

pháp Roux-en-y như thời gian phẫu thuật ngắn hơn, giảm tỉ lệ hội chứng Roux.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Lượng (2007). Nghiên cứu ứng dụng miệng nối Roux-en-y cải tiến sau cắt đoạn dạ dày cực dưới để điều trị loét dạ dày - tá tràng và ung thư dạ dày. Đại học Y Dược Huế; 2007.

2. Van Stiegmann G, Goff JS. An alternative to Roux-en-Y for treatment of bile reflux gastritis. (0039-6087 (Print).

3. Sun M-M, Fan Y-Y, Dang S-C. Comparison between uncut Roux-en-Y and Roux-en-Y reconstruction after distal gastrectomy for gastric cancer: A meta-analysis. World journal of gastroenterology. 2018;24(24):2628-2639. doi:10.3748/wjg.v24.i24.2628.

4. Chen S, Chen DW, Chen XJ, Lin YJ, Xiang J, Peng JSA-Ohoo. Postoperative complications and nutritional status between uncut Roux-en-Y anastomosis and Billroth II anastomosis after D2 distal gastrectomy: a study protocol for a multicenter randomized controlled trial. (1745-6215 (Electronic).

5. Yang D, He L, Tong W-H, Jia Z-F, Su T-R, Wang Q. Randomized controlled trial of uncut Roux-en-Y vs Billroth II reconstruction after distal gastrectomy for gastric cancer: Which technique is better for avoiding biliary reflux and gastritis? World journal of gastroenterology. 2017;23(34):6350-6356. doi:10.3748/wjg.v23.i34.6350.

6. Uyama I, Sakurai Y, Fau - Komori Y, Komori Y, Fau - Nakamura Y, et al. Laparoscopy-assisted uncut Roux-en-Y operation after distal gastrectomy for gastric cancer. (1436-3291 (Print).

## NGHIÊN CỨU ĐA HÌNH rs1799971 GEN OPRM1 Ở BỆNH NHÂN NGHIỆN CHẤT DẠNG THUỐC PHIỆN ĐIỀU TRỊ METHADONE THAY THẾ

NGUYỄN QUỲNH GIAO<sup>1</sup>,  
TRẦN VĂN CHIỀU<sup>1</sup>, TRẦN THỊ LÝ<sup>2</sup>,  
TRỊNH THỊ PHƯƠNG DUNG<sup>1</sup>, ĐẶNG THỊ NGỌC DUNG<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Trường Đại học Y Hà Nội  
<sup>2</sup>Trung tâm Kiểm soát Bệnh tật tỉnh Ninh Bình

#### TÓM TẮT

Trong nghiên cứu dược lý di truyền học, biểu hiện của các SNP khác nhau có thể làm thay đổi đáp ứng với thuốc.

Mục tiêu nghiên cứu: Xác định đa hình nucleotid đơn rs1799971 gen OPRM1 ở bệnh nhân điều trị methadone thay thế và đánh giá mối tương quan với liều điều trị.

Đối tượng và phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu mô tả cắt ngang, 323 bệnh nhân được chẩn đoán lệ thuộc và các chất dạng thuốc phiện theo QĐ 3140/QĐ-BYT năm 2010 và nghị định 90/2016/NĐ-CP năm 2016 đang được điều trị methadone.

Kết quả: Tỷ lệ phân bố alen A và G trong nhóm nghiên cứu tương đương nhau. Cá thể mang kiểu gen GG có liều điều trị thấp hơn so

với nhóm cá thể mang kiểu gen AA và AG giữa nhóm liều điều trị dưới 60 mg và trên 90 mg ( $p = 0,028$ , OR = 2,235, 95% CI: 1,08 – 4,626), giữa nhóm liều điều trị 60-90 và trên 90mg ( $p = 0,021$ , OR = 2,602, 95% CI: 1,137 – 5,955). Kết luận: Hoàn thiện phân tích đa hình đơn gen rs1799971 gen OPRM1 và phân tích được mối liên quan với liều điều trị

**Từ khóa:** Dược lý di truyền học, đa hình đơn rs1799971, gen OPRM1, liều methadone.

#### SUMMARY

DETERMINE OPRM1 rs1799971  
POLYMORPHYSM IN PATIENTS  
UNDERGOING METHADONE MAINTENANCE  
THERAPY

The OPRM1 gene codes the  $\mu$ -opioid receptor, which is site of action of most opioids. Several studies have examined a possible link between the exonic OPRM1 A118G (rs1799971) polymorphysm with methadone dose. Compare to A-allele carriers, individuals with G –allele are highly represented among Asian heroin addicts. G allele carriers release more dopamin in the

Chịu trách nhiệm: Nguyễn Quỳnh Giao  
Email: quynhgioa@hmu.edu.vn  
Ngày nhận: 08/9/2021  
Ngày phân biện: 12/10/2021  
Ngày duyệt bài: 27/10/2021

*striatum. The findings in some studys show that patients carrying the rs1799971 genotype of OPRM1 probably required higher methadone treatment dosage. Our study describes that individuals with GG genotype should take lower methadone dosage compared to those with AA or AG genotype.*

**Keywords:** Pharmacogenetic, OPRM1 A118G polymorphysm (rs1799971), OPRM1 gene, methadone dose.

### ĐẶT VẤN ĐỀ

Nghiên chất dạng thuốc phiện nói chung và ma túy nói riêng gây ra những tác hại nghiêm trọng về mặt sức khỏe, tổn hại về mặt xã hội. Chi phí kinh tế của việc lệ thuộc vào chất dạng thuốc phiện cao bao gồm chi phí chăm sóc sức khỏe, dịch vụ xã hội và các vấn đề tội phạm<sup>[1]</sup>. Methadone một chất chủ vận của receptor  $\mu$  (receptor opioid), là thuốc giảm đau thuộc nhóm opioid được sử dụng để điều trị nhằm làm giảm các triệu chứng cai nghiện và thèm thuốc. Trong điều trị methadone có sự dao động lớn giữa liều lượng của các cá thể, có những cá thể với liều 2 mg/ngày đã có cải thiện giảm sử dụng heroin trong khi những bệnh nhân khác đòi hỏi với liều rất cao 160 mg/ngày. Dược lý di truyền học (pharmacogenetics) đã chứng minh phản ứng với thuốc trong điều trị sẽ gây ra các phản ứng và hiệu quả điều trị khác nhau dẫn đến sự khác biệt giữa các cá nhân trong quá trình điều trị. Trong nghiên cứu dược lý di truyền học, biểu hiện của các SNP khác nhau có thể làm thay đổi đáp ứng với thuốc<sup>[3]</sup>. Gen OPRM1 (opioid receptor  $\mu$ 1) mã hóa thụ thể receptor  $\mu$ 1, là vị trí hoạt động chính của methadone. Nhiều nghiên cứu cho thấy một số đa hình đơn của gen OPRM1 liên quan đến việc điều trị trên các bệnh nhân<sup>[2]</sup>, trong đó có đa hình đơn rs1799971 nằm ở vị trí exon 1 là SNP được nghiên cứu nhiều nhất. Đa hình A118G do sự thay thế acid amin asparagine thành aspartic (Asn40Asp) tại vị trí glycosyl hóa đầu tận ngoại bào của gen OPRM1. Những cá thể mang alen G giảm hiệu lực với methadone do đó đòi hỏi liều opioid cao hơn để tạo ra hiệu quả điều trị<sup>[4,5]</sup>.

Do đó, đề tài này được thực hiện với mục tiêu xác định đa hình nucleotid đơn rs1799971 gen OPRM1 ở bệnh nhân điều trị thay thế bằng methadone và mối liên quan với liều điều trị.

### ĐỐI TƯỢNG, PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu: 323 bệnh nhân được chẩn đoán lệ thuộc vào các chất dạng thuốc phiện điều trị methadone thay thế.

Thiết bị và hóa chất sử dụng: Hóa chất và vật tư tiêu hao trong tách DNA, hóa chất khuếch đại gen, hóa chất chạy điện di

Thời gian nghiên cứu: 11/2020 đến tháng 8/2021.

Địa điểm nghiên cứu: Cơ sở điều trị methadone Ninh Bình, Đại học Y Hà Nội.

### 2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp: Mô tả cắt ngang

Quy trình nghiên cứu:

Tiến hành thu thập bệnh nhân

Tách DNA từ máu toàn phần

Quy trình phân tích đa hình gen OPRM1

Trình tự mỗi SNP rs1799971 trong nghiên cứu tự thiết kế với trình tự như sau:

Mỗi xuôi:

5'- CGCTTGAACCCAAAAGTC- 3'

Mỗi ngược:

5'- AGCCTTGGGAGTTAGGTGTCT- 3'

Tiến hành phản ứng PCR khuếch đại đoạn gen OPRM1

Thành phần	Thể tích (ul)
Master Mix	12,5
Mỗi xuôi	0,5
Mỗi ngược	0,5
DNA	1,0
Nước cất	10,5
Tổng số	25,0

Chu trình nhiệt của phản ứng PCR:

Nhiệt độ	Thời gian	
94 <sup>0</sup>	5 phút	
94 <sup>0</sup>	15 giây	35 chu kỳ
54.4 <sup>0</sup>	15 giây	
72 <sup>0</sup>	30 giây	
72 <sup>0</sup>	1 phút	
4 <sup>0</sup>	Vô cùng	

Điện di trên gel agarose phát hiện sản phẩm có mặt. Sản phẩm sau PCR sẽ được tiến hành điện di trên gel agarose 2% phát hiện sản phẩm có mặt.

Tinh sạch sản phẩm PCR giải trình tự

Đạo đức nghiên cứu

Đề cương nghiên cứu được thông qua Hội đồng Đạo đức, Trường Đại học Y Hà Nội. Tất cả các gia đình bệnh nhân tham gia nghiên cứu được giải thích về mục đích, nội dung nghiên cứu và đồng ý tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. Tất cả các thông tin nghiên cứu được bảo mật.

## KẾT QUẢ

Bảng 1. Phân bố bệnh nhân theo nhân khẩu học (n = 323)

Đặc điểm	Số lượng	Tỷ lệ(%)
Giới tính		
Nam	322	96,4%
Nữ	1	0,3%
Tuổi		
< 30	23	7,4%
30 - 39	128	38,1%
40 - 49	132	39,3%
≥ 50	40	11,9%
Trình độ học vấn		
Mù chữ	1	0,3%
Tiểu học	30	8,9%
THCS	147	43,8%
THPT	144	42,9%
Đại học/ Sau đại học	1	0,3%
Tình trạng hôn nhân		
Chưa kết hôn	64	19,8%
Đã kết hôn	233	72,1%
Ly hôn	26	8,1%
Nghề nghiệp		
Lao động tự do	232	69,6%
Làm ruộng	9	2,7%
Trí thức	4	1,2%
Công nhân	15	4,5%
Lái xe	23	6,8%
Thất nghiệp	40	11,9%

Nhận xét: Tổng số có 323 bệnh nhân đủ tiêu chuẩn lựa chọn vào nghiên cứu hầu hết bệnh nhân là nam giới (96,4%), chỉ có 1 bệnh nhân là nữ giới chiếm tỷ lệ 1%.

Phần lớn bệnh nhân của nghiên cứu nằm trong độ tuổi từ 40 – 49 với 39,3%. Hơn 40% bệnh nhân có trình độ từ THPT trở lên. Tình trạng hôn nhân chủ yếu là đã kết hôn chiếm 72,1%, tuy nhiên, 8,1% trong tổng số bệnh nhân đã ly hôn.

Nghề nghiệp tại thời điểm nghiên cứu chủ yếu là lao động tự do chiếm 69,6%, tỷ lệ thất nghiệp/không có việc làm chiếm khá cao gần 12%.

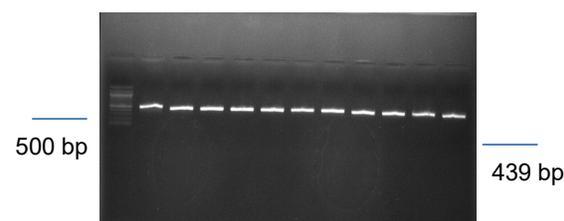
Bảng 2. Liều điều trị methadone của đối tượng nghiên cứu

Liều methadone	Tổng số bệnh nhân	Tỷ lệ
Liều điều trị ban đầu (mg/ngày)		
<20 mg	115	33.1%
≥20 mg	208	61.9%
Nhỏ nhất: 10 mg		
Lớn nhất: 30 mg		

Liều điều trị duy trì (mg/ngày)	Số lượng	Tỷ lệ (%)
< 60 mg	174	53.9 %
60- 90 mg	99	30.7%
>90 mg	50	15.5%
Nhỏ nhất: 5 mg		
Trung bình 64.29 mg		
Lớn 275 mg		

Nhận xét: Liều duy trì điều trị methadone dao động rất lớn, nhỏ nhất 5 mg/ngày, lớn nhất là 275 mg/ngày. Liều điều trị trung bình là 64.29 mg/ngày.

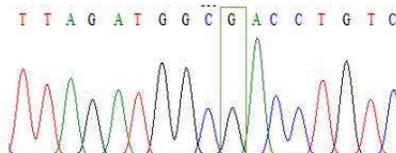
Hình ảnh khuếch đại gen OPRM1 chứa đa hình đơn rs1799971



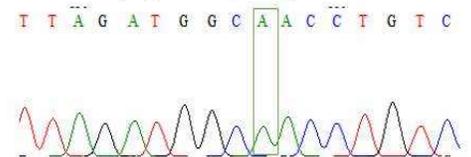
Hình 1.1. Hình ảnh khuếch đại gen OPRM1 chứa đa hình đơn rs1799971

Nhận xét: Kết quả điện di sản phẩm PCR có chiều dài 439 bp trên gel agarose 2% với hiệu điện thế 90V trong 40 phút. Băng điện di rõ nét, không có vạch phụ, đạt tiêu chuẩn cho bước tiếp theo giải trình tự đoạn gen khuếch đại

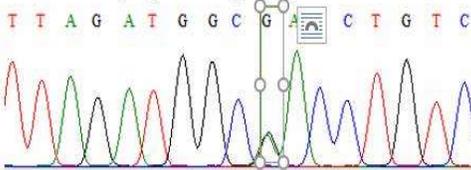
Hình ảnh giải trình tự kiểu gen đa hình đơn rs1799971 của gen OPRM1



Hình 3.2. Kết quả giải trình tự kiểu gen GG trên BN 300039



Hình 3.3. Kết quả giải trình tự kiểu gen AA trên BN 400017



Hình 3.4. Kết quả giải trình tự kiểu gen AG trên BN 400051

Nhận xét: Kết quả giải trình tự các kiểu gen đa hình đơn rs1799971 với các đường baseline đạt tiêu chuẩn, hình ảnh rõ nét, các peak tương ứng các nucleotide cao, nhọn, cân đối.

Bảng 3. Đặc điểm alen và gen OPRM1

Tỷ lệ	Alen		Kiểu gen		
	A	G	AA	AG	GG
	376 58.2%	270 42.8%	110 34.1%	156 48.2%	57 17.6%
Tổng số	646		323		

Nhận xét: Tỷ lệ phân bố alen A và G trong nhóm nghiên cứu tương đương nhau. Tỷ lệ phân bố kiểu gen GG chiếm tỷ lệ nhỏ nhất là 15.6%, kiểu gen AG chiếm tỷ lệ cao nhất là 48.2%.

Bảng 4. Mối tương quan giữa các alen và kiểu gen của các đối tượng nghiên cứu ở các liều điều trị duy trì

Kiểu gen/alen	Liều duy trì			p
	60	60-90	90	
A	209 55,5%	119 31,6%	48 12,9%	0,546
G	139 51,4%	79 29,2%	52 19,4%	
AA	63 57,2%	34 30,9%	13 11,9%	
AG	83 53,2%	51 32,6%	22 14,2%	0,144
GG	28 49,1%	14 24,5%	15 26,4%	
AA	63 57,2%	34 30,9%	13 11,9%	
GG	28 49,1%	14 24,6%	15 26,3%	0,058
AA	63 57,2%	34 30,9%	13 11,9%	
AG	83 53,2%	51 32,6%	22 14,2%	
AG	83 53,2%	51 32,6%	22 14,2%	0,773
GG	28 49,1%	14 24,6%	15 26,3%	
AA	63 57,2%	34 30,9%	13 11,9%	
AG+GG	111 52,1%	65 30,5%	37 17,4%	0,041*
AA+AG	146 54,9%	85 31,9%	35 13,2%	
GG	28 49,1%	14 24,6%	15 26,3%	
AG	83 53,2%	51 32,6%	22 14,2%	0,669
AA+GG	91 54,4%	48 28,7%	28 16,9%	

Nhận xét: Mô hình đồng hợp (GG với AA), dị hợp (AG với AA và AG với GG), mô hình di truyền trội (GG+AG với AA), mô hình siêu trội (AG với AA+GG) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p > 0.05$ ). Với mô hình di truyền lặn (GG với AA+AG), chúng tôi thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0.041 < 0.05$ ).

Bảng 5. Tỷ lệ kiểu gen GG với AA và AG ở các liều điều trị trung bình duy trì

Liều duy trì	Kiểu gen			
	AA +AG	GG	OR	
60	146 83.9%	28 16.1%	0.859 (0.429-1.721)	0.668
60-90	85 85.8%	14 14.2%		
60	146 83.9%	28 16.1%	2.235 (1.08-4.626)	0.028*
90	35 70%	15 30%		
60-90	85 85.8%	14 14.2%	2.602 (1.137-5.955)	0.021*
90	35 70%	15 30%		

Nhận xét: Với mô hình di truyền lặn (GG với AA+AG), chúng tôi thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p = 0.041 < 0.05$ ) giữa nhóm liều điều trị dưới 60 mg và trên 90 mg ( $p = 0.028$ , OR = 2.235, 95% CI: 1.08 – 4.626), và nhóm liều điều trị 60-90 và trên 90 mg ( $p=0.021$ , OR= 2.602, 95% CI: 1.137 – 5.955). Kết quả cho thấy các cá thể mang kiểu gen GG có liều điều trị methadone thấp hơn so với kiểu gen AA và AG giữa nhóm liều điều trị dưới 60 mg và trên 90 mg, 60 đến 90 mg và trên 90 mg.

## BÀN LUẬN

### 1. Đặc trưng nhóm nghiên cứu

Hầu hết các bệnh nhân tham gia nghiên cứu là nam giới (96,4%). Trong nghiên cứu của chúng tôi, tuổi từ 30 -39 chiếm 38,1% và từ 40 – 49 chiếm 39,3%. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân có trình độ học vấn từ trung học cơ sở trở xuống chiếm hơn 50%. Các nghiên cứu trước đây cũng cho thấy trình độ học vấn của các bệnh nhân từng sử dụng các chất gây nghiện đều không cao, đa số là từ trung học cơ sở trở xuống với trên 50% [6].

Tần suất phân bố đa hình đơn rs1799971

Tần suất phân bố của các biến thể mang alen G ở các quần thể có sự khác nhau trong đó cao nhất ở quần thể châu Á. Trong nghiên cứu của chúng tôi các biến thể mang alen G với tần suất phân bố là 42,8%. Nghiên cứu này tương đồng

với các nghiên cứu về đa hình đơn trên quần thể người Nhật của Ide năm 2004 là 45,3%<sup>[7]</sup>.

## 2. Đặc điểm liều điều trị

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy liều methadone duy trì là 64,29 mg. Liều điều trị duy trì trong nghiên cứu của chúng tôi với liều điều trị nhỏ nhất là 5 mg, liều điều trị lớn nhất là 275 mg/ngày. Nghiên cứu của Bell 2006 cũng nhận thấy sự khác biệt rất lớn giữa liều methadone giữa các cá thể<sup>[8]</sup>.

Đa hình đơn rs1799971 của OPRM1 và liều điều trị.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ phân bố alen ở liều điều trị dưới 60 mg chiếm tỷ lệ cao nhất với sự phân bố alen A và G theo thứ tự là 60% và 40%; tỷ lệ phân bố kiểu gen AA và AG ở liều điều trị 60 - 90 mg chiếm tỷ lệ cao nhất; tỷ lệ GG chiếm tỷ lệ cao nhất ở nhóm điều trị trên 90 mg. Khi phân tích mối tương quan giữa các mô hình kiểu gen với liều điều trị chúng tôi nhận thấy mô hình đồng hợp (GG với AA), dị hợp (AG với AA và AG với GG), mô hình di truyền trội (GG+AG với AA), mô hình siêu trội (AG với AA+GG) không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Với mô hình di truyền lặn (GG với AA+AG), chúng tôi thấy có sự khác biệt giữa nhóm liều điều trị dưới 60 mg và trên 90 mg ( $p = 0.028$ , OR = 2.235, 95% CI: 1.08 – 4.626), và nhóm liều điều trị 60-90 và trên 90 mg ( $p=0.021$ , OR= 2.602, 95% CI: 1.137 – 5.955).

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy các cá thể mang kiểu gen GG với liều điều trị duy trì thấp hơn so với các thể mang alen trội. Nghiên cứu của chúng tôi có sự khác biệt so với các nghiên cứu trên thế giới. Nghiên cứu của Wang 2012 khi đánh giá mối tương quan giữa rs1799971 và liều methadone điều trị trên quần thể cho thấy các cá thể mang alen G đòi hỏi liều điều trị cao hơn<sup>[4]</sup>. Tuy nhiên, có rất nhiều nghiên cứu cho thấy không có mối tương quan giữa các biến thể rs1799971 với liều điều trị methadone<sup>[9-10]</sup>. Việc kết hợp các biến thể của các gen khác liên quan đến dược lực học và dược động học của methadone và phối hợp cùng OPRM1 phải được xem xét khi dự đoán hiệu quả điều trị.

## KẾT LUẬN

Tỷ lệ alen A chiếm 58,2%, alen G chiếm 42,8%.

Cá thể mang kiểu gen GG với liều điều trị thấp hơn giữa nhóm liều điều trị dưới 60 mg và trên 90 mg, 60 đến 90 mg và trên 90 mg.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Al-Eitan LN, Jaradat SA, Su SY**, et al. Mu opioid receptor (OPRM1) as a predictor of treatment outcome in opiate-dependent individuals of Arab descent. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2012;5:99 - 111.
2. **Levrán O, Peles E, Randesi M**, et al. Association of genetic variation in pharmacodynamic factors with methadone dose required for effective treatment of opioid addiction. *Pharmacogenomics.* 2013;14(7):755 - 768.
3. **Chen YT, Tsou HH, Kuo HW**, et al. OPRM1 genetic polymorphisms are associated with the plasma nicotine metabolite cotinine concentration in methadone maintenance patients: a cross sectional study. *Journal of human genetics.* Feb 2013;58(2):84 - 90.
4. **Wang SC, Tsou HH, Chen CH**, et al. Genetic polymorphisms in the opioid receptor mu1 gene are associated with changes in libido and insomnia in methadone maintenance patients. *European neuropsychopharmacology : the journal of the European College of Neuropsychopharmacology.* Oct 2012;22(10):695 - 703.
5. **Bauer IE, Soares JC, Nielsen DA.** The role of opioidergic genes in the treatment outcome of drug addiction pharmacotherapy: A systematic review. *The American journal on addictions.* Jan 2015;24(1):15 - 23.
6. **FHI.** Đánh giá hiệu quả của chương trình thí điểm điều trị nghiện các chất thuốc phiện bằng methadone tại Hải Phòng và TP. Hồ Chí Minh. 2014
7. **Ide S, Kobayashi H, Tanaka K**, et al. Gene polymorphisms of the mu opioid receptor in methamphetamine abusers. *Annals of the New York Academy of Sciences.* Oct 2004;1025:316 - 324.
8. **Bell J, Burrell T, Indig D**, et al. Cycling in and out of treatment; participation in methadone treatment in NSW, 1990-2002. Drug and alcohol dependence. Jan 4 2006;81(1):55 - 61.
9. **Crettol S, Besson J, Croquette-Krokar M**, et al. Association of dopamine and opioid receptor genetic polymorphisms with response to methadone maintenance treatment. *Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry.* Oct 1 2008;32(7):1722 - 1727.
10. **Hung CC, Chiou MH, Huang BH**, et al. Impact of genetic polymorphisms in ABCB1, CYP2B6, OPRM1, ANKK1 and DRD2 genes on methadone therapy in Han Chinese patients. *Pharmacogenomics.* Nov 2011;12(11):1525-1533.