gan B ở lứa tuổi từ 16 - 25 bằng bộ sinh phẩm AFP-nano cho thấy hàm lượng AFP có giá trị trung bình < 20 ng/ml. Kết quả này phù hợp với nhiều công bố trước đây, trong huyết thanh bình thường, nồng độ AFP rất thấp, từ 0 đến 20 ng/ml. Theo tác giả Olof E.S. và Paul H.L., AFP < 16 ng/ml được coi là bình thường [5]. Nguyễn Thanh Dạm và cs. cho thấy hàm lượng AFP ở người bình thường HBsAg (-) khi định lượng bằng kỹ thuật RIA là

2,7±1,79µg/ml [6]. Kết quả này cũng phù hợp với tác giả Vũ văn Khiên, ở những người bình thường AFP có giá trị trung bình là 2,7±2,3 ng/ml.

Một trong những nguyên nhân dẫn đến ung thư gan được biết là do virus viêm gan B gây nên. Để dự báo sớm biểu hiện bệnh ung thư gan chúng tôi đã tiến hành thử nghiệm định lượng AFP trên tổng số 418 mẫu huyết thanh người bình thường mang HBsAg (+) ở các lứa tuổi khác nhau (19-78 tuổi). Kết quả cho tỷ lệ 5,7% trường hợp người có hàm lượng AFP cao bất thường.

Trong chẩn đoán bệnh, AFP được coi như một dấu ấn ung thư (tumor marker) do nồng độ AFP tăng mạnh trong một số trường hợp bệnh lý, đặc biệt là trong ung thư gan tiên phát. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh, AFP huyết thanh trên 20 ng/ml cho dấu hiệu bệnh nhân có mang tế bào ung thư. Hàm lượng AFP có liên quan đến kích thước của khối u. Khối u càng lớn, giá trị định lượng AFP càng cao. Đối với bệnh nhân âm tính về kháng nguyên bề mặt vi rút viêm gan B, độ đặc hiệu với ung thư tế bào gan lên đến 100% khi AFP >25ng/ml. Đối với bệnh nhân HBsAg(+), tính đặc hiệu đạt giá trị 79,8%, khi AFP <200ng/ml và tính đặc hiệu tăng lên đến 91,5 % nếu hàm lượng AFP thuộc trong vùng 200-400ng/ml [2,4]. Kết quả thu nhận của chúng tôi cũng cho thấy hàm lượng AFP tăng cao trong các mẫu huyết thanh bệnh nhân ung thư gan so với người bình thường (từ trên 100-19.500 ng/ml). Trong tổng số 10 mẫu được chẩn đoán là ung thư gan và 22 mẫu UTBMTB gan, tỷ lệ huyết thanh có hàm lượng AFP >20ng/ml chiếm 93,75 % (30/32 mẫu), huyết thanh có AFP <20ng/ml chỉ chiếm 6,6%.

Điều này cũng trùng hợp với một số công bố cho rằng tỉ lệ các trường hợp ung thư gan có nồng độ AFP <20ng/ml giao động từ 15,6 - 21%.

Những kết quả thu nhận của chúng tôi, mặc dù mới là bước đầu nhưng cho phép khả năng dự báo sớm các biểu hiện bệnh lý, đặc biệt là trong tiên lượng bệnh ung thư biểu mô tế bào gan tiên phát dựa trên xét nghiệm định lượng AFP huyết thanh.

V. KẾT LUẬN

Bộ sinh phẩm AFP- nano[®], dựa trên nguyên lý của kỹ thuật ELISA, được sử dụng cho định lượng AFP huyết thanh ở người bình thường HBsAg (-) và HBsAg (+).

Hàm lượng AFP trung bình ở người bình thường HBsAg (-) là 0,13±0,12 ng/ml (P<0.001), ở người mang HBsAg (+) là 1,10 ± 0,27 ng/ml (P<0,05).

Hàm lượng AFP tăng bất thường trong các mẫu huyết thanh bệnh nhân ung thư gan. Tỷ lệ huyết thanh có hàm lượng AFP <20ng/ml chiếm 6,6%; AFP >20ng/ml chiếm 93,75 % (30/32 mẫu), trong đó AFP >100 ng/ml chiếm 78% (25/32 mẫu)

Lời cảm ơn

Các tác giả xin chân thành cảm ơn Viện Pasteur tp. HCM đã cung cấp sinh phẩm AFP- nano[®], TS. Lê văn Don và các đồng nghiệp Khoa Miễn dịch Bệnh viện quân đội 108 đã cung cấp mẫu huyết thanh bệnh nhân cho nghiên cứu.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Weitzel H. K., Schneider J. Alpha - fetoprotein in clinical medicine in international workshop Hannover. *Georg Thieme Publishers Stuttgart*, 1977, 106-116.

2. Lee H.S., Chung H.Y., Kim C.T. Specificities of serum alpha-fetoprotein in HbsAg(+) and HbsAg(-) patients in the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1991, 14(1): 68-72.
3. Tang Z. Y., Yang B. I. Early detection of subclinical hepatocellular carcinoma. In *Subclinical hepatocellular carcinoma. Berlin, Springer Verlag*, 1985, 12-21.
4. Sato Y., Nakata K., Kato Y., et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profile of Alpha-fetoprotein. *New England Journal of Medicine* 1993, 382, 1802-1806.
5. Olof E. S. and Paul H. L. Tumor markers for monitoring of patients with testicular and prostate cancer. *Manual of Clinical Laboratory Immunology. N. R. Rose, A. S. M. Washington D. C, 4th*: 1992, 801-804.
6. Nguyễn Thanh Dạm, Dương thị Cương, Hà văn Mạo. Định lượng Alpha-fetoprotein ở bệnh nhân ung thư gan bằng phương pháp miễn dịch phóng xạ (RIA). *Y học Việt nam*, 1991, 158, 13-16.

AFP SEROSURVEY IN HUMAN SERUM HBsAg(-), HBsAg(+) AND PATIENTS WITH LIVER CANCER

Nguyen Hanh Phuc, Tran thi Nguyet Lan

National Institute of Hygiene and Epydemiology, Hanoi.

The AFP-nano kit was used for measurement of serum AFP levels of 165 normal individuals with HBsAg (-) and 418 individuals carrying hepatitis B surface antigen HBsAg (+). The results showed the mean concentrations of AFP were 0.13 ± 0.12 ng/ml ($P < 0.001$) in serum with HBsAg (-) and 1.10 ± 0.27 ng/ml ($P < 0.05$) in serum with HBsAg (+). The AFP serosurvey in 32 patients with liver cancer showed the abnormal elevation in serum alpha-fetoprotein levels. The proportion of AFP concentration > 20 ng/ml was 93.73% (30/32 samples) and the proportion of AFP > 100 ng/ml was 78% (25/32 samples). Therefore, AFP can be used as a maker for screening or early diagnosis of hepatocellular carcinoma (HCC).