

của Roignol khi khảo sát 11.144 trường hợp với tỷ lệ nữ/ nam là 2/1 [5]. Sự khác biệt giữa tỷ lệ nữ và nam bị thoái hóa khớp có thể do sự thay đổi hormon ở những phụ nữ lớn tuổi làm cho họ dễ mắc thoái hóa khớp gối hơn.

Dấu hiệu mọc gai xương là dấu hiệu hay gặp nhất với 37,2% ở những bệnh nhân bị thoái khớp, và chủ yếu là gai xương ở mâm chày với 23,6% và gai xương bánh chè 37,9%, hình ảnh gai xương ở đầu dưới xương đùi và đầu trên xương chày ít gặp hơn. Tỷ lệ này cũng tương tự nghiên cứu của Y Nagasosa cho thấy tỷ lệ gai xương bánh chày là cao nhất với 54,7% rồi đến mâm chày với 49,5% [6]. Có thể giải thích là do lõi cầu xương đùi không phẳng như mâm chày, gai xương đùi bị chống lấn bởi cấu trúc xương phía trước và phía sau trên phim X quang thường qui khó phát hiện. Và sự mất cân bằng cơ học tại khớp là một yếu tố thúc đẩy sự hình ảnh gai xương. Có thể sự hình ảnh các gai xương là nhằm bù trừ và bảo vệ sụn khớp khi phân bố lại các lực tác động lên khớp.

Dấu hiệu hẹp khe khớp là dấu hiệu hay gặp thứ hai trên phim X quang là dấu hiệu hay gặp nhất với tỷ lệ 37,2%, trong đó hẹp khe khớp đùi - chày là 56,4%, khớp đùi - chèn là 43,6%. Điều này có thể giải thích do tình trạng trực khớp gối bị thay đổi (vào trong hoặc ra ngoài) ở những người chân vòng kiềng (chân chữ O) hoặc chân chữ X làm tăng lực đè lên sụn khớp khoang đùi chày khiến cho tỷ lệ thoái hóa khớp đùi - chày tăng cao.

Dấu hiệu xơ xương dưới sụn cũng là một trong dấu hiệu hay gặp ở những bệnh nhân thoái hóa khớp gối trong nghiên cứu chúng tôi với tỷ lệ 30,4%, dấu hiệu này cũng là dấu hiệu hay gặp trong các nghiên cứu của các khác về thoái hóa khớp. Nguyên nhân do xơ xương dưới

sụn đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh và sự tiến triển của thoái hóa khớp gối [1].

V. KẾT LUẬN

Bệnh thoái hóa khớp gối có tỉ lệ mắc tăng theo độ tuổi, nữ gặp nhiều hơn nam, tỉ lệ mắc trên cả 2 gối cao hơn một gối.

Có 3 dấu hiệu X quang thường gặp thì dấu hiệu mọc gai xương có tỉ lệ cao nhất, thấp nhất là dấu hiệu xơ xương dưới sụn. Bệnh thường kèm theo 2 hoặc cả 3 dấu hiệu chứ ít khi xuất hiện chỉ 1 dấu hiệu.

Xương bánh chè là vị trí có tỉ lệ mọc ga xương cao nhất, khớp đùi - chày có dấu hiệu hẹp cao hơn khớp bánh chè - đùi.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đoàn Văn Đệ (2004), Cơ chế bệnh sinh thoái hóa khớp, Báo cáo khoa học chuyên đề: "Thoái hóa khớp và cột sống", Hội Thiểu khớp học Việt Nam, Hà Nội, Tr 7-12.
- Đinh Thị Diệu Hằng (2013), Nghiên cứu thực trạng bệnh thoái hóa khớp gối và hiệu quả nâng cao năng lực chẩn đoán, xử trí của cán bộ Y tế xã tại Hải Dương, Luận văn tiến sĩ Y Học, Trường đại học Y Hà Nội.
- K M Jordan, et al (2003), EULAR recommendations 2003: an evidence based approach to the management of knee osteoarthritis: Report of a task force of the standing committee for international clinical studies including therapeutic trial (ESCISIT), Ann Rheum Dis: 62: 1145-1155.
- I Haq, E Murphy, J Dacre (2003), Osteoarthritis. Postgrad Med J 2003; 79: 377-383.
- M Roignol, et al (2005), Primary osteoarthritis of hip, knee and hand in relation to occupational exposure. Occup Environ Med: 62: 772-777.
- Y Nagasosa, P Lanyon, M Doherty (2002), Characterization of size and direction of osteophytes in knee osteoarthritis: a radiographic study. Ann Rheum Dis: 61: 319-324.

PHÂN TÍCH TỔNG THỂ SẮC ĐỒ VÀ PHÂN LOẠI KIM NGÂN BẰNG SẮC KÝ LÔNG HIỆU NĂNG CAO

Ngô Thế Cường¹, Ngô Sĩ Thịnh¹, Chử Văn Mến², Đặng Văn Điệp

TÓM TẮT

¹Bệnh viện Quân y 354- Tổng cục Hậu cần

²Học Viện Quân Y

Chịu trách nhiệm chính: Chử Văn Mến

Email: chuvanmen@gmail.com

Ngày nhận bài: 7.12.2016

Ngày phản biện khoa học: 17.01.2017

Ngày duyệt bài: 23.01.2017

Kim ngân là một dược liệu cổ truyền quan trọng Tác dụng điều trị của dược liệu này phụ thuộc nhiều vào nguồn gốc phân bố. Trong nghiên cứu trước của chúng tôi, phương pháp phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao được phát triển định lượng đồng thời 4 hoạt chất sinh học là coniferin, loganic acid, sweroside, loganin. Trong nghiên cứu này, phương pháp phân tích được áp dụng định lượng 4 hoạt chất sinh học trong 92 mẫu từ Hàn Quốc và Trung Quốc cũng như phân tích tổng thể sắc đồ nhằm phân biệt dược liệu

các nguồn khác nhau. Hàm lượng của coniferin, loganic acid, sweroside và loganin được xác định là 0,03-1,21mg/g, 0,03-20,43 mg/g, 0,02-10,09 mg/g, và 0,02-10,26mg/g trong dược liệu khô. Phân tích tổng thể sắc độ được tiến hành dựa vào LDA cho thấy Kim ngân từ các vùng khác nhau có thể được phân biệt chính xác tới 80%.

Từ khóa: Kim ngân, HPLC, LDA, phân tích sắc độ.

SUMMARY

CHROMATOGRAPHIC FINGERPRINT AND DISCRIMINANT ANALYSIS FOR THE QUALITY EVALUATION OF *LONICERA FOLIUM ET CAULIS* BY HPLC

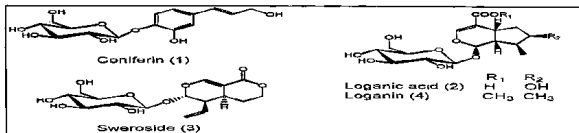
Lonicerae folium et caulis is an important traditional herbal drug. The therapeutic effectiveness of this herb depends strongly on the geographical origin. In our previous report, the HPLC analytical method has been developed for the simultaneous determination of four bioactive compounds: coniferin, loganic acid, sweroside and loganin. In this study, the analytical method was applied to quantitate four bioactive compounds in 92 samples collected from Korea and China together with pattern recognition analysis to differentiate the herbs from different regions. Contents of coniferin, loganic acid, sweroside and loganin were calculated to be 0.03-1.21 mg/g, 0.03-20.43 mg/g, 0.02-10.09 mg/g, and 0.02-10.26 mg/g in dried plant. The pattern recognition analysis was carried out using LDA (Linear Discriminant Analysis) showed *Lonicerae folium et caulis* from different origins can be differentiated with the accuracy of 80%.

Keywords: *Lonicerae folium et caulis*, HPLC, LDA, pattern analysis.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Kim ngân, còn gọi là Nhãn đông có tên khoa học là *Lonicera japonica* thuộc họ Cỏm cháy

(Caprifoliaceae) được mọc chủ yếu ở các nước Đông Á như Việt Nam, Trung Quốc, Hàn Quốc và Nhật Bản..., được sử dụng nhiều trong các bài thuốc chống viêm, chống dị ứng, chống dị ứng...[4,5]. Tuy nhiên, thành phần hóa học của kim ngân biến động nhiều do ảnh hưởng của khí hậu, thổ nhưỡng và thời gian thu hái đến hàm lượng các hoạt chất và tác dụng sinh học của Kim ngân. Ở Việt Nam, kim ngân chủ yếu được nhập khẩu từ các nước Đông Á như Trung Quốc, một số ít từ Hàn Quốc và Nhật Bản. Vì vậy, đánh giá chất lượng toàn diện nguyên liệu kim ngân được thu mua ở các nơi khác nhau là cần thiết và cấp bách góp phần đảm bảo chất lượng thuốc. Trong nghiên cứu trước, phương pháp định lượng đồng thời 4 hoạt chất sinh học: coniferin, loganic acid, sweroside và loganin (Hình 1) trong dược liệu Kim ngân đã được tiến hành trên 60 mẫu thu mua tại các tỉnh khác nhau của Trung Quốc và Hàn Quốc có tính chọn lọc và chính xác cao [2,3]. Trong nghiên cứu này, phương pháp định lượng đồng thời các hoạt chất sinh học trong dược liệu Kim ngân được áp dụng cho số lượng mẫu lớn các mẫu cùng với phân tích tổng thể sắc độ và phân tích phân loại các nguồn dược liệu Kim ngân để đánh giá chất lượng tổng thể của dược liệu này.



Hình 1: Cấu trúc của chất đánh dấu trong phân tích định lượng Kim ngân

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Nguyên liệu nghiên cứu

Hoá chất: nội chuẩn: methyl paraben; chuẩn coniferin, loganic acid, sweroside và loganin được chiết xuất, phân tách, tinh chế và xác định cấu trúc; methanol, nước cất, acid formic đạt tiêu chuẩn cho sắc ký lỏng. Mẫu kim ngân được thu mua ở các nơi khác nhau tại Trung Quốc, Hàn Quốc, mẫu được lưu tại Đại học Dược, ĐH Quốc gia Chungnam, Hàn Quốc. Thiết bị: Máy

sắc ký lỏng hiệu năng cao Shimadzu, Detector UV-VIS và Detector diode array được nối với máy tính IBM.

2. Phương pháp nghiên cứu

Cột: Cột phân tích pha đảo Optimapak RP₁₈ (250 x 4,6 mm; 5 µm) của công ty RS tech, Hàn Quốc; bước sóng phát hiện 254 nm; pha động: dung môi A: dung dịch methanol 10 % trong dung dịch acid formic 0.1 %; dung môi B: dung dịch methanol 90% trong dung dịch acid formic 0.1%; tốc độ dòng: 1,0 ml/phút; thể tích tiêm 10µl.

Với chương trình rửa giải như sau:

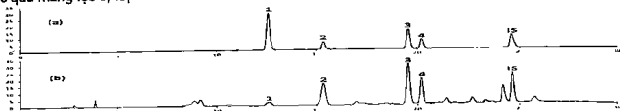
Thời gian (phút)	% A	% B
0 → 15	100 → 70	0 → 30
15 → 25	70 → 30	30 → 70
25 → 30	30	70
30 → 35	30 → 0	70 → 100
35 → 45	0 → 0	100 → 100
45 → 50	0 → 100	100 → 0

Chuẩn bị các dung dịch chuẩn và thử:

Vệ chuẩn (IS): Dung dịch methyl paraben: 1000 µg/ml trong methanol. Mẫu chuẩn: Dãy các dung dịch chuẩn coniferin, loganic acid, sweroside và oganin có nồng độ chính xác 0,5; 1, 5, 10; 25,0; 50,0; 100,0; và 200,0 µg/mL trong dung dịch chuẩn nội methyl paraben 200 (µg/mL) trong methanol. Mẫu thử: Cân chính xác khoảng 1 g bột dược liệu kim ngân. Thêm chính xác 9 ml ethanol 70% và 1 ml dung dịch chuẩn nội, cân, lắc siêu âm 30 phút, cân lại, bổ sung khối lượng mất bằng ethanol 70%, ly tâm, gạn lấy lớp trên, lọc qua màng lọc 0,45µm.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Với điều kiện sắc ký và phương pháp xử lý mẫu đã lựa chọn, sắc ký đồ thu được cho các pic tách rõ ràng, nhiều nền thấp, thể hiện qua sắc ký đồ của mẫu thử được liệu kim ngân (Hình 1b). Trên các sắc ký đồ mẫu thử có các pic ở thời gian lưu trùng với thời gian lưu của pic coniferin, loganic acid, sweroside và loganin trong sắc ký đồ của mẫu chuẩn lần lượt là 12,61, 15,34; 19,55; 20,21 (Hình 1a).



Hình 1: Sắc ký đồ và so sánh phổ của mẫu chuẩn (a) và mẫu thử (b); (1):coniferin; (2): loganic acid; (3): sweroside; (4): loganin; (IS): methyl paraben.

Đồng thời, tại thời gian lưu của các pic coniferin, loganic acid, sweroside và loganin trên các sắc ký đồ thử và chuẩn chúng tôi đã so sánh phổ hấp thụ UV thu được của pic. Kết quả cho thấy phổ thử và chuẩn trùng khít lên nhau với hệ số match lần lượt là 0,9995; 0,9994; 0,9996, và 0,9938. Điều này chứng tỏ pic thu được trên sắc ký đồ của mẫu thử là tinh khiết và các thành phần khác có trong mẫu thử không ảnh hưởng đến quá trình phân tích bốn chất đối chiếu

coniferin, loganic acid, sweroside và loganin ở điều kiện sắc ký đã lựa chọn, qua đó cho phép ta tiến hành định tính, định lượng.

Khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện và giới hạn định lượng.

Mỗi chuẩn bị một dãy gồm 8 dung dịch mẫu chuẩn có nồng độ từ 0,99 µg/ml đến 200 µg/ml, tiến hành sắc ký như điều kiện đã mô tả. Kết quả được thể hiện ở Bảng 1.

Bảng 1: Kết quả khảo sát khoảng tuyến tính, giới hạn phát hiện, giới hạn định lượng

Chất chuẩn	Nồng độ (µg/mL)	Phương trình hồi qui	r	LOD (µg/mL)	LOQ (µg/mL)
coniferin (1)	1,69-200	$Y = 17,01X + 0,015$	0,9998	0,557	1,687
loganic acid (2)	0,99-200	$Y = 2,58X - 0,007$	0,9942	0,327	0,990
sweroside (3)	1,99-200	$Y = 7,23X + 0,0001$	0,9998	0,657	1,990
loganin (4)	3,33-200	$Y = 2,88X - 0,002$	0,9999	1,098	3,327

Kết quả khảo sát trên cho thấy với khoảng nồng độ của coniferin, loganic acid, sweroside và loganin từ 1,69; 0,99; 1,99; 1,33µg/ml đến 200µg/ml có sự tương quan tuyến tính giữa nồng độ và diện tích pic tương ứng. Từ phương trình tuyến tính của các chất coniferin, loganic acid, swerosid và loganin cho phép xác định giới

hạn phát hiện của các chất lần lượt 0,56; 0,33; 0,66 và 1,10µg/mL, giới hạn định của từng chế tương ứng với từng chất lần lượt 1,69; 0,99; 1,99 và 3,33µg/mL.

Độ đúng, độ lặp lại của phương pháp
Độ đúng (accuracy) và độ lặp lại (precision) cụ phương pháp được tiến hành trên các m

huẩn đã biết trước nồng độ. Độ đúng và độ lặp lại trong ngày được tiến hành bằng cách phân tích mẫu chuẩn 5 lần trong một ngày; độ đúng và độ lặp lại giữa các ngày được tiến hành bằng cách phân tích mẫu chuẩn trong 5 ngày liên tiếp. Kết quả thể hiện ở Bảng 2 cho thấy độ đúng trong khoảng từ 99,31 đến 101,50 đối với độ

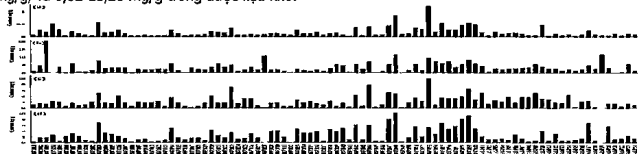
đúng trong ngày và giữa các ngày. Độ lặp lại của phương pháp thể hiện ở độ lệch tương đối (RSD), kết quả cho thấy RSD của phương pháp thấp hơn 1,29% đối với độ lặp lại trong ngày và giữa các ngày. Kết quả chứng tỏ rằng phương pháp định lượng đồng thời các hoạt chất sinh học có độ chính xác và lặp lại cao.

Bảng 2: Kết quả xác định độ đúng và độ lặp lại của phương pháp.

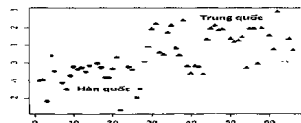
Chất chuẩn	Nồng độ (µg/ml)	Trong ngày (n = 5)		Giữa các ngày (n = 5)	
		Độ đúng (%)	RSD (%)	Độ đúng (%)	RSD (%)
coniferin	2	101,19	0,45	100,62	0,46
	4	100,08	0,20	100,18	0,26
	8	99,90	0,23	100,72	0,27
loganic acid	2	101,49	1,15	101,50	1,29
	4	100,87	0,26	100,88	0,96
	8	100,00	0,56	100,10	0,58
sweroside	2	100,55	0,57	101,14	0,86
	4	99,81	0,16	100,27	0,48
	8	99,39	0,11	99,61	0,14
loganin	2	100,02	0,62	100,76	0,65
	4	99,64	0,45	100,15	0,67
	8	101,11	0,74	100,13	0,78

Kết quả phân tích định lượng các hoạt chất trong mẫu dược liệu Kim ngân

Kết quả khảo sát hàm lượng các hoạt chất sinh học coniferin, loganic acid, sweroside và loganin có trong 92 mẫu kim ngân được thể hiện ở Hình 2. Kết quả chỉ ra rằng hàm lượng của coniferin, organic acid, sweroside và loganin được xác định là 0,03-1,21 mg/g, 0,03-20,43 mg/g, 0,02-10,09 ng/g, và 0,02-10,26 mg/g trong dược liệu khô.



Hình 2: Phân bố hàm lượng hoạt chất trong các mẫu Kim ngân, (a) coniferin, (b) loganic acid, (c) sweroside và (d) loganin.



Hình 3: Kết quả phân tích phân loại dược liệu Kim ngân từ các nguồn khác nhau

Kết quả phân loại Kim ngân bằng phân tích tổng thể sắc đồ

Tiến hành phân tích tổng thể sắc đồ dựa trên 11 pic chung bằng LDA (phân tích phân biệt

tuyến tính-Linear discriminant analysis) cho thấy các mẫu Kim ngân từ các nguồn gốc khác nhau được phân biệt với độ chính xác tới 80%. Kết quả được thể hiện ở Hình 3.

V. KẾT LUẬN

Kim ngân là một dược liệu cổ truyền quan trọng. Tác dụng điều trị của dược liệu này phụ thuộc nhiều vào nguồn gốc phân bố. Trong nghiên cứu trước của chúng tôi, phương pháp phân tích sắc ký lỏng hiệu năng cao được phát triển định lượng đồng thời 4 hoạt chất sinh học là coniferin, loganic acid, sweroside và loganin. Trong nghiên cứu này, phương pháp phân tích

được áp dụng định lượng 4 hoạt chất sinh học trong 92 mẫu từ Hàn Quốc và Trung Quốc cùng với phân tích tổng thể sắc đồ nhằm phân biệt được liệu từ các nguồn khác nhau. Hàm lượng của coniferin, loganin acid, sweroside và loganin được xác định là 0,03-1,21mg/g, 0,03-20,43mg/g, 0,02-10,09mg/g, và 0,02-10,26 mg/g trong dược liệu khô. Phân tích tổng thể sắc đồ được tiến hành dựa vào LDA cho thấy Kim ngân từ các vùng khác nhau có thể được phân biệt chính xác tới 80%. Nghiên cứu này một lần nữa khẳng định sự ảnh hưởng của các yếu tố ngoại cảnh, thổ nhưỡng tới hàm lượng hoạt chất trong dược liệu nói chung và Kim ngân nói riêng.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đỗ Tất Lợi, " Những Cây Thuốc và Vị Thuốc Việt Nam", Nhà Xuất Bản Y Học, 2004.
- Chữ Văn Mến, Nguyễn Văn Long, Nguyễn Tùng Linh, Hoàng Văn Lương, Kang Jong Seong:

- Định lượng đồng thời các hoạt chất sinh học trong dược liệu Kim Ngân (*Lonicera japonica*) bằng phương pháp sắc ký lỏng hiệu năng cao", Tạp chí Dược học Quân sự, số 7, 2010, trang 12-19.
- Chu Van Men, Jang Yu Seon, Nguyen Van Long, Lee Kwan Jun, Lee Sae Eun, Kim Young Ho, Bae Ki Hwan, Kang Jong Seong "Quality Evaluation of *Lonicerae folium* et *caulis* Using Multiple Component Analysis by HPLC Performance Liquid Chromatography"; Proceeding of the Fall International Convention of The Pharmaceutical Society of Korea; October 21-2010, page: 254.
 - Lee, E. J., Kim, J. S. Kim, H. P., Lee, J. H. and Kang, S. S. : Phenolic constituents from the flower buds of *Lonicera japonica* and their 5-lipoxygenase inhibitory activities. *Food Chem.* 120(1), 134~9 (2010).
 - Kumar, N., Bhandari, P., Singh, B. and Kaul, V. K. : Saponins and volatile constituents from *Lonicera Japonica* India. *Nat. Prod. Commun.* 2(6), 633~6 (2007).

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ ANTI-MULLERIAN HORMON (AMH) HUYẾT THANH Ở BỆNH NHÂN HỘI CHỨNG BUỒNG TRỨNG ĐA NANG

Nguyễn Thị Hà¹, Phạm Thiện Ngọc², Bùi Tuấn Anh²

TÓM TẮT.

Mục tiêu: xác định giá trị xét nghiệm nồng độ AMH huyết thanh trong chẩn đoán hội chứng buồng trứng đa nang. **Phương pháp:** Nghiên cứu tiền cứu mô tả, cắt ngang; tiến hành ở 90 phụ nữ bình thường và 70 bệnh nhân buồng trứng đa nang lứa tuổi sinh đẻ. Nồng độ AMH huyết thanh được định lượng theo nguyên lý miễn dịch enzym (ELISA). **Kết quả:** Nồng độ AMH huyết thanh ở phụ nữ bình thường là $5,19 \pm 1,55$ ng/mL và ở nhóm bệnh nhân là $12,62 \pm 4,61$; sự khác biệt với $p < 0,01$. Nồng độ AMH huyết thanh thay đổi theo các nhóm kiểu hình bệnh buồng trứng đa nang. **Kết luận:** Nồng độ AMH huyết thanh có giá trị tốt để chẩn đoán hội chứng BTĐN với AUC = 0,963; $p < 0,01$. Nồng độ AMH huyết thanh = 6,85 ng/mL là điểm cắt (cut off) với độ nhạy (Se = 90%), độ đặc hiệu (Sp = 88,9%).

Từ khóa: AMH, ELISA, hội chứng buồng trứng đa nang

SUMMARY

STUDY ON SERUM ANTI-MÜLLERIAN HORMONE (AMH) LEVELS IN PATIENTS WITH POLYCYSTIC OVARY SYNDROME

¹Bệnh viện Phụ sản Hà Nội

²Bệnh viện Bạch Mai

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Tuấn Anh

Email: anhbuittuan@yahoo.com

Ngày nhận bài: 20.11.2016

Ngày phản biện khoa học: 5.01.2017

Ngày duyệt bài: 18.01.2017

Objective: Valuation tests of serum AMH concentration in diagnosis of polycystic ovary syndrome **Method:** a cross-sectional descriptive study on 90 normal women and 70 patients with polycystic ovary syndrome. Concentration of serum AMH concentration is measured by Enzyme linked Immunoassay (ELISA). **Result:** Serum AMH concentration in normal and polycystic ovary syndrome women and were 5.19 ± 1.55 ng/mL and $12,62 \pm 4,61$ ng/mL, respectively. Concentration of serum AMH vary with phenotype groups of polycystic ovary syndrome. **Conclusion:** Concentration of serum AMH has a good value for the diagnosis of the syndromes with AUC of 0.963 ; $p < 0.01$. Serum AMH concentration of 6.85 ng / mL was a cutoff point (cut off) with a sensitivity of 90%, specificity of 88.9%.

Key words: AMH, ELISA, polycystic ovarian syndrome

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng buồng trứng đa nang (BTĐN) gây ra sự tăng bất thường nồng độ testosterone về LH, những chất này sẽ làm gián đoạn quá trình phát triển của nang noãn, trứng không thể trưởng thành và không có hiện tượng rụng trứng. Hội chứng BTĐN là một trong những nguyên nhân thường gặp gây vô sinh. Tỷ lệ mắc bệnh hội chứng BTĐN ở phụ nữ trong độ tuổi sinh đẻ là khá phổ biến, nếu theo tiêu chuẩn NICHD-1990 tỷ lệ gặp là 6 - 10%, nếu theo tiêu chuẩn Rotterdam-2003 tỷ lệ gặp là 14 - 17% [3].