

XÁC ĐỊNH SỚM THAI NGHÉN BẰNG LECTIN

Nguyễn Quốc Khang và Trần Thị Long
Đại học Khoa học Tự nhiên - ĐHQGHN

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, có nhiều phương pháp xác định hiện tượng có thai ở phụ nữ. Các phương pháp đều dựa vào phản ứng của HCG (Human Chorionic Gonadotropin) có trong nước tiểu của nữ mang thai với việc kích thích phát triển bộ phận sinh dục ở động vật cái (phương pháp chuột, thỏ...), kích hoạt tinh trùng ở động vật đực (phương pháp thử ếch)... Gần đây, người ta dựa vào phản ứng của HCG với chất kháng HCG (Anti-HCG) hoặc là phương pháp miễn dịch enzyme... Song mỗi phương pháp đều có ưu nhược điểm của nó. Đối với phương pháp thử chuột và ếch thường đòi hỏi thời gian lâu, độ chính xác thấp và cần lượng HCG nhiều, nên chậm. Các phương pháp dùng kháng HCG hay miễn dịch enzyme, tuy nhanh nhạy và chính xác, nhưng các điều kiện thử nghiệm và thuốc thử phức tạp, nhiều thao tác, v.v...

Từ những hạn chế trên, chúng tôi tiến hành nghiên cứu ứng dụng lectin để xác định thai nghén ở phụ nữ. Đây là phương pháp hoàn toàn mới, mà cho đến nay chưa có tài liệu trong và ngoài nước đề cập tới nguyên tắc của phương pháp này.

Phương pháp này đơn giản, dễ làm, thuốc thử dễ kiếm và rẻ tiền. Chi phí mỗi xét nghiệm không quá 10% so với phương pháp kháng HCG và thử ếch.

PHƯƠNG PHÁP

Sau khi biết đầy đủ các nguyên lý, các điều kiện cần thiết và các thử nghiệm kiểm tra kết quả đảm bảo, chúng tôi đã thành công và hoàn thiện phương pháp "Xác định sớm thai nghén bằng Lectin". Nội dung phương pháp như sau:

1. Nguyên tắc:

Phương pháp này dựa vào sự có mặt của HCG (Human Chorionic Gonadotropin) trong nước tiểu của phụ nữ mang thai có khả năng kìm hãm đặc hiệu cao đối với một số lectin và được thể hiện qua phản ứng gây ngưng kết hồng cầu.

2. Dụng cụ và thuốc thử:

a. Dụng cụ:

- Bàn nhựa chuẩn độ vi lượng (Microtiter - System) có các "giếng" đáy nhọn hoặc ống nghiệm nhỏ đáy nhọn.
- Ống nhỏ giọt hoặc micropipet (Pipetman hay Eppendorf, từ 0,010 đến 0,100 ml).

b. Thuốc thử:

- Nước muối sinh lý (NaCl 0,9%).

ng cầu nhóm máu O của người hoặc hồng cầu máu gà, rửa sạch và pha loãng 5% bằng nước muối sinh lý.

Thuốc thử SH-01 pha loãng bằng nước muối sinh lý theo chỉ dẫn của nơi sản xuất.

Nước tiểu phụ nữ hoặc chế phẩm cần xác định hàm lượng Gonadotropin.

Thực hiện:

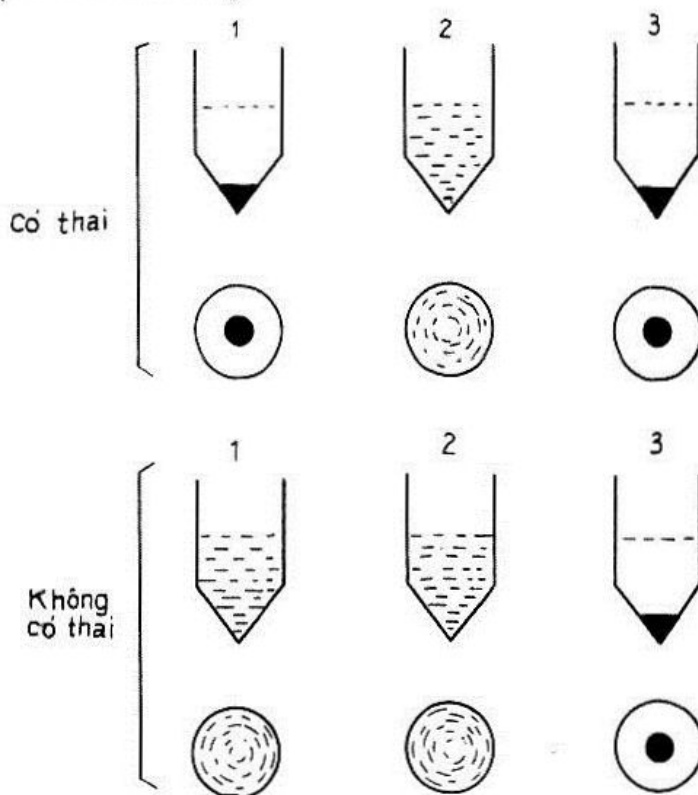
1. Tính:

Cho vào ba "giếng" (đối với bản nhựa) hay ba ống nghiệm thứ tự như bảng 1.

Bảng 1. Trình tự thí nghiệm (mỗi giếng chừng 0,05 ml)

TT	Thuốc thử	Giếng 1	Giếng 2	Giếng 3
1	NaCl 0,9%	1 giọt	2 giọt	3 giọt
2	Nước tiểu	1 -	0 -	0 -
3	SH-01	1 -	1 -	0 -
4	Hồng cầu	1 -	1 -	1 -

Để yên và để yên ở nhiệt độ phòng, sau một giờ đọc kết quả. Nếu giếng 1 hồng cầu tụ lại ở đáy giếng 3 là có HCG, tức là có thai. Còn nếu giếng 1 hồng cầu không tụ lại ở đáy như giếng 3 đều (hiện tượng hồng cầu ngưng kết) như giếng 2, tức là giếng 1 không có HCG, nghĩa là không có thai (theo sơ đồ mô tả).



Hình 1. Sơ đồ đọc kết quả xét nghiệm

Thứ tự của phản ứng như trên cũng có thể làm trên lam kính và đọc kết quả dưới kính hiển vi. Hồng cầu ở mẫu thí nghiệm (có nước tiểu) không ngưng kết là có HCG, tức là có thai.

Còn hồng cầu ngưng kết (cụm thành đám) thì không có HCG, nghĩa là không có thai.

b. Định lượng:

- Cách thứ nhất:

Dùng bản nhựa chuẩn độ vi lượng (Microtiter-System) cho vào mỗi giếng 0,050 ml nước sinh lý; lấy 0,050 ml nước tiểu (hay mẫu muốn xác định Gonadotropin đã pha loãng có nồng độ khoảng 0,01 mg protein/ml) đưa vào giếng thứ nhất, trộn đều và lấy ra 0,050 ml đưa sang giếng thứ hai, lại trộn đều và lại lấy ra 0,050 ml đưa sang giếng thứ ba... cứ pha như vậy để có độ pha loãng như sau:

$$1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, \dots$$

Sau khi pha loãng xong, thêm vào mỗi giếng 0,025 ml thuốc thử SH-01, lắc nhẹ, để yên 1-2 rồi thêm vào mỗi giếng 0,025 ml hồng cầu nhóm máu O của người đã rửa sạch và pha loãng bằng nước muối sinh lý (như vậy tổng thể tích mỗi giếng là 0,100 ml). Để yên ở nhiệt độ sau một giờ đọc kết quả như phần định tính đã mô tả ở trên.

Tính kết quả: Lấy số đảo ngược độ pha loãng ở giếng có hiện tượng bắt đầu ngưng kết với hệ số 20. Ví dụ ở giếng thứ tư bắt đầu có hiện tượng ngưng kết lúc đó có độ pha loãng 1/16. Vậy hoạt độ của HCG sẽ là:

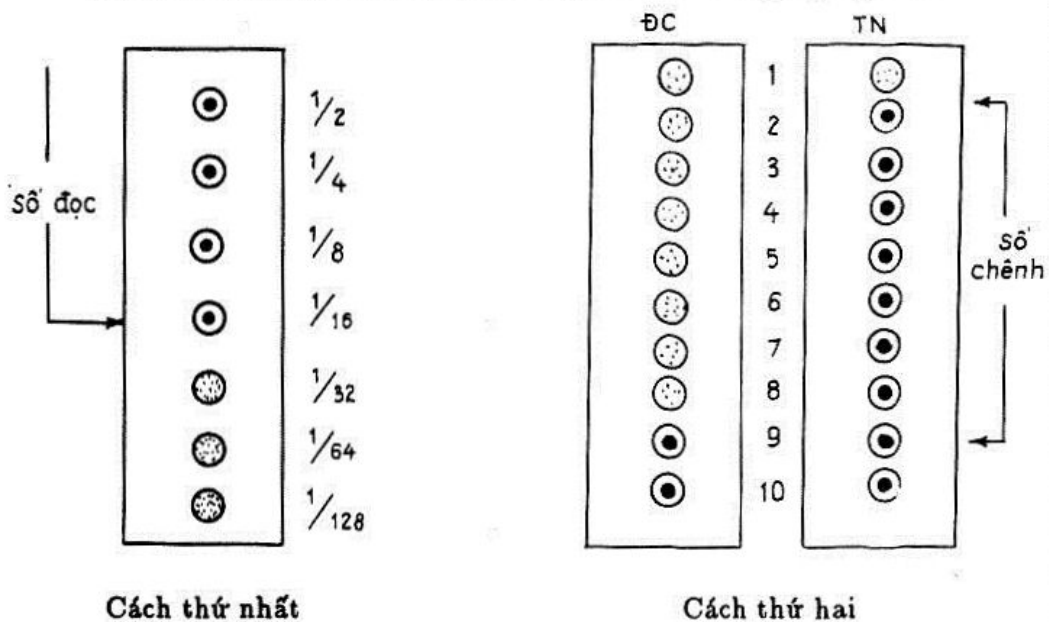
$$16 \times 20 = 320 \text{ đơn vị (IU)/ml}$$

Từ đó có thể suy ra hàm lượng của chế phẩm muốn xác định. Mỗi IU hoạt độ của HCG tương ứng với 0,001279 mg protein Gonadotropin.

- Cách thứ hai:

Pha loãng thuốc thử SH-01 như nước tiểu ở cách thứ nhất, rồi thêm vào mỗi giếng 0,025 ml nước tiểu hoặc dung dịch có HCG đã pha loãng ở nồng độ nhất định. Lắc nhẹ và thêm vào giếng 0,025 ml hồng cầu như trên.

Hàng đối chứng, sau khi pha loãng SH-01 thì thêm vào mỗi giếng 0,025 ml nước cất muối sinh lý và 0,025 ml hồng cầu. Để yên thí nghiệm và kiểm tra (đối chứng) ở nhiệt độ phòng sau một giờ đọc kết quả. Đọc số giếng bắt đầu không ngưng kết của hàng thí nghiệm theo độ pha loãng của lectin đến giếng tương ứng của hàng đối chứng bắt đầu không ngưng kết.



Hình 2. Cách đọc kết quả định lượng HCG

ly số giếng chênh lệch giữa hai hàng thí nghiệm và đối chứng nhân với hệ số 40. Ví dụ tính từ hàng thứ hai của hàng thí nghiệm bắt đầu không ngưng kết, còn hàng đối chứng mãi giếng thứ mới bắt đầu không ngưng kết. Vậy số giếng chênh lệch là 8, do đó hoạt độ của HCG sẽ là

$$8 \times 40 = 320 \text{ IU/ml}$$

ic cách định lượng này, cũng có thể sử dụng để định tính, nhất là cách làm thứ hai đối với các rờng hợp chẩn đoán thụ thai sau 7-10 ngày. Khi hoạt động của HCG có từ 160 IU/ml nước u thì chắc chắn là có thai.

KẾT LUẬN

1. Độ chính xác của phương pháp này sau thụ tinh 7-10 ngày là trên 70%. Còn từ 15 ngày trở lên là trên 95% và thích hợp với tất cả các lứa tuổi có khả năng thụ thai và có thể ứng dụng o cả gia súc.

2. Căn cứ vào mức độ phản ứng có thể tính được hàm lượng Gonadotropin trong nước tiểu y chế phẩm cần xác định. Đối chiếu với hàm lượng Gonadotropin ở cơ thể không bệnh lý và c hiện tượng lạ của phản ứng lectin để chẩn đoán trạng thái của thai nghén (xấu, tốt, tuổi ai...). Trên cơ sở đó có thể xử lý các bài thuốc xảy thai hay các biện pháp phá thai đơn giản có hiệu quả mà ít ảnh hưởng đến sức khỏe của chị em phụ nữ.

3. Phương pháp này đã khắc phục được những nhược điểm của các phương pháp xác định ai nghén hiện có ở Việt Nam, nhất là phương pháp kháng HCG. Đây là một phương pháp đơn ản, dễ làm, thuốc thử dễ kiếm và rẻ tiền mà có độ nhạy và độ chính xác cao.

4. Hiệu quả của phương pháp là làm đơn giản hóa, cụ thể là:

- Bỏ quá trình sản xuất kháng HCG mà thay bằng lectin là một chất khá phổ biến ở động ực vật.
- Bỏ quá trình sản xuất HCG và gắn HCG vào hồng cầu cừu mà thay bằng kim hãm trực p phản ứng ngưng kết hồng cầu của lectin.
- Bỏ các dung dịch đệm mà chỉ cần dùng nước muối sinh lý.
- Điều kiện bảo quản thuốc thử lectin không khắt khe như phương pháp kháng HCG.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Đặng Đức Trạch và NNK., Miễn dịch học, NXB Khoa học và Kỹ thuật, Hà Nội, 1987.
- M. Berson, and H. Yalow. The hormones, Vol. 4., Academic Press. New-York, 1954.
- F. Brody and W. Carlstroem. Gonadotropins: Physicochemical and Immunological Properties. Churchill, Londres, 1965.
- H. C. Cole. Gonadotropin, their chemical and biological properties and secretory control, Freeman, Londres, 1963.
- S. Gabius, K. Kayser, and H. J. Gabius. Analytische, immunologische und tierexperimentelle Voraussetzungen fuer die klinische Pruefung der suf Lektiningehalt standardisierten Misteltherapie, Dtsch. Zschr. Onkol., 23 (1987), 113-119.
- R. Gor. Gonadotropins chorale humaine: Isolement et caracterisation, Paris, 1959.
- J. A. Loraine. Hormone Assays and their clinical Application, Livingstrone, Edimbourg, 1966.

8. A. Lorenzen and W. E. Merz. Human choriogonadotropin entrapped into liposomes: Characterization, biological effects and interaction with purified mouse Leydig cells in vitro, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **61** (1989), 227-228.
9. W. E. Merz. Evidence for impaired subunit interaction in chemically deglycosylated human choriogonadotropin, *Biochem. and Biophys. Research Communications*, Vol. 156, No. 3 (1989), 1271-1278.
10. G. Wolstenholme and F. Knight. *Gonadotropins: Physicochemical and Immunological Properties* Churchill, Londres, 1965.

VNU. JOURNAL OF SCIENCE, Nat. Sci., t.XII, n°1, 1996

EARLY IDENTIFICATION OF PREGNANCY BY LECTIN METHOD

Nguyen Quoc Khang and Tran Thi Long

College of Natural Sciences - VNU

The principles of this method are based on the HCG present in the pregnant women's urine which is able to retard the lectin activation in the reaction hemagglutinating of red blood cells can be detected by normal eyes. Therefore, this method has high sensitivity and accuracy, may be used to detect pregnancy early (about 7-10 days after insemination). Besides, according to the amount of HCG in urine and strange traces in the lectin reaction, we can identify the health of the fetus, its good bad conditions. On that basis, we can prescribe medicine for miscarriage, propose a method to perform a simple and effective abortion, which has a little effect on women's health.