

Human chorionic gonadotropin (hCG)

Bác sĩ: Hà Huy

Group: Kiến thức Sản-Phụ khoa

Tổng quan

Human chorionic gonadotropin (hCG) là một dấu ấn sinh học quan trọng để phát hiện có thai và các rối loạn liên quan đến thai kỳ, cũng như là một dấu ấn khối u hữu ích, đặc biệt trong quản lý bệnh nguyên bào nuôi và u tế bào mầm. hCG cũng là một thành tố của một số xét nghiệm sàng lọc trước sinh đối với hội chứng Down.

Ở dạng dị thể "nguyên vẹn" thông thường, hCG được sản xuất gần như chỉ bởi nguyên bào nuôi, đặc biệt là bởi đơn bào nuôi và tế bào nuôi hợp bào của nhau thai trưởng thành và bởi các khối u nguyên bào nuôi thai kỳ.

hCG thuộc họ hormone glycoprotein, cùng với hormone tạo hoàng thể (LH), hormone kích thích nang trứng (FSH) và hormone kích thích tuyến giáp (TSH). Các hormone này là các dị vòng có chung một tiểu đơn vị alpha và các mức độ tương đồng khác nhau trong các tiểu đơn vị beta của chúng.

hCG ở dạng dị thể nguyên vẹn được sản xuất gần như chỉ bởi nguyên bào nuôi, đặc biệt là bởi nguyên đơn bào nuôi và tế bào nuôi hợp bào của nhau thai, u nguyên bào nuôi thai kỳ (GTN) và khối u tế bào mầm (GCT). Khoảng 30% khối u không phải nguyên bào nuôi, cũng như một số mô bình thường sản xuất một lượng thấp free beta hCG hơn là dạng dị thể có hoạt tính sinh học nguyên vẹn.

Beta hCG rất giống với tiểu đơn vị của LH, giống nhau 80 đến 85 phần trăm trình tự axit amin (AA). Tuy nhiên, peptide C (CTP) tận cùng của beta hCG, AA 121 đến 145 là duy nhất cho hCG. Bốn gen và hai alen mã hóa beta hCG được cho là đã phát triển từ một gen LH-beta của tổ tiên đơn lẻ bằng cách sao chép và đột biến gen. Cả LH và hCG (ở dạng dị thể) có thể liên kết và kích hoạt thụ thể LH (do đó có thuật ngữ thụ thể hCG/LH). Do đó, hCG ngoại sinh có thể được sử dụng như một chất thay thế cho LH để kích hoạt sự rụng trứng trong kỹ thuật hỗ trợ sinh sản.

Bác sĩ Hà Huy – Group: Kiến thức Sản-Phụ khoa

Chuyển hóa và các dạng đồng phân hCG

Ngoài hCG nguyên vẹn thông thường (alpha/beta heterodimer), các dạng biến thể khác cũng xuất hiện trong thai kỳ và một số bệnh. Sự phân hủy enzym của hCG bởi các protease mô hoặc tuần hoàn tạo ra các dạng khác nhau. Khoảng 80% hCG được chuyển hóa ở gan và 20% ở thận. Sự thoái giáng trong các tế bào ống lượn gần cũng dẫn đến sự hình thành các tiểu đơn vị, mảnh lõi tiểu đơn vị beta hCG (hCGbcf), là dạng chiếm ưu thế trong nước tiểu. Các biến thể phổ biến bao gồm:

- Free beta hCG
- Free alpha hCG
- Nicked hCG
- Niked beta hCG
- Core fragment beta hCG
- hCG sunfat (hCG-S)

• Trong thai kỳ

Trong những tuần đầu tiên của thai kỳ, hCG dị thể nguyên vẹn là dạng hCG chiếm ưu thế trong máu mẹ, chiếm >95% tổng lượng hCG trong tuần hoàn của mẹ. Free beta hCG chiếm < 10% tổng lượng hCG trong máu mẹ ở giai đoạn rất sớm của thai kỳ và giảm xuống khoảng 0,5 đến 2% sau tuần thứ 8. Tuy nhiên, trong nước tiểu, tỷ lệ free beta hCG cao, chiếm từ 9 đến 40% tổng hCG, phần còn lại bao gồm chủ yếu là hCGbcf, chất chuyển hóa cuối cùng của quá trình phân hủy hCG và là dạng chiếm ưu thế trong nước tiểu.

Độ thanh thải hCG sau phá thai hoặc thai đủ tháng được mô tả tốt nhất bằng mô hình ba pha với thời gian bán hủy trung bình là 3,6, 18 và 53 giờ. Điều này xấp xỉ thời gian bán hủy từ hai đến ba ngày. Trong thai kỳ bình thường, giá trị cao nhất vào khoảng 20.000 đến 100.000 UI/L; do đó, hCG huyết thanh thường âm tính sau bốn đến sáu tuần sau khi mang thai.

• Liên quan đến các khối u

Free beta hCG đã được phát hiện trong gần như tất cả các khối u biểu mô phổ biến được nghiên cứu cho đến nay, nhưng tỷ lệ rất khác nhau. Phù hợp với mối tương quan rõ ràng với loại khối u và mức độ xâm lấn của nó trong phổ của khối u nguyên bào nuôi, nhiều báo cáo chứng minh rằng biểu hiện mô hoặc free beta hCG có liên quan đến tiên lượng xấu ở hầu hết các bệnh ung thư.

Free beta hCG không kích hoạt thụ thể LHCGR, nhưng một số bằng chứng chỉ ra rằng nó có hoạt động thúc đẩy tăng trưởng trong ung thư.

Một số nghiên cứu đã gợi ý rằng xét nghiệm nồng độ trong huyết thanh free beta hCG và xác định tỷ lệ phản ứng miễn dịch hCG toàn phần (tỷ lệ phần trăm free beta hCG) trong quản lý GTN có thể cung cấp thêm thông tin so với việc đo tổng hCG đơn thuần. Tỷ lệ chính xác phụ thuộc vào các xét nghiệm được sử dụng, nhưng dựa trên nồng độ mol, tỷ lệ xấp xỉ 3 đến 5 phần trăm là điển hình của GTN xâm lấn của thai trứng nguy cơ thấp. Bệnh nhân ung thư màng đệm được xác nhận về mặt mô học có tỷ lệ cao hơn, khoảng 10%. Dạng GTN có khả năng xâm lấn nhất là khối u nguyên bào nuôi vị trí nhau thai, có tỷ lệ free beta hCG cao nhất, khoảng 20%.

Tiểu đơn vị alpha tự do của hCG (alpha hCG)

Khi mang thai alpha hCG chiếm <10% tổng lượng hCG lưu hành trong ba tháng đầu nhưng tăng lên trong suốt thai kỳ, đạt 30 đến 60% khi đủ tháng.

Mảnh lõi tiểu đơn vị beta hCG (hCGbcf)

hCGbcf là sản phẩm cuối cùng của quá trình chuyển hóa hCG. Nó bao gồm các gốc AA của tiểu đơn vị beta tự do của hCG 6 đến 40 và 55 đến 92 được liên kết bởi năm liên kết disulfide

● Khi mang thai

hCGbcf là dạng hCG chiếm ưu thế trong nước tiểu từ tuần thứ năm của thai kỳ trở đi. Nó có thể được phát hiện trong huyết tương nhưng nồng độ chỉ xấp xỉ 0,01% so với hCG

● Liên quan đến các khối u

Nước tiểu của bệnh nhân có khối u sản xuất hCG cũng chủ yếu là hCGbcf. hCGbcf đã được tìm thấy trong thai kỳ, người bình thường, tuyến yên, nốt nguyên bào nuôi vị trí nhau bám, ung thư nguyên bào nuôi và mô từ các ung thư biểu mô khác nhau. Trong các bệnh ung thư không phải nguyên bào nuôi, nồng độ hCGbcf trong nước tiểu phản ánh nồng độ của free beta free beta hCG trong huyết thanh là một dấu hiệu tốt hơn một chút.

Nhiều xét nghiệm hCG toàn phần có trên thị trường không phát hiện ra hCGbcf hoặc các sản phẩm giáng hóa ít được xác định rõ khác bao gồm hCG được phân cắt và free beta hCG thiếu phần đầu cuối carboxyl (hCG-CTP). Các xét nghiệm không xác định được hCGbcf không phù hợp để xác định hCG nước tiểu

hCG hyperglycosyl hóa

Thuật ngữ "hCG hyperglycosyl hóa", trong khi ban đầu được sử dụng để mô tả hCG có chứa carbohydrate phức hợp tăng lên, ngày càng có nghĩa là hCG được phát hiện bằng xét nghiệm sử dụng kháng thể B152. Điều này gây hiểu nhầm vì B152 đặc biệt phát hiện một biến thể epitope glycosyl hóa duy nhất của hCG (Ser 132 được thay thế bằng chuỗi bên glycan "lỗi loại 2"), thường được viết tắt là hCG-h, và cho rằng sự phức tạp và không đồng nhất của quá trình glycosyl hóa hCG. Bằng cách sử dụng các xét nghiệm dựa trên B152, hiện không còn bán trên thị trường, các kết quả sau đây đã được chứng minh:

● Khi mang thai

hCG-h là dạng hCG chủ yếu trong 4 đến 5 tuần đầu tiên của thai kỳ ở cả huyết thanh và nước tiểu. Nồng độ thấp có liên quan đến sảy thai và tiền sản giật. Nồng độ cao cũng được báo cáo là có liên quan đến việc mang thai mắc hội chứng Down.

Sự biểu hiện mạnh mẽ của hCG-h bởi nguyên bào nuôi xâm lấn cùng với sự liên quan của nồng độ huyết thanh thấp trong sảy thai sớm và tiền sản giật gợi ý rằng hCG-h có thể là dấu hiệu sinh học cho sự hiện diện của chức năng "bình thường" nguyên bào nuôi, xuất hiện trong giai đoạn đầu của thai kỳ.

Trong một nghiên cứu, N-glycan của hCG được phát hiện là đa dạng hơn so với báo cáo trước đây và bao gồm các cấu trúc bị chia đôi, cấu trúc sau này có nhiều trong nước tiểu thu thập muộn (20 đến 21 tuần tuổi thai) so với sớm (thai từ 6 đến 9 tuần) Quan sát này mâu thuẫn với các báo cáo trước đây rằng tình trạng tăng đường huyết trong thời kỳ đầu mang thai có liên quan đến lượng N-glycan cao hơn so với giai đoạn cuối của thai kỳ.

● Thai trứng

hCG glycoforms trong nước tiểu được thu thập từ những bệnh nhân thai trứng toàn phần có ít cấu trúc bị chia đôi và tăng sialyl hóa so với hCG glycoforms trong thai kỳ bình thường.

● Khối u nguyên bào nuôi

Cole và các nhà nghiên cứu liên quan đã báo cáo rằng hCG-h có thể phân biệt tình trạng lành tính, bệnh nguyên bào nuôi tự thoái triển với ung thư biểu mô màng đệm hoặc GTN ác tính, trong đó nó chiếm 7 đến 100% tổng khả năng phản ứng miễn dịch của hCG, với độ chính xác từ 96 đến 100% nhưng những phát hiện này chưa được xác nhận bởi các nhóm khác.

● Các khối u khác

hCG-h là một đồng dạng chính trong nhiều tình trạng ác tính bao gồm ở buồng trứng, cổ tử cung, đại tràng, bàng quang, phổi. In vivo, kháng thể B152 ức chế sự phát triển khối u ở chuột được tiêm dòng tế bào ung thư màng đệm, cho thấy vai trò của hCG-h trong việc thúc đẩy sự phát triển của nguyên bào nuôi biến đổi. Các thí nghiệm trong ống nghiệm đã chỉ ra rằng việc bổ sung hCG-h vào các dòng tế bào ung thư biểu mô màng đệm sẽ thúc đẩy sự phát triển và xâm lấn. Ngoài ra, bằng chứng về tác dụng tạo mạch mạnh mẽ của hCG và gần đây là hCG-h, cũng đã được công bố.

Bất chấp những tuyên bố về xét nghiệm có nguồn gốc từ B152 đối với ITA hoặc hCG-h, xét nghiệm này không được phổ biến rộng rãi, vì vậy nhiều phát hiện chưa được các nhóm độc lập xác nhận. Việc giải thích các phép đo là một vấn đề khó khăn do các xét nghiệm B152 rất khó hiệu chỉnh (không có tiêu chuẩn phù hợp) và các phạm vi tham chiếu để xác định kết quả dương tính chưa được xác định. Các phép đo hCG nối tiếp bằng cách sử dụng các xét nghiệm thông thường để kiểm tra xem nồng độ hCG có tồn tại hay đang tăng lên hay không vẫn là phương pháp được Liên đoàn Sản phụ khoa Quốc tế (FIGO) khuyến nghị trong chẩn đoán u nguyên bào nuôi.

hCG từ tuyến yên

hCG được phân lập từ tuyến yên chứa khoảng một nửa hàm lượng axit sialic của hCG thai kỳ, và một số glycan bị sunfat hóa (hCG-S). hCG-S có 50 đến 65 phần trăm hoạt tính sinh học của hCG trong nước tiểu thai kỳ. Nồng độ hCG-S trong huyết tương tăng lên trong thời kỳ mãn kinh và dao động, đối với phần lớn bệnh nhân, từ 0,5 -5 UI/L, mặc dù thỉnh thoảng quan sát thấy nồng độ lên tới 10-15UI/L ở phụ nữ mãn kinh, trạng thái suy sinh dục, đặc biệt là trong thời kỳ mãn kinh/tiền mãn kinh hoặc sau hóa trị liệu. Điều quan trọng là phải nhận ra sự hiện diện của nó, vì mức độ thấp có thể bị hiểu nhầm là dấu hiệu mang thai sớm hoặc bệnh ác tính

Xét nghiệm hCG trong lab.

Các tiêu chuẩn của WHO đối với xét nghiệm định lượng hCG

Thuốc thử tham chiếu quốc tế cho các dạng hCG quan trọng nhất: hCG dị thể có hoạt tính sinh học nguyên vẹn (hCG), nicked hCG (hCGn), free alpha hCG, free beta hCG, nicked beta hCG (hCGbn) và đoạn lõi free beta hCG (hCGbcf) đã được xây dựng. Các tiêu chuẩn này được thành lập bởi một nhóm công tác của Liên đoàn Hóa học Lâm sàng Quốc tế (IFCC) và từ Tổ chức Y tế Thế giới (WHO). Về cơ bản, tiêu chuẩn trên được xây dựng để hỗ trợ phát triển và tiêu chuẩn

hóa các xét nghiệm hCG (giúp cải thiện khả năng so sánh giữa các phép đo giữa các xét nghiệm) nhưng cũng hữu ích để mô tả khả năng phản ứng của các xét nghiệm hCG có trên thị trường. Không có tiêu chuẩn quốc tế nào về hCG hyperglycosyl hóa (hCG-h) được phát triển vì thành phần carbohydrate của hCG do các khối u sản xuất có thể thay đổi đáng kể, vì vậy việc xác định nguồn thích hợp cho tiêu chuẩn như vậy là một vấn đề.

IFCC đã thông qua một danh pháp để mô tả các đồng dạng và khuyến nghị sử dụng nó để giúp cải thiện sự thông nhất trong thực hành và nghiên cứu khoa học.

Một trong những vấn đề truyền thông tồn tại lâu nhất liên quan đến xét nghiệm hCG là việc sử dụng các cách diễn đạt sai lệch "xét nghiệm beta-hCG" hoặc "xét nghiệm hCG-beta" để mô tả các xét nghiệm hCG khi mang thai thông thường. Sự nhầm lẫn nảy sinh sau khi Vaitukaitis và các đồng nghiệp phát triển xét nghiệm đặc hiệu đầu tiên cho hCG, họ đã tạo ra một kháng huyết thanh đặc hiệu cho thỏ, "SB6," bằng cách tiêm chủng cho thỏ free beta hCG. Khi phân phối, kháng huyết thanh được đánh dấu "xét nghiệm tiểu đơn vị beta", khiến người nhận nhầm lẫn nghĩ rằng chỉ phát hiện tiểu đơn vị beta tự do của hCG. Trên thực tế, hầu hết các xét nghiệm miễn dịch hCG huyết thanh hiện nay đều phát hiện cả hCG nguyên vẹn, free beta hCG và hầu hết các dạng biến thể. Xét nghiệm hCG huyết thanh định kỳ hoặc xét nghiệm miễn dịch thai kỳ được mô tả rõ ràng hơn đơn giản là "xét nghiệm hCG" hoặc để làm rõ "xét nghiệm hCG tổng số" để tránh nhầm lẫn về xét nghiệm chỉ đo cụ thể free beta hCG.

Các loại xét nghiệm

Tất cả các xét nghiệm miễn dịch thương mại thông thường để định lượng hCG huyết thanh đều là xét nghiệm "đo miễn dịch" kiểu sandwich. Các xét nghiệm này sử dụng hai kháng thể: một kháng thể pha rắn để bắt giữ các phân tử hCG từ mẫu (kháng thể bắt giữ) và một kháng thể thứ hai được đánh dấu bằng enzym, fluorophor hoặc chất đánh dấu phát quang phát hiện hCG đã bắt giữ (kháng thể dò tìm). Mỗi kháng thể nhận ra các vị trí hoặc "epitop" khác nhau trên chất phân tích đích, cả hai đều phải có mặt trên phân tử được phát hiện. Vì các kháng thể có thể được sử dụng với lượng lớn nên các xét nghiệm này nhanh hơn và có giới hạn phát hiện thấp hơn so với các xét nghiệm cạnh tranh, đồng thời độ chính xác của chúng thường cao hơn. Các xét nghiệm miễn dịch này thường có thể đo nồng độ hCG trong huyết thanh ở mức thấp từ 1-2 UI/L.

Xét nghiệm miễn dịch phóng xạ (RIA) là xét nghiệm định dạng cạnh tranh trong đó nguyên tắc đo lường là cạnh tranh giữa một lượng cố định và đã biết của chất phân tích được đánh dấu bằng tia phóng xạ và chất phân tích mẫu để có một số lượng vị trí gắn kháng thể cố định.

Các xét nghiệm hCG "tổng" thường quy và các chất đồng dạng

Kiến thức về tính đặc hiệu của kháng thể đơn dòng (mAbs) được sử dụng để xây dựng các xét nghiệm liên quan đến thai kỳ thông thường có bán trên thị trường hoặc cái gọi là xét nghiệm hCG "tổng" đã tạo điều kiện thuận lợi cho việc thiết kế các xét nghiệm hCG được cải tiến, bao gồm các xét nghiệm cụ thể cho từng xét nghiệm đồng dạng riêng lẻ. Có thể thiết lập các xét nghiệm sandwich bằng cách chọn mAbs có ái lực thích hợp và nhận dạng epitope để sử dụng theo cặp cho phép đo hCG tổng phổ rộng hoặc xác định đồng dạng đã chọn.

Xét nghiệm miễn dịch định lượng "hCG toàn phần" trong huyết thanh ở lab được sử dụng trong thai kỳ bình thường, bệnh liên quan đến thai kỳ và ung thư.

Đối với các mục đích ung thư học, tốt hơn là nên nhận dạng rộng và cân bằng tất cả các dạng đồng phân để phát hiện cả hCG nguyên vẹn và free beta hCG, cũng như các dạng mảnh và nicked hCG. Đánh dấu phản ứng dưới hoặc quá mức, đặc biệt là với free beta hCG, có thể là nguồn gốc lớn nhất của sự thay đổi giữa các xét nghiệm trong các phép đo hCG huyết thanh trong ung thư.

Để phát hiện và theo dõi các thai kỳ bình thường, xét nghiệm huyết thanh phát hiện hCG nguyên vẹn và free beta hCG là đủ. Các xét nghiệm nước tiểu sẽ phát hiện hCG nguyên vẹn, free beta của hCG và hCGbcf. Tốc độ tăng của hCG theo thời gian và hình ảnh siêu âm là cơ sở để chẩn đoán thai không rõ vị trí, thai ngoài tử cung và thai lưu. Phép đo hCG hoặc free beta hCG là một thành tố của một số xét nghiệm sàng lọc trước sinh đối với hội chứng Down.

Để phát hiện có thai, hCG thường được phát hiện trong nước tiểu bằng các dụng cụ thử thai bán định lượng chuyên dụng tại nhà. Các xét nghiệm đơn giản này, hoàn toàn dựa trên nguyên tắc dòng chảy bên, bao gồm một dải bán xấp với một vùng được tẩm kháng thể phản ứng hCG được ghép với các hạt latex có màu và vùng thứ hai nơi kháng thể thứ hai được gắn vào màng. Hầu hết các xét nghiệm thử thai bằng nước tiểu đều cho kết quả chính xác, nhưng một số phương pháp nhạy cảm với kết quả sai lệch do sự hiện diện của hCGbcf dư thừa. Điều này rất có thể xảy ra khi thai được 7 đến 12 tuần khi nồng độ hCGbcf trong nước tiểu có thể vượt quá 2 đến 20 lần và có

thể bão hòa khả năng liên kết của chất đánh dấu hoặc kháng thể bắt giữ dẫn đến kết quả que thử âm tính giả.

Sự khác biệt giữa các xét nghiệm

Sự khác biệt giữa các phương pháp trong kết quả xét nghiệm hCG do tính không đồng nhất của chất phân tích và sự thay đổi về độ đặc hiệu của xét nghiệm là một vấn đề lâu dài và được công nhận rộng rãi. Điều này đặc biệt đúng đối với các mẫu lấy từ bệnh nhân mắc bệnh nguyên bào nuôi trong thai kỳ, khối u tế bào mầm và các khối u khác, trong đó có thể có tỷ lệ cao hơn các tiểu đơn vị tự do, các mảnh thoái hóa một phần và các biến thể glycosyl hóa bất thường của hCG.

Giải thích các kết quả xét nghiệm

Giá trị tham khảo cho xét nghiệm máu và nước tiểu

- Xét nghiệm máu.

Giới hạn tham chiếu trên (URL) đối với hCG huyết thanh, thường được lấy từ các mẫu bệnh nhân nữ không mang thai, được sử dụng để xác định tình trạng có thai và tăng nồng độ hCG bệnh lý. Nó cũng được sử dụng như một giới hạn quyết định cho việc ngừng hóa trị và phát hiện tái phát trong việc kiểm soát khối tân sinh nguyên bào nuôi trong thai kỳ. Do sự khác biệt về hiệu chuẩn và tính đặc hiệu giữa các phương pháp khác nhau, nên xác định các giá trị tham chiếu riêng biệt cho từng xét nghiệm của nhà sản xuất. Các nhà sản xuất thường xác định URL cho các xét nghiệm hCG của họ. URL được xác định bởi Liên đoàn Hóa học Lâm sàng Quốc tế (IFCC), được định nghĩa là bách phân vị 97,5, nhưng các nhà sản xuất riêng lẻ có thể sử dụng một định nghĩa khác về giới hạn tham chiếu. Hơn nữa, giới hạn là khác nhau đối với các xét nghiệm dành riêng cho hCG nguyên vẹn hoặc free beta hCG và hCG toàn phần (thông thường gồm hCG nguyên vẹn và free beta hCG).

Phạm vi tham chiếu cụ thể đối với hCG nguyên vẹn, free beta hCG và hCGbcf trong huyết thanh và nước tiểu của nam giới và nữ giới trước và sau mãn kinh đã được xác định bằng cách sử dụng các xét nghiệm đo huỳnh quang miễn dịch có độ nhạy cao dành riêng cho các dạng riêng biệt. Họ chỉ ra rằng ở nam giới và phụ nữ không mang thai, nồng độ của free beta hCG thấp hơn nồng độ của hCG nguyên vẹn, và không giống như hCG, nồng độ không tăng theo tuổi. Ở phụ

nữ, nồng độ hCG sau mãn kinh có thể lên tới 5 đến 10 UI/L, cao hơn 5 đến 10 lần so với nồng độ của free beta hCG.

- **Xét nghiệm nước tiểu**

Nồng độ trong nước tiểu của hCG nguyên vẹn và free beta hCG tương tự như nồng độ trong huyết thanh. Tuy nhiên, hCG toàn phần trong nước tiểu cũng bao gồm hCGbcf, thường có nồng độ tương tự như nồng độ của hCG nguyên vẹn. Kết quả là tổng số hCG trong nước tiểu thường cao hơn trong huyết thanh vì nồng độ hCGbcf chỉ thoáng qua trong huyết thanh.

Tổng nồng độ hCG trong nước tiểu, mặc dù tương quan chặt chẽ với nồng độ trong huyết thanh vẫn có sự thay đổi đáng kể do sự không đồng nhất của các dạng đồng phân hiện diện và tác dụng pha loãng của thận. Do đó, việc xác định hCG trong nước tiểu không phản ánh chính xác tình trạng bệnh do sản xuất hCG như xét nghiệm huyết thanh

Các nguyên nhân không phải bệnh lý gây tăng hCG nhẹ

- **HCG từ tuyến yên trong thời kỳ mãn kinh hoặc đang hóa trị.**

Phụ nữ mãn kinh và tiền mãn kinh đôi khi tăng nồng độ hCG trong huyết thanh; mức tăng lên tới 25 UI/L đã được báo cáo, nhưng mức khoảng 7 đến 15 UI/L là phổ biến hơn. Nguồn gốc của hCG là tuyến yên, và sự tiết hCG sau mãn kinh theo nhịp sinh học và phản ánh quá trình tiết ra hormone tạo hoàng thể (LH). hCG được sản xuất từ tuyến yên chứa khoảng một nửa hàm lượng axit sialic của hCG thai kỳ và một số glycan bị sunfat hóa (hCG-S).

Thiếu ức chế hormone giải phóng gonadotropin (GnRH) khi nồng độ steroid sinh dục giảm trong thời kỳ mãn kinh và tiền mãn kinh dẫn đến tăng LH và nồng độ hormone kích thích nang trứng (FSH), đi kèm với việc tiết ra nồng độ hCG thấp. Vì hCG có thể bị ức chế với nồng độ estradiol và tương đương với LH, nên những phát hiện này cho thấy rằng hCG có nguồn gốc từ tuyến yên (hCG-S). Cơ chế này được cho là do sự phiên mã ở mức độ thấp từ các gen mã hóa beta hCG nằm trên cùng một nhiễm sắc thể và gần với gen LH. Do đó, khi quá trình phiên mã của LH được điều hòa mạnh do thiếu sự ức chế phản hồi GnRH bởi các steroid sinh dục ở trạng thái mãn kinh hoặc thiếu năng sinh dục, thì quá trình phiên mã của tiểu đơn vị beta liền kề của hCG cũng được tạo ra một phần. Việc sản xuất alpha hCG không được điều hòa và nó được sản xuất quá mức tương đối bởi các tế bào tuyến sinh dục tuyến yên, bất kỳ protein tiểu đơn vị beta

được dịch mã nào cũng luôn được liên kết với tiểu đơn vị alpha và được tiết ra dưới dạng dị thể nguyên vẹn.

Điều quan trọng là phải nhận ra sự hiện diện của hCG tuyến yên, vì mức độ thấp có thể được hiểu nhầm là mang thai sớm hoặc bệnh ác tính. Có thể dễ dàng xác định vấn đề bằng cách đo LH ở những bệnh nhân này, như trong đánh giá thời kỳ mãn kinh. Mức độ LH tăng gần hoặc cao hơn giới hạn tham chiếu cho thời kỳ mãn kinh cho thấy nguồn hCG có khả năng là từ tuyến yên. Nếu cần thiết, có thể sử dụng estradiol để ức chế hCG và xác nhận nguồn hCG là tuyến yên chứ không phải bệnh lý .

Hóa trị cũng gây ức chế tuyến sinh dục và hCG tuyến yên đôi khi được phát hiện ngay sau khi điều trị, khi nồng độ LH thường tăng lên mức mãn kinh hoặc cao hơn. Do đó, sau hóa trị liệu, hCG tăng nhẹ sau khi điều trị thành công các khối u sản xuất hCG có thể không cho thấy bệnh kháng thuốc hoặc tái phát, và do đó, điều đặc biệt quan trọng là phải làm rõ nguồn hCG ở những bệnh nhân này . Cơ chế sản xuất hCG nguyên vẹn bởi tuyến yên tương tự như trong thời kỳ mãn kinh và nguồn tuyến yên có thể được xác nhận bằng cách sử dụng cùng một phương pháp được mô tả ở trên (tức là bằng cách đo LH/FSH và xác nhận sự ức chế bằng cách sử dụng estradiol) .

- **Tiêm hCG**

hCG được sử dụng ngoại sinh sẽ dẫn đến nồng độ tăng cao có thể bị hiểu sai là sản xuất nội sinh. Ví dụ, các vận động viên có thể tiêm hCG để kích thích sản xuất steroid tuyến sinh dục. Tiêm hCG được sử dụng để kích thích quá mức buồng trứng có kiểm soát trong kỹ thuật hỗ trợ sinh sản và kỹ thuật này phải được xem xét khi theo dõi bệnh nhân để xem liệu có mang thai hay không. Sử dụng hCG trước khi lấy chọc trứng dẫn đến nồng độ hCG trong huyết thanh nằm trong khoảng từ 60 đến 300 mUI/mL và được loại bỏ hoàn toàn trong vòng hai tuần sau khi sử dụng. Vì thời gian chọc trứng là khoảng 12 ngày sau khi dùng hCG, nên nồng độ không ảnh hưởng đến việc thử thai đúng thời điểm.

- **Bệnh nguyên bào nuôi không hoạt động trong thai kỳ**

Bệnh nguyên bào nuôi trong thai kỳ không hoạt động là một biến thể của bệnh nguyên bào nuôi có nồng độ hCG ở mức độ thấp, dai dẳng sau (các) đợt bệnh nguyên bào nuôi trước đó. Tuy nhiên, sự tồn tại của bệnh nguyên bào nuôi trong thai kỳ không hoạt động như một thực thể bệnh riêng biệt đã không được chấp nhận rộng rãi và rất khó xác minh vì thiếu xét nghiệm thương mại

đôi với hCG hyperglycosyl hóa (hCG-h) và không có dấu hiệu trên các phương diện chẩn đoán hình ảnh

Tăng hCG gia đình

Tăng hCG gia đình là một tình trạng di truyền hiếm gặp (tỷ lệ hiện mắc ước tính 1:60.000) trong đó nồng độ hCG trong huyết thanh và nước tiểu tăng liên tục trong ít nhất vài năm. Nồng độ hCG thường thấp (10 đến 200 UI/L) nhưng đủ cao để nghi ngờ có thai hoặc ung thư. Điều quan trọng là phải nhận ra tình trạng này vì nó có thể dẫn đến việc điều trị không cần thiết.

Tăng hCG gia đình là một chẩn đoán loại trừ khi các nguyên nhân khác gây tăng hCG đã được loại trừ. Chẩn đoán được xác nhận bằng phát hiện hCG huyết thanh tăng tương tự ở những người thân có mối quan hệ huyết thống thế hệ thứ nhất.

Phân tích nguyên nhân dẫn đến kết quả sai, nhiều liên quan đến kháng thể

Các xét nghiệm miễn dịch, mặc dù thường hiệu quả, nhưng đôi khi dễ mắc các lỗi phân tích. Việc xét nghiệm hCG sai hoặc không chính xác bằng xét nghiệm miễn dịch có thể gây ra những hậu quả bất lợi nghiêm trọng, đặc biệt là trong trường hợp nghi ngờ có khối u. Biện pháp đầu tiên trong việc giảm thiểu nguy cơ gây hại cho bệnh nhân là nghi ngờ kết quả không phù hợp với hình ảnh lâm sàng và sau đó liên hệ với phòng thí nghiệm ngay lập tức.

Các lỗi phân tích phát sinh không phải do lỗi của con người hoặc máy móc (ví dụ: dán nhãn sai mẫu bệnh phẩm hoặc lỗi pipet), mà thường là do các đặc tính của chính mẫu thử, đặc biệt khó phát hiện. Các lỗi phụ thuộc vào bệnh nhân hoặc mẫu như vậy trong các xét nghiệm miễn dịch là do sự xuất hiện lẻ tẻ trong huyết thanh của các chất phản ứng chéo tương tác và liên kết với kháng thể của xét nghiệm hoặc với chính chất phân tích đích. Các chất này được mô tả là chất cản trở xét nghiệm và chúng có thể do một số yếu tố có thể gây ra: phổ biến nhất là do cái gọi là kháng thể vật chủ "dị thể" có thể liên kết và liên kết ngang với các kháng thể bắt giữ và phát hiện của các xét nghiệm sandwich gây ra sai số. Trong khi hầu hết các nhiễu dẫn đến phép đo dương tính giả,

Các yếu tố cản trở gây ra hầu hết các kết quả dương tính giả hoặc tăng giá

Kháng thể dị thể

Kháng thể dị thể là kháng thể xuất hiện tự nhiên có ái lực thấp với nhiều kháng nguyên. Sự hiện diện của các kháng thể dị thể trong huyết thanh bệnh nhân có thể gây ra các phép đo sai vì

chúng có thể liên kết trực tiếp (và do đó cản trở) các kháng thể bắt giữ và/hoặc kháng thể phát hiện được sử dụng trong xét nghiệm miễn dịch kiểu sandwich. Kết quả dương tính giả do kháng thể dị thể bắt giữ liên kết ngang trực tiếp và kháng thể phát hiện trong xét nghiệm sandwich được ước tính là loại nhiễu xét nghiệm miễn dịch xảy ra thường xuyên nhất.

Các kháng thể chống động vật đặc trưng cho loài người là một loại phụ của kháng thể dị thể. Chúng được phân biệt với các kháng thể dị thể đa đặc hiệu vì chúng được xác nhận là đã được tạo ra khi tiếp xúc với các kháng nguyên động vật và chúng có ái lực cao hơn. Do ái lực lớn hơn, chúng thường gây ra lỗi đo lường lớn hơn so với các kháng thể dị thể khác. Kháng thể chống chuột ở người (HAMA) thường xuất hiện do tiếp xúc với kháng thể chuột do điều trị, ngày càng được sử dụng nhiều hơn trong các quy trình chẩn đoán hình ảnh và trong các liệu pháp kháng thể tái tổ hợp. Các kháng thể tái tổ hợp như vậy hầu hết là khảm (vùng Fc của chuột được thay thế bằng Fc của người, có hậu tố -ximab) hoặc đã được nhân bản hóa (>95% trình tự của chuột được thay thế bằng trình tự của người, có hậu tố -zumab) để giúp giảm nguy cơ phát triển kháng thể chống chuột.

Các yếu tố dạng thấp là một tập hợp con của các kháng thể dị thể (thường là globulin miễn dịch M [IgM] nhưng có thể là bất kỳ phân nhóm nào) là các tự kháng thể có ái lực với vùng Fc của IgG của chính bệnh nhân. Chúng được tìm thấy ở 5 đến 10 phần trăm dân số nói chung và ở khoảng 70 phần trăm bệnh nhân được chẩn đoán mắc bệnh viêm khớp dạng thấp.

Trong thực tế hiện nay, các nhà sản xuất xét nghiệm miễn dịch thương mại thường bổ sung globulin miễn dịch động vật vào dung dịch đệm xét nghiệm của họ để giảm thiểu nguy cơ can thiệp kháng thể dị thể. HAMA có thể được nhắm mục tiêu cụ thể bằng cách bổ sung IgG chuột không miễn dịch dư thừa làm mục tiêu mỗi nhử ngăn chặn các kháng thể dị thể. Điều này đã làm giảm tần suất nhiễu, nhưng trong một số trường hợp, việc chặn có thể bị quá tải. Ngoài ra, việc sử dụng các mảnh Fab trong xét nghiệm miễn dịch thay vì toàn bộ phân tử Ig có thể làm giảm sự can thiệp của heterophile. Hầu hết các kháng thể dị thể gây nhiễu đều có ái lực với vùng Fc của kháng thể IgG1 của chuột (kiểu mẫu phổ biến nhất được sử dụng trong xét nghiệm miễn dịch) nhưng ít hoặc không có ái lực với F(Ab')₂-các mảnh vỡ, kháng thể của chuột nhất với các thể khác, hoặc kháng thể từ các động vật khác. Theo đó, các xét nghiệm miễn dịch hiện đại thường được thiết kế bằng cách sử dụng các đoạn globulin miễn dịch tái tổ hợp thiếu vùng Fc. Trong một

nghiên cứu lớn trên 11.000 mẫu huyết thanh được đo bằng cách sử dụng xét nghiệm bánh sandwich được xây dựng bằng cách sử dụng kháng thể đơn dòng của chuột thiếu vùng Fc của kháng thể bất giữ, tần suất nhiễu đã giảm từ 4 xuống 0,1 phần trăm.

Kháng thể kháng hCG

Kháng thể kháng hCG rất có thể không phải là nguyên nhân thường xuyên gây ra lỗi xét nghiệm. Tự kháng thể hCG đã được báo cáo ở một bệnh nhân nữ đã được tiêm hCG để điều trị vô sinh. Các kháng thể gây ra kết quả hCG dương tính giả ở mức 40 UI/L do macro-hCG (phức hợp đại phân tử lớn của tự kháng thể và hCG). Macro-hCG được xác định bằng cách kết tủa bằng polyetylen glycol và lọc gel trên cột Superdex. Kháng thể kháng hCG can thiệp đã được chứng minh là IgM bằng phương pháp tách chiết miễn dịch.

Các yếu tố cản trở gây ra hầu hết các kết quả âm tính giả hoặc thấp giả

Bổ thể, protein khác

Nhiều loại protein khác, bao gồm bổ thể, lysozyme và paraprotein, đã được chứng minh là can thiệp vào phản ứng kháng nguyên phân tích kháng thể của thuốc thử. Bổ thể liên kết với đoạn Fc, đặc biệt là của phân nhóm IgG2, làm giảm khả năng liên kết của chúng và do đó gây ra kết quả thấp giả trong xét nghiệm sandwich và kết quả cao giả trong xét nghiệm cạnh tranh. Do đó, các kháng thể phân nhóm IgG2 hiếm khi được sử dụng bởi các nhà sản xuất xét nghiệm ngày nay.

Các bước xác định can thiệp kháng thể

Điều quan trọng là bác sĩ lâm sàng phải nhận thức được khả năng xảy ra can thiệp liên quan đến kháng thể và cần liên hệ với phòng thí nghiệm nếu kết quả không phù hợp với bức tranh lâm sàng tổng thể. Có một số xét nghiệm đơn giản trong phòng thí nghiệm có thể được sử dụng để xác nhận sự hiện diện của các chất can thiệp vào xét nghiệm miễn dịch hCG, nhưng vì tất cả chúng đều có nhược điểm nên nên kết hợp các phương pháp.

Bốn phương pháp điển hình được sử dụng để xác định nhiễu trong phép đo xét nghiệm miễn dịch là (1) sử dụng xét nghiệm thay thế, (2) phân tích nước tiểu và huyết thanh theo cặp, (3) thực hiện nghiên cứu tuyến tính và (4) đo hCG trước và sau khi bổ sung một thuốc thử chặn.

Phân tích bằng cách sử dụng xét nghiệm miễn dịch khác

Việc phát hiện kết quả khác rõ rệt, thường thấp hơn, bằng cách sử dụng xét nghiệm miễn dịch khác thứ hai là biện pháp đơn giản nhất để xác định nhiều. Lý tưởng nhất là cả hai xét nghiệm được sử dụng để điều tra nhiều phải có khả năng phản ứng đồng dạng tương tự nhau.

Cách tiếp cận này có lỗ hổng mà sự thống nhất giữa các xét nghiệm có thể, mặc dù hiếm khi xảy ra, do sự can thiệp ảnh hưởng đến cả hai xét nghiệm một cách tương tự. Do đó, nếu các xét nghiệm phù hợp nhưng khả năng gây nhiễu xét nghiệm vẫn còn cao, thì nên tiến hành xét nghiệm bổ sung.

Lập lại phân tích bằng cách sử dụng các mẫu nước tiểu và huyết thanh

Vì các kháng thể quá lớn để có thể lọc qua cầu thận vào nước tiểu, nên kết quả thấp hơn nhiều trong mẫu nước tiểu là dấu hiệu cho thấy kết quả dương tính giả trong huyết thanh. Tuy nhiên, cách tiếp cận này không đáng tin cậy trong trường hợp nồng độ hCG huyết thanh thấp ≤ 50 UI/L vì sự hình thành sinh lý của nước tiểu bị pha loãng cũng có thể tạo ra kết quả âm tính.

Thực hiện các nghiên cứu về độ tuyến tính và độ phục hồi

Việc pha loãng một mẫu đáng ngờ với bộ hiệu chuẩn 0 hoặc dung dịch đệm pha loãng được cung cấp theo bộ kit không tuyến tính (nghĩa là kết quả không giảm theo hệ số pha loãng) có thể cho thấy hiện tượng nhiễu dị thể. Khi sử dụng phương pháp pha loãng, sự hiện diện của các kháng thể ưa dị thể thường dẫn đến nồng độ rõ ràng giảm đáng kể (thấp hơn kết quả mong đợi), vì các tác nhân ngăn chặn bị lấn át trước đây trong dung dịch xét nghiệm trở nên hiệu quả khi chất ưa dị thể được pha loãng.

Thực hiện các thí nghiệm thu hồi và/hoặc chặn thuốc thử

Các thí nghiệm phục hồi được thực hiện bằng cách thêm một lượng chất phân tích hCG đã biết (ví dụ: sử dụng chất chuẩn xét nghiệm) vào mẫu huyết thanh nghi ngờ và xét nghiệm lại. Sự hiện diện của các chất can thiệp loại dị thể được xác nhận bằng khả năng phục hồi kém (thấp hơn kết quả mong đợi); phục hồi quá mức cho thấy có sự can thiệp của macro-hCG hoặc bởi các thành phần huyết thanh khác. Ngoài ra, có thể xác định nhiễu bằng cách (1) thêm mẫu bệnh phẩm vào ống chặn heterophile; các phép đo của các mẫu sau đó được so sánh, hoặc (2) thêm thuốc thử chặn vào mẫu và phát hiện kết quả khác biệt đáng kể. Nếu kết quả vẫn không thay đổi, thì việc bổ sung thêm chất ngăn chặn và sử dụng kết hợp các chất ngăn chặn từ các nguồn động vật khác nhau có thể giúp tránh khả năng các chất ngăn chặn bị quá tải.

Prozone effect

Hiệu ứng prozone hay "high-dose hooking" xảy ra trong các xét nghiệm đo miễn dịch kiểu bánh sandwich khi nồng độ chất phân tích cao đến mức độ bão hòa của các vị trí gắn kết kháng thể ngăn cản sự hình thành của bánh sandwich Ab-hCG-Ab*. Vấn đề này xảy ra với các xét nghiệm hCG ở nồng độ vượt quá 5000 đến 20.000 UI/L, ngưỡng chính xác khác nhau tùy theo xét nghiệm.

Nhiều máy phân tích huyết thanh định lượng tự động nhận ra điều này và pha loãng mẫu và lặp lại phép phân tích; tuy nhiên hCG đặc biệt là trong bệnh nguyên bào nuôi thai kỳ, có thể đạt đến mức cao đến mức độ pha loãng tự động đặt trước là không đủ. Cái gọi là xét nghiệm bánh sandwich một bước, trong đó không có bước rửa giữa việc thêm mẫu và kháng thể phát hiện, thường có ngưỡng móc liều cao thấp hơn so với xét nghiệm hai bước vì rửa sau khi ủ mẫu bằng rửa kháng thể bắt giữ loại bỏ kháng nguyên tự do dư thừa

Vấn đề về kết quả âm tính giả phổ biến hơn trong các xét nghiệm que thử thai mẫu nước tiểu, vì không chỉ không có pha loãng hoặc rửa tự động mà còn là dạng hCGbcf trong nước tiểu chiếm ưu thế đôi khi không được cả hai kháng thể sử dụng trong xét nghiệm nhận ra.