

DOI: 10.59715/pntjimp.4.2.18

Đánh giá các dấu ấn chuyển hóa liên quan đến mật độ xương ở phụ nữ bị loãng xương sau mãn kinh

Trần Thanh Sơn¹, Huỳnh Như¹, Mai Duy Linh¹, Hồ Phạm Thục Lan¹

¹Trung tâm Nghiên cứu Y sinh, Trường Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch, TP Hồ Chí Minh

Tóm tắt

Đặt vấn đề: Loãng xương với hệ quả gãy xương là một bệnh chuyển hóa xương phổ biến. Các dấu ấn sinh học về mật độ xương (MĐX) rất hữu ích cho việc phòng ngừa và chẩn đoán sớm loãng xương và gãy xương.

Mục tiêu: Nghiên cứu này nhằm xác định các dấu ấn sinh học chuyển hóa của MĐX.

Đối tượng: 100 phụ nữ sau 50 tuổi, trong đó 50 người bị loãng xương và 50 người không mắc bệnh

Phương pháp: Thiết kế bệnh chứng (Case-control study). Xác định các metabolites có liên quan đến bệnh với phương pháp định danh không mục tiêu bằng hệ thống LC-MS/MS. Chẩn đoán loãng xương dựa vào đo mật độ xương tại 2 vị trí cổ xương đùi (FNBMD) và cột sống lưng (LSBMD), bằng kỹ thuật DXA với máy Hologic Horizon.

Kết quả: Từ 166 chất chuyển hóa được định danh trong nghiên cứu, chúng tôi ghi nhận được 12 chất có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,0001$) giữa nhóm loãng xương và nhóm không loãng xương. Trong đó có 2 chất liên quan đến MĐX thấp (LSBMD) gồm L-Carnitine và Glycerophosphocholine và 1 chất giúp tăng MĐX (FNBMD), mỗi liên quan vẫn duy trì có ý nghĩa thống kê sau khi điều chỉnh cho các yếu tố độ tuổi, BMI, hoạt động thể chất

Kết luận: Bước đầu nghiên cứu xác định được một số chỉ dấu chuyển hóa của MĐX, tiềm năng hỗ trợ cho các chỉ số lâm sàng hiện tại giúp phát hiện sớm và phòng ngừa loãng xương.

Từ khóa: Loãng xương, mật độ xương, metabolomics, chất chuyển hóa, LC-MS/MS

Abstract

Association between metabolites and bone mineral density in postmenopausal women

Background: Osteoporosis is a prevalent metabolic bone disorder, often resulting in osteoporotic fractures. Biomarkers for assessing bone mineral density (BMD) play a vital role in the prevention and early detection of osteoporosis.

Objectives: This study aims to elucidate the metabolites associated with BMD.

Subjectives: 100 women aged 50 and above were recruited, evenly split into 50 with osteoporosis and 50 without.

Methods: Employing a case-control approach, we conducted non-targeted metabolite identification utilizing the LC-MS/MS system. Osteoporosis diagnosis relied on the measurement of bone density at two locations femoral neck (FNBMD) and lumbar spine (LSBMD), assessed through DXA utilizing the Hologic Horizon machine.

Ngày nhận bài:

08/8/2023

Ngày phản biện:

05/9/2023

Ngày đăng bài:

20/10/2023

Tác giả liên hệ:

Hồ Phạm Thục Lan

Email: thuclanhopham@

pnt.edu.vn

ĐT: 0908273638

Results: Among the 166 identified metabolites in our study, we observed statistically significant differences ($p < 0.0001$) between the osteoporosis and non-osteoporotic groups for 12 specific substances. Of these, two metabolites, L-carnitine and Glycerophosphocholine, exhibited association with low LSBMD, while one metabolite was linked to increase FNBMD. These associations retained statistical significance even after adjusting for factors such as age, BMI, and physical activity.

Conclusion: Our findings suggest that metabolomics profiling holds promise for identifying novel BMD biomarkers, potentially advancing the early diagnosis and prevention of osteoporosis, supplementing the current clinical indices.

Keywords: Osteoporosis, bone mineral density, metabolics, metabolites, LC-MS/MS

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Loãng xương là một trong những bệnh không lây nhiễm (noncommunicable diseases- NCDs) thường gặp ở phụ nữ sau mãn kinh. Nghiên cứu ở Việt Nam [1, 2] cho thấy ở phụ nữ sau mãn kinh cứ trong 100 người thì có khoảng 25 đến 30 người bị loãng xương. Không chỉ phổ biến, loãng xương với hệ quả gãy xương còn dẫn đến một loạt các hậu quả nghiêm trọng, như tăng nguy cơ tử vong [3, 4], tăng nguy cơ gãy xương tái phát [5], giảm chức năng vận động và giảm chất lượng cuộc sống [6, 7]. Các hậu quả đều có thể phòng ngừa được nếu loãng xương được dự đoán sớm và có biện pháp phòng ngừa tích cực. Hiện nay, đo mật độ xương (MĐX) bằng phương pháp Xray hấp thụ năng lượng kép (DXA) vẫn được xem là tiêu chuẩn vàng cho chẩn đoán loãng xương, tuy nhiên có đến > 50% các trường hợp gãy xương lại xảy ra ở bệnh nhân có T-Score > -2,5 [8]. Điều này cho thấy MĐX với đặc điểm chỉ đánh giá được khối lượng xương, sẽ đưa đến tình trạng bỏ sót nhiều bệnh nhân có nguy cơ cao bị gãy xương do suy giảm chất lượng xương. Là một rối loạn chuyển hoá của mô xương, loãng xương liên kết chặt chẽ với các chất chuyển hóa. Do đó, đo đạc các biomarkers đã nổi lên như là một phương pháp tiềm năng giúp xác định sớm các cá nhân có nguy cơ cao bị loãng xương và gãy xương do loãng xương.

Và metabolomics là phương pháp tiếp cận tương đối mới để xác định một cách có hệ thống các chất chuyển hóa trong dịch sinh học, tế bào và mô, đã được nghiên cứu hàng loạt. Đặc biệt, với sự phát triển vượt bậc của khoa học kỹ thuật, hệ thống phân tích sắc ký kết hợp khối phổ đã giúp xác định hầu hết các phức hợp yếu

tổ môi trường, từ chuyên đổi vi sinh của chuyên hóa thực phẩm tới dược phẩm, bao gồm hàng ngàn yếu tố chuyển hóa cùng với các hợp chất khác có cấu trúc hóa học chưa biết như các chất chuyển hóa bậc một, lipid và các chất chuyển hóa trung gian của lipid, steroids, neurosteroids, oxylipin. Trong đó nổi bật lên phương pháp sắc ký lỏng khối phổ (liquid chromatography mass spectrometry - LC-MS) [9] với hệ thống đầu dò 3 tứ cực (Sciex Triple Quad 6600+) được kết hợp giữa hệ thống sắc ký lỏng ExionLC và đầu dò khối phổ 3 tứ cực AB Sciex 6600+ QQQ, có thể định lượng các chất chuyển hóa nồng độ rất thấp với độ chính xác cao, giúp tăng 20 lần khả năng phát hiện chất chuyển hóa so với các phương pháp cũ, cho phép phân tích định tính và định lượng tổ hợp các chất chuyển hóa metabolites trong các bệnh lý mãn tính, khiến metabolomics trở thành công cụ y học tiềm năng giúp sàng lọc, phân tầng bệnh nhân và cá nhân hoá điều trị [10, 11].

Kết quả các nghiên cứu mới đây cho thấy có mối quan hệ mật thiết giữa một số chất chuyển hóa và MĐX với gãy xương do loãng xương [12 - 16]. Chúng tôi tiến hành nghiên cứu này nhằm mục tiêu bước đầu xác định các chất chuyển hóa có liên quan đến MĐX và bệnh loãng xương ở phụ nữ trên 50 tuổi bằng kỹ thuật tối ưu hiện nay là LC-MS/MS.

2. PHƯƠNG PHÁP

Thiết kế nghiên cứu

Nghiên cứu được thiết kế theo mô hình nghiên cứu bệnh chứng. Chúng tôi đề xuất thực hiện các mục tiêu trên bằng cách sử dụng một phần dữ liệu đã có của Nghiên cứu Vietnam

Osteoporosis Study (VOS) [17]. VOS là một nghiên cứu đoàn hệ tiến cứu được thực hiện trên cộng đồng bao gồm hơn 4.200 nam giới và phụ nữ từ 18 tuổi trở lên chủ yếu sống tại Thành phố Hồ Chí Minh. Nghiên cứu được bắt đầu vào năm 2015, dự tính tiến hành trong 10 năm, việc theo dõi được thực hiện 2 năm một lần. Tất cả những người tham gia đều đồng ý ký kết văn bản đồng thuận, đồng ý cho thực hiện lấy mẫu máu lúc đói để thực hiện xét nghiệm sinh hoá và xét nghiệm di truyền, exposome.

Quy trình nghiên cứu đã được Ủy ban nghiên cứu và y đức của bệnh viện Nhân Dân 115 thông qua ngày 6/8/2015 (Số ban hành 297/BV-NCKH).

Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu này được thực hiện như một phần của phase 3 của nghiên cứu VOS đã được thực hiện từ tháng 6/2019 đến tháng 6/2021 trên 2.200 đối tượng từ 18 đến 89 tuổi. Chúng tôi đề xuất tiến hành phân tích bước đầu các chất chuyển hóa trong máu ở phụ nữ từ 50 tuổi trở lên đã được thu thập trong nghiên cứu VOS, bao gồm 2 nhóm đối tượng được chẩn đoán xác định tại thời điểm trên:

- 50 phụ nữ bị loãng xương;
- 50 phụ nữ không mắc loãng xương.

Trong đó các đối tượng sẽ được thu tuyển theo các bước sau:

1. Lập danh sách nữ trên 50 tuổi từ 4.200 đối tượng của nghiên cứu VOS

2. Căn cứ vào tiêu chuẩn chẩn đoán loãng xương khi giá trị T Score của cá nhân đo bằng phương pháp DXA tại vị trí cổ xương đùi hoặc cột sống hoặc toàn khớp hông ≤ -2.5 , lọc ra danh sách các bệnh nhân đạt tiêu chuẩn chẩn đoán trên và không mắc bệnh mãn tính khác. Từ danh sách này, chọn ngẫu nhiên 50 bệnh nhân nữ trên 50 tuổi bị loãng xương bằng phần mềm R.

3. Từ danh sách nữ trên 50 tuổi, lập danh sách các đối tượng không bị mắc bất cứ bệnh mãn tính nào, đặc biệt không loãng xương. Từ danh sách này chọn ngẫu nhiên 50 bệnh nhân nữ trên 50 tuổi không mắc bệnh bằng phần mềm R.

Dữ liệu thu thập

Trong phase 3 từ tháng 06/2019 đến tháng 06/2020, tất cả các đối tượng đồng ý tham gia nghiên cứu sau khi ký phiếu cam kết, đều đã được một bác sĩ hay sinh viên Y khoa trực tiếp

phỏng vấn để thu thập các thông tin lâm sàng và đo lường các chỉ số nhân trắc. Các thông tin được thu thập gồm có:

Chỉ số lâm sàng (dữ liệu có sẵn, được thu thập trong tháng 6/2019 đến tháng 06/2021)

- Thông tin cá nhân: tên họ và địa chỉ liên lạc;
- Dữ liệu liên quan thành phần kinh tế xã hội như tình trạng gia đình, trình độ học vấn, nghề nghiệp.

- Chỉ số nhân trắc: độ tuổi, chiều cao (đo bằng một thước gắn vào tường), trọng lượng (đo bằng một cân điện tử). Chiều cao được tính khi đứng không có mang giày dép. Trọng lượng được đo bằng cân chuẩn với trị số cân nhỏ nhất là 0,1 kg và đối tượng được mặc quần áo nhẹ khi đo. Chỉ số khối cơ thể (body mass index hay BMI) được tính bằng cách lấy trọng lượng (kg) chia cho chiều cao (m) bình phương. Chia nhóm BMI theo 2 nhóm: không béo phì và nhóm béo phì, dựa theo khuyến nghị của Tổ chức Y tế thế giới (WHO) dành riêng cho người châu Á [18, 19].

- Hoạt động thể chất: Dựa vào Phương pháp tiếp cận từng bước của WHO để giám sát các yếu tố nguy cơ của bệnh không lây nhiễm (The WHO Stepwise Approach to Surveillance (Steps) of Non-Communicable Disease Risk Factors), bảng câu hỏi đã được điều chỉnh cho phù hợp với người Việt Nam với 15 câu hỏi để thu thập dữ liệu thời gian dành cho công việc, đi chuyển, hoạt động giải trí và nghỉ ngơi trong một tuần.

- Các thông tin liên quan đến lối sống, thói quen uống rượu bia, chế độ ăn uống và vận động thể dục hàng ngày; thói quen hút thuốc lá: thu thập qua hỏi bệnh sử, đơn vị tính bằng gói năm.

Mật độ xương (dữ liệu có sẵn, được thu thập trong tháng 6/2019 đến tháng 6/2021)

MĐX cổ xương đùi và cột sống được đo bằng máy Hologic Horizon (Hologic Corp, Bedford, MA, USA). Máy phải được chuẩn hóa bằng phantom 30 phút trước mỗi đợt đo. Vị trí đo là xương đùi (FN BMD), xương cột sống (LS BMD), và khớp hông (TH BMD). Chẩn đoán loãng xương được xác định dựa vào tiêu chuẩn của WHO: chỉ số T của cổ xương đùi ≤ -2.5 là loãng xương (osteoporosis); nếu T trong khoảng -2.4 và -1.0 là thiếu xương (osteopenia); và nếu T > -1.0 là mật độ xương bình thường (normal) (Bảng 1).

Bảng 1. Tiêu chuẩn chẩn đoán loãng xương do WHO đề nghị

Chẩn đoán	Tiêu chuẩn
Bình thường	Chỉ số T cao hơn -1 ($T > -1$)
Thiếu xương	Chỉ số T thấp hơn -1 nhưng cao hơn -2.5 (tức $-2.5 < T < -1.1$)
Loãng xương	Chỉ số T thấp hơn hay bằng -2.5 ($T \leq -2.5$)
Loãng xương nặng	Loãng xương + tiền sử gãy xương gần đây.

Phân tích metabolomics:

- Xử lý mẫu:
- Rã đông mẫu trên đá
- Mẫu được đưa vào Vortex 20s trước khi rút 100ul huyết tương
- Trộn MeOH và huyết tương theo tỷ lệ 4:1, sau đó Vortex cho dung dịch đồng nhất trong 30s-60s.

- Ly tâm mẫu ở 4°C trong 10 phút với tốc độ vòng 15000rpm.
- Rút 200ul dung dịch cho vào ống eppendorf
- Cô cạn dung dịch bằng máy cô cạn dung dịch bằng khí Nitơ
- Cho 80ul dd MeOH 100% vào ống eppendorf
- Vortex ống trong 30s để hoà tan hết kết tủa
- Hút hết dung dịch trên cho vào ống vial và ống insert để bắt đầu cho mẫu vào máy chạy.

Phương pháp chạy mẫu:

Các chất chuyển hóa trong huyết tương được phân tích định danh không mục tiêu với phương pháp chạy mẫu IDA (information-dependent acquisition) bằng Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ TripleTOF 6600+ ((LC/MS/MS) và được định danh không mục tiêu với thư viện khối phổ SCIEX-OS (Library score > 70).

Phân tích dữ liệu:

Mô hình hồi quy logistic đa biến được sử dụng để xác định các chất chuyển hoá có liên quan với MĐX tại các vị trí. Các mô hình trên sẽ được điều chỉnh cho tác động của các yếu tố như tuổi, BMI, hoạt động thể chất.

3. KẾT QUẢ

Đặc điểm nhân trắc, lâm sàng của 50 nữ loãng xương và 50 nữ bình thường được trình bày trong Bảng 2. Tuổi trung bình của nhóm bệnh cao hơn nhóm chứng (61,7 so với 58,9) mặc dù sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê. Chiều cao tương đương giữa hai nhóm, tuy nhiên cân nặng và BMI của nhóm bệnh đều thấp hơn nhóm chứng. Cả 2 nhóm có tỉ lệ uống rượu bia thường xuyên tương đương nhưng hoạt động thể chất của nhóm bệnh thấp hơn so với nhóm chứng. Tất cả phụ nữ tham gia nghiên cứu đều đã mãn kinh, với tuổi mãn kinh trung bình là $50,8 \pm 2,6$. Như dự đoán, mật độ xương của nhóm bệnh đều thấp hơn nhóm chứng ở tất cả các vị trí: cổ xương đùi (FN BMD), khớp hông (TH BMD) và cột sống (LS BMD).

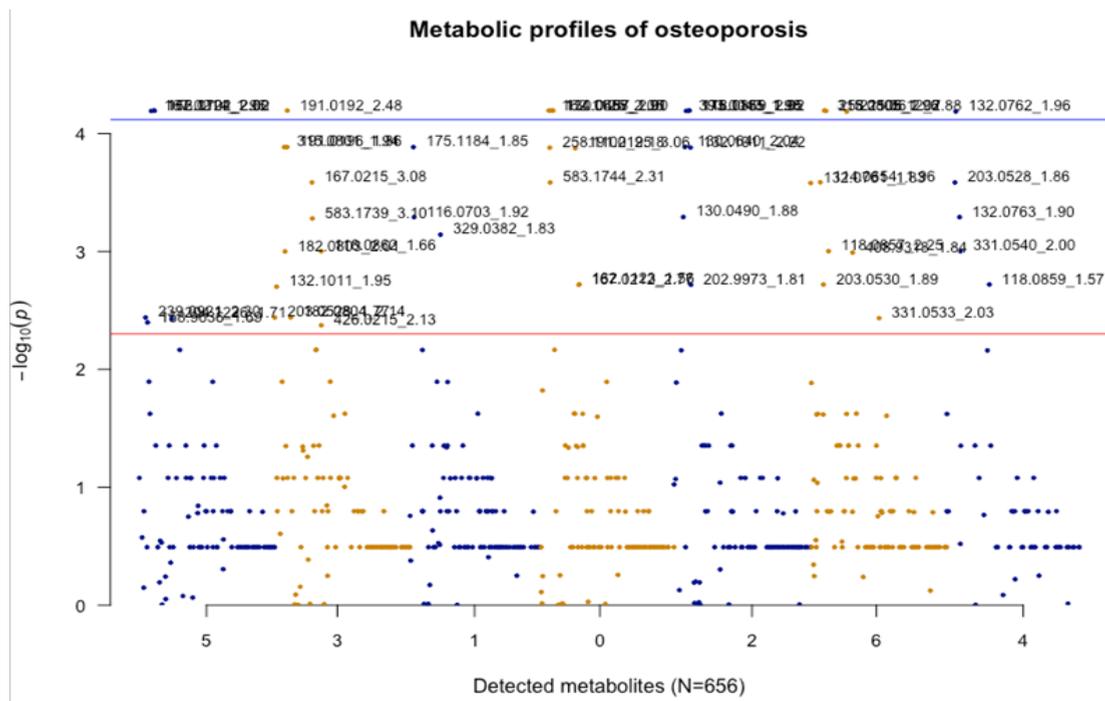
Bảng 2. Đặc điểm nhân trắc, mật độ xương của 100 nữ sau mãn kinh

Đặc điểm	Nhóm chứng	Loãng xương	Giá trị p
Tuổi	58,9 (7,41)	61,7 (7,56)	0.196
Cân nặng (kg)	57,6 (7.63)	49,7 (6.26)	< 0.001
Chiều cao (cm)	153 (5.43)	151 (5.36)	0.118
Uống rượu, bia (%)	3 (6)	2 (4)	0.07
Hoạt động thể chất (MET*lần/tuần)	39,0 (27,1)	24,6 (20,5)	0.02

Đặc điểm	Nhóm chứng	Loãng xương	Giá trị p
BMI	24,6 (2,59)	21,7 (2,18)	< 0.01
FN BMD (g/cm ²)	0,80 (0.14)	0.52 (0.08)	< 0.001
TH BMD (g/cm ²)	0,90 (0.13)	0.63 (0.08)	< 0.001
LS BMD (g/cm ²)	0,96 (0.17)	0.67 (0.05)	< 0.001

Chú thích: Số liệu cho mỗi nhóm bao gồm số trung bình và độ lệch chuẩn (trong ngoặc).

Kết quả phân tích LC-MS/MS ghi nhận được 655 khối phổ (Hình 1) và định danh được 166 chất chuyển hóa ở phụ nữ Việt Nam sau mãn kinh bị loãng xương.



Hình 1. Biểu đồ các chất chuyển hóa tìm thấy ở phụ nữ loãng xương

Chú thích:

- Đường xanh: với giá trị p = 0.001
- Đường đỏ: với giá trị p = 0.05
- Trục tung thể hiện log₁₀ của giá trị p
- Trục hoành thể hiện sự phân bố của các chất chuyển hóa

Chúng tôi tìm thấy 12 chất chuyển hóa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê (p < 0,0001) giữa nhóm loãng xương và nhóm không loãng xương (Bảng 3). Một phần ba của các chất này là chuyển hoá của acid amin (N-Acetyl-L-alanine, L-Arginine, L-Valine và L-Proline).

Bảng 3. Các chất chuyển hóa có sự khác biệt giữa nhóm loãng xương và nhóm chứng

STT	Library Hit	MZ_RT	Giá trị p
1	N-Acetyl-L-alanine	132.0762_1.96	0.0000649
2	Chenodeoxycholic acid	393.0043_1.98	0.0000642
3	7-Methylxanthine	167.0214_1.96	0.0000643
4	Citric acid	191.0192_2.48	0.0000638
5	L-Arginine	175.1185_1.95	0.0000642

STT	Library Hit	M/z_RT	Giá trị p
6	Ranitidine	315.0805_1.96	0.0000638
7	Pipecolic acid	130.0487_2.00	0.0000638
8	L-Carnitine	162.1124_2.00	0.0000638
9	L-Valine	118.0859_2.02	0.0000638
10	L-Proline	116.0702_2.02	0.000064
11	Glycerophosphocholine	258.1106_2.07	0.0000643
12	D-Glucose	225.0612_2.88	0.000065

Chú thích: Library Hit: Tên các chất chuyển hóa được định danh bởi thư viện SCIEX OS (với Library score Fit > 70%)

M/z: Khối lượng trên điện tích của chất

RT (Retention time): Thời gian lưu của mỗi chất chuyển hóa (phút)

Phân loại các chất chuyển hóa của mỗi đối tượng tham gia nghiên cứu là có/không, sử dụng mô hình hồi quy logistic đa biến phân tích mối tương quan của các chất chuyển hóa với mật độ xương ở các vị trí, được điều chỉnh cho độ tuổi, BMI, hoạt động thể chất chúng tôi xác định được 3 chất chuyển hóa có liên quan đến mật độ xương bao gồm 7-Methylxanthine giúp tăng FNBMD và L-Carnitine, Glycerophosphocholine gây giảm LSBMD (Bảng 4).

Bảng 4. Các chất chuyển hoá có liên quan đến loãng xương

Chất chuyển hóa	Vị trí BMD	OR [95% KTC]	Giá trị p
7-Methylxanthine	FNBMD	1,09 (1,02; 1,15)	0.002
L-Carnitine	LSBMD	0,93 (0,84; 0,98)	0.001
Glycerophosphocholine	LSBMD	0,89 (0,69; 0,97)	0.0025

4. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu này, từ 655 khối phổ chúng tôi định danh được 166 chất chuyển hoá hiện diện trong profile nữ loãng xương và 12 chất chuyển hóa có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa 2 nhóm ở nữ > 50 tuổi mắc và không mắc bệnh loãng xương ($p < 0.001$), bao gồm 4 chất amino acid (N-Acetyl-L-alanine, L-Arginine, L-Valine và L-Proline), 3 chất carboxylic acid (Chenodeoxycholic acid, Citric acid, Pipecolic acid), 1 chất lipid (Glycerophosphocholine), 3 chất phức hợp vô cơ (L-Carnitine, D-Glucose và Ranitidine) và 1 chất alkaloid là 7-Methylxanthine. Trong đó có 3 chất chuyển hóa: 7-Methylxanthine, L-Carnitine, Glycerophosphocholine cũng được tìm thấy có mối liên quan với mật độ xương qua phân tích hồi quy, với 7-Methylxanthine giúp tăng FNBMD đang khi L-Carnitine, Glycerophosphocholine gây giảm LSBMD.

Kết quả của chúng tôi về mối tương quan thuận của 7-Methylxanthine và mật độ xương phù hợp với kết quả mới đây của nghiên cứu NHANES trên 1235 người tham gia, ghi nhận paraxanthine một đồng chất của methylxanthine có nồng độ cao ở những người có mật độ xương cao [19]. Tương tự, nghiên cứu TwinUK ở Anh cũng tìm thấy caffein giúp tăng mật độ xương ở tất cả các vị trí [16]. Methylxanthine và paraxanthine là các chất chuyển hóa được tạo ra từ quá trình phân hủy caffein, một chất kích thích tự nhiên có trong cà phê, trà và các loại đồ uống khác. Có rất ít nghiên cứu về vai trò của Methylxanthine trong loãng xương. Tuy nhiên, có một số bằng chứng cho thấy lượng caffein dẫn đến việc sản xuất Methylxanthine, có thể liên quan đến tăng nguy cơ loãng xương, do caffein làm tăng bài tiết canxi qua nước tiểu, góp phần làm mất cân bằng canxi và tăng nguy cơ mất xương [20]. Caffein cũng làm tăng sự

phát triển hủy cốt bào từ các tế bào tạo máu trong tủy xương và giảm mật độ xương ở chuột đang phát triển [21]. Trong khi một nghiên cứu khác trên động vật cho thấy việc tiêu thụ đồ uống chứa caffein không ảnh hưởng đến đặc điểm cấu trúc xương hoặc sức đề kháng của xương ở chuột bình thường mà còn có thể giúp giảm thiểu một phần tác động có hại của lượng canxi thấp đối với khối lượng xương [22]. Nhìn chung, vai trò của 7-Methylxanthine trong cơ chế bệnh sinh của loãng xương vẫn đang tranh cãi. Cần thêm nghiên cứu thiết kế phù hợp để hiểu đầy đủ các cơ chế làm cơ sở cho mối liên hệ này và để xác định Methylxanthine có thể là mục tiêu tiềm năng để phòng ngừa hoặc điều trị loãng xương hay không.

Tương đồng với kết quả của tác giả Zhang và cộng sự trên người Trung Quốc [23] chúng tôi ghi nhận Glycerophosphocholine, một hợp chất cholin tìm thấy trong màng tế bào và cấu trúc xương được tổng hợp từ sự trao đổi lipid và cholin, thấp hơn có ý nghĩa thống kê ở phụ nữ loãng xương, đồng thời có mối tương quan nghịch giữa Glycerophosphocholine (GPC) và LSBMD. Tương tự, một nghiên cứu khác ở Trung Quốc cũng tìm thấy mối tương quan nghịch giữa chất dẫn xuất khác của Glycerophosphocholine là Phosphatidylcholine với mật độ xương [14], đang khi nghiên cứu của Wang J và cộng sự ghi nhận các mối tương quan khác nhau giữa các Phosphatidylcholine (PC) với mật độ xương [13]. Một số nghiên cứu ở châu Á cho thấy cấu hình lipid có liên quan đến mật độ xương và có thể hữu ích cho việc dự đoán loãng xương [24, 25]. Một nghiên cứu ở người da trắng báo cáo nồng độ cao của axit phosphatidylcholine docosahexaenoic (PC DHA) có liên quan đến việc mất FNBMD trong hơn 4 năm ở phụ nữ, trong đó PC là xương sống của PC DHA [26]. Trong khi đa phần các nghiên cứu trên người ghi nhận mối tương quan nghịch giữa GPC/PC với loãng xương, các nghiên cứu trên động vật lại tìm thấy GPC/PC có khả năng tăng sản xuất tế bào gốc osteoblast và đẩy nhanh quá trình tái tạo xương. Nhìn chung, những dữ liệu từ các nghiên cứu trên sẽ hướng dẫn các phân tích dựa trên giả thuyết trong tương lai để hiểu rõ hơn về mối quan hệ giữa các chất chuyển hóa lipid và các đặc điểm của xương.

L-Carnitine là một amino carboxylic acid được tổng hợp trong cơ thể từ lysine và methionine và có vai trò quan trọng trong chuyển hoá lipid; bản chất là một dẫn xuất của các axit béo và có khả năng vận chuyển qua màng mitochondria để được chuyển hóa thành năng lượng. Các nghiên cứu trên động vật cho thấy L-Carnitine có thể ảnh hưởng đến việc hình thành và bảo vệ xương bằng cách tác động đến quá trình tái tạo tế bào gốc xương và tăng sản xuất collagen, một thành phần quan trọng của xương [27]. Ngoài ra, L-Carnitine cũng có thể giảm mức độ viêm và tăng cường chức năng miễn dịch, giúp giảm thiểu nguy cơ viêm xương. Tuy nhiên, kết quả từ nghiên cứu của chúng tôi lại ghi nhận có mối tương quan nghịch giữa L-Carnitine và LSBMD. Mối tương quan nghịch này cũng được tìm thấy ở các nghiên cứu của Trung Quốc [13, 14]. Điều này cho thấy có sự khác biệt lớn giữa in vivo và in vitro về tác động của các chất chuyển hoá trên cơ thể động vật và người.

Kết quả ghi nhận sự khác biệt của các chất chuyển hoá amino acid và carboxylic acid giữa nhóm loãng xương và không loãng xương cũng được báo cáo từ các nghiên cứu lớn trên người da trắng và châu Á [12, 13, 16]. Nhìn chung, các chất chuyển hoá liên quan đến loãng xương được ghi nhận có khác nhau từ các nghiên cứu, điều này có thể giải thích do sự khác biệt từ cỡ mẫu, chủng tộc, độ tuổi, đến kỹ thuật phân tích metabolomic được sử dụng trong các nghiên cứu. Tuy nhiên, các nghiên cứu mới đều đồng thuận để đánh giá toàn diện sức khoẻ xương cần các nghiên cứu cohort lớn khảo sát hệ các chất chuyển hoá cùng với sự tương tác với các hệ khác trong cơ thể như genomic, proteomic và lipidomic [13, 16].

Một số nhược điểm của nghiên cứu của chúng tôi cũng cần được ghi nhận ở đây. Đầu tiên, chúng tôi thực hiện trên cỡ mẫu nhỏ với mỗi nhóm (N = 50). Thứ hai, trong nghiên cứu này chúng tôi không dùng chất chuẩn để định danh và định lượng, mà chúng tôi sử dụng phương pháp IDA - một phương pháp chọn lọc phân tích phổ những chất mang tín hiệu cao nhất, đặc điểm này khiến chúng tôi có thể bỏ lỡ các chất mang tín hiệu thấp nhưng có sự khác biệt đặc hiệu giữa hai nhóm bệnh và chứng. Tuy nhiên, nhược điểm trên có thể khắc phục được phần nào do nghiên cứu này có ưu điểm là đã sử dụng

kỹ thuật tiên tiến, chính xác trong lĩnh vực phân tích khối phổ là dùng hệ thống LC-MS Triple TOF 6600+ với cơ chế LC bằng máy ExionLC và cơ chế ion hóa APCI (Atmospheric Pressure Chemical Ionization), đồng thời chẩn đoán xác định loãng xương qua đo mật độ xương với hệ thống DXA tối ưu Hologic Horizon (Hologic Corp, Bedford, MA, USA).

5. KẾT LUẬN

Kết quả từ nghiên cứu bước đầu dù với qui mô nhỏ vẫn xác định được một số chỉ dấu chuyển hoá của MĐX bao gồm 7-Methylxanthine, L-Carnitine, Glycerophosphocholine, tạo tiền đề cho các nghiên cứu tiếp theo, mở ra tiềm năng hỗ trợ cho các chỉ số lâm sàng hiện tại giúp phát hiện sớm và phòng ngừa loãng xương.

DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ VIẾT TẮT

LC-MS	Liquid Chromatography / Mass Spectrometry (sắc ký lỏng khối phổ)
NCDs	Noncommunicable diseases (bệnh không lây nhiễm)
BMI	Body mass index (chỉ số khối cơ thể)
KTC	Khoảng tin cậy
OR	Odd ratio (tỷ số chênh)
BMD	Bone mineral density (mật độ xương)
DXA	Dual-energy X-ray absorptiometry (phương pháp Xray hấp thụ năng lượng kép)
MĐX	Mật độ xương
VOS	Vietnam Osteoporosis Study (Nghiên cứu loãng xương Việt Nam)
BV	Bệnh viện
FN	Femoral neck (cổ xương đùi)
LS	Lumbar spine (xương cột sống)
TH	Total hip (xương hông)
FPG	Fasting plasma glucose (đường huyết khi đói)
BMA	Bayesian Model Averaging
MET	Metabolic equivalent of task (chỉ số đo cường độ hoạt động thể chất)
M/z	Mass-to-charge ratio (khối lượng trên điện tích của chất)
RT	Retention time (thời gian lưu)
GS/MS	Gas Chromatography / Mass Spectrometry
GPC	Glycerophosphocholine
PC	Phosphatidylcholine
DHA	Docosaheptaenoic
TCA	Chu trình tricarboxylic acid
IDA	Information-dependent Acquisition
APCI	Atmospheric Pressure Chemical Ionization
PC	Pyruvate carboxylase

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ho-Pham L.T., Uyen D T Nguyen, Hoa N Pham, Nguyen D Nguyen, Tuan V Nguyen., Reference ranges for bone mineral density and prevalence of osteoporosis in Vietnamese men and women. *BMC Musculoskelet Disord*, 2011. 12: p. 182.
2. Nguyen, H.T., B. von Schoultz, D. M. T. Pham, D. B. Nguyen, Q. H. Le, D. V. Nguyen, A. L. Hirschberg, and T. V. Nguyen. Peak bone mineral density in Vietnamese women. *Arch Osteoporos*, 2009. 4(1-2): p. 9-15.
3. Giverson, I.M., Time trends of mortality after first hip fractures. *Osteoporos Int*, 2007. 18(6): p. 721-32.
4. Pongchaiyakul, C., Nguyen D Nguyen, Graeme Jones, Jacqueline R Center, John A Eisman, Tuan V Nguyen, Asymptomatic vertebral deformity as a major risk factor for subsequent fractures and mortality: a long-term prospective study. *J Bone Miner Res*, 2005. 20(8): p. 1349-55.
5. Center, J.R., Dana Bliuc, Tuan V Nguyen, John A Eisman, Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women. *JAMA*, 2007. 297(4): p. 387-94.
6. O'Neill, T.W, W Cockerill, C Matthis, et al. Back pain, disability, and radiographic vertebral fracture in European women: a prospective study. *Osteoporos Int*, 2004. 15(9): p. 760-5.
7. Cockerill, W., M Lunt, A J Silman, C Cooper, P Lips, A K Bhalla, J B Cannata, R Eastell, D Felsenberg, C Gennari, O Johnell, J A Kanis, Health-related quality of life and radiographic vertebral fracture. *Osteoporos Int*, 2004. 15(2): p. 113-9.
8. Nguyen, N.D., John A. Eisman, Jacqueline R. Center, Tuan V. Nguyen., Risk factors for fracture in non osteoporotic men and women. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. 92(3): p. 955-62.
9. Xiao, J.F., B. Zhou, and H.W. Ransom, Metabolite identification and quantitation in LC-MS/MS-based metabolomics. *Trends Analyt Chem*, 2012. 32: p. 1-14.
10. Mastrangelo, A. and C. Barbas, Chronic Diseases and Lifestyle Biomarkers Identification by Metabolomics. *Adv Exp Med Biol*, 2017. 965: p. 235-263.
11. Pietzner, M., Isobel D. Stewart, Johannes Raffler, Kay-Tee Khaw, Gregory A. M, Plasma metabolites to profile pathways in noncommunicable disease multimorbidity. *Nat Med*, 2021. 27(3): p. 471-479.
12. Zhao, Q., Hui Shen, Kuan-Jui Su, Ji-Gang Zhang, Qing Tian, Lan-Juan Zhao, Chuan Qiu, Qiang Zhang, Timothy J Garrett., Metabolomic profiles associated with bone mineral density in US Caucasian women. *Nutr Metab (Lond)*, 2018. 15: p. 57.
13. Wang, J., Yan D, Zhao A, Hou X, Zheng X, Chen P, Bao Y, Jia W, Hu C, Zhang ZL, Jia W., Discovery of potential biomarkers for osteoporosis using LC-MS/MS metabolomic methods. *Osteoporos Int*, 2019. 30(7): p. 1491-1499.
14. Mei, Z., Dong X, Qian Y, Hong D, Xie Z, Yao G, Qin A, Gao S, Hu J, Liang L, Zheng Y, Su J, Association between the metabolome and bone mineral density in a Chinese population. *EBioMedicine*, 2020. 62: p. 103111.
15. Nielson, C.M., Wiedrick J, Shen J, Jacobs J, Baker ES, Baraff A, Piehowski P, Lee CG, Baratt A, Petyuk V, et al., Identification of Hip BMD Loss and Fracture Risk Markers Through Population-Based Serum Proteomics. *J Bone Miner Res*, 2017. 32(7): p. 1559-1567.
16. Moayyeri, A., Cheung CL, Tan KC, Morris JA, Cerani A, Mhoney RP, Richards JB, Hammond C, Spector TD, Menni C. Metabolomic Pathways to Osteoporosis in Middle-Aged Women: A Genome-Metabolome-Wide Mendelian Randomization Study. *J Bone Miner Res*, 2018. 33(4): p. 643-650.
17. Ho-Pham, L.T. and T.V. Nguyen, The Vietnam Osteoporosis Study: Rationale and design. *Osteoporos & Sarcopenia*, 2017. 3(2): p. 90-97.
18. Consultation, W.H.O.E., Appropriate body-mass index for Asian populations and its implications for policy and intervention strategies. *Lancet*, 2004. 363(9403): p. 157-63.
19. Luo, J., Mingjiang Liu., Zhong Zheng, Association of urinary caffeine and caffeine

- metabolites with bone mineral density in children and adolescents. *Medicine (Baltimore)*, 2022. 101(49): p. e31984.
20. Yeh, J.K. and J.F. Aloia, Differential effect of caffeine administration on calcium and vitamin D metabolism in young and adult rats. *J Bone Miner Res*, 1986. 1(3): p. 251-8.
21. Liu SH, Chen C, Yang RS, Yen YP, Yang YT, Tsai C. Caffeine enhances osteoclast differentiation from bone marrow hematopoietic cells and reduces bone mineral density in growing rats. *J Orthop Res*, 2011. 29(6): p. 954-60.
22. Brun LR, Brance ML, Lombarte M, Maher MC, Di Loreto VE, Rigalli A. Effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) on Histomorphometry, Biomechanics, and Densitometry on Bones in the Rat. *Calcif Tissue Int*, 2015. 97(5): p. 527-34.
23. Zhang X, Xu H, Li GH, Long MT, Cheung CL, Vasan RS, Hsu YH, Kiel DP, Liu CT. Metabolomics Insights into Osteoporosis Through Association With Bone Mineral Density. *J Bone Miner Res*, 2021. 36(4): p. 729-738.
24. Qi H, Bao J, An G, Ouyang G, Zhang P, Wang C, Ying H, Ouyang P, Ma B, Zhang Q. Association between the metabolome and bone mineral density in pre- and postmenopausal Chinese women using GC-MS. *Mol Biosyst*, 2016. 12(7): p. 2265-75.
25. Cabrera D, Kruger M, Wolber FM, Roy NC, Totman JJ, Henry CJ, Cameron-Smith D, Fraser K. Association of Plasma Lipids and Polar Metabolites with Low Bone Mineral Density in Singaporean-Chinese Menopausal Women: A Pilot Study. *Int J Environ Res Public Health*, 2018. 15(5).
26. Farina EK, Kiel DP, Roubenoff R, Schaefer EJ, Cupples LA, Tucker KL. Plasma phosphatidylcholine concentrations of polyunsaturated fatty acids are differentially associated with hip bone mineral density and hip fracture in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. *J Bone Miner Res*, 2012. 27(5): p. 1222-30.
27. Colucci S, Mori G, Vaira S, Brunetti G, Greco G, Mancini L, Simone GM, Sardelli F, Koverech A, Zallone A, Grano M. L-carnitine and isovaleryl L-carnitine fumarate positively affect human osteoblast proliferation and differentiation in vitro. *Calcif Tissue Int*, 2005. 76(6): p. 458-65.