

Định lượng nồng độ huyết thanh 10 cytokin ở bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống giai đoạn sớm

Measuring the serum concentration of 10 cytokines in early-stage systemic sclerosis patients

Vũ Nguyệt Minh^{*,**}, Lê Hữu Doanh^{*,**},
Trần Hậu Khang^{*,**}

^{*}Trường Đại học Y Hà Nội
^{**}Bệnh viện Da liễu Trung ương

Tóm tắt

Mục tiêu: Định lượng nồng độ các cytokin trong huyết thanh của bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống và đánh giá tương quan giữa nồng độ cytokin với biểu hiện lâm sàng. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu cắt ngang trên bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống giai đoạn sớm, đánh giá lâm sàng và định lượng nồng độ huyết thanh của 7 cytokin TNF, MCP-1, TGF- β 1, IL-6, BAFF, IL-10, và IL-2. **Kết quả:** Nghiên cứu thu tuyển được 32 bệnh nhân (21 thể lan tỏa, 11 thể giới hạn). MCP-1, TGF- β 1, IL-6, và BAFF được phát hiện ở hầu hết bệnh nhân trong nghiên cứu, các cytokin khác chỉ được phát hiện ở 31,3% - 40,6% bệnh nhân với nồng độ thấp. Không phát hiện được mối liên quan giữa nồng độ của 7 cytokin với thương tổn dày da nặng, tăng áp lực động mạch phổi, nuốt nghẹn, bất thường tổng phân tích nước tiểu, và tổn thương cơ. Nồng độ IL-10 trên ngưỡng phát hiện liên quan tới nguy cơ loét đầu chi và bệnh phổi kẽ nặng. Nồng độ MCP-1 $\geq$ 389,2pg/ml và nồng độ IL-10 trên ngưỡng phát hiện liên quan tới nguy cơ đau khớp. **Kết luận:** Định lượng nồng độ cytokin huyết thanh có giá trị trong việc làm rõ cơ chế bệnh sinh và có thể gợi ý các biện pháp điều trị mới hiệu quả cho xơ cứng bì hệ thống.

Từ khóa: Xơ cứng bì hệ thống, cytokin.

Summary

Objective: To measure the serum concentration of cytokines in systemic sclerosis patients (SSc) and to evaluate the relationship between cytokine concentration and clinical presentation. **Subject and method:** A cross-sectional study was conducted in early-stage SSc patients, evaluating clinical presentation and measuring serum concentration of 7 cytokines: TNF, MCP-1, TGF- β 1, IL-6, BAFF, IL-10, and IL-2. **Result:** 32 patients (21 diffuse SSc, 11 limited SSc) were recruited. MCP-1, TGF- β 1, IL-6, and BAFF were detected in almost all patients, other cytokines were detected in 31.3% - 40.6% of the patients, with low concentration. There was no relationship between the concentration of these cytokines and severe skin thickening, pulmonary arterial hypertension, difficulty swallowing, abnormal urinalysis, and muscle injury. IL-10 above detection threshold was associated with digital ulcer. MCP-1 $\geq$ 389.2pg/ml and IL-10 above detection threshold were associated with severe interstitial lung disease and joint pain. **Conclusion:**

Ngày nhận bài: 30/10/2018, ngày chấp nhận đăng: 12/12/2018

Người phản hồi: Vũ Nguyệt Minh, Email: minhnguyet93@yahoo.com - Trường Đại học Y Hà Nội

Measuring the serum concentration of cytokines can help clarify the pathogenesis and suggest effective novel therapies for SSc.

Keywords: Systemic sclerosis, cytokin.

1. Đặt vấn đề

Xơ cứng bì hệ thống (XCBHT) là một bệnh tự miễn, đặc trưng bởi bệnh lý mạch máu và viêm mức độ thấp, kéo dài gây hậu quả cuối cùng là lắng đọng collagen tại các tổ chức. Điều trị XCBHT chưa thực sự hiệu quả vì cơ chế bệnh sinh còn chưa được làm rõ. Quan điểm hiện tại cho rằng bệnh sinh của XCBHT bao gồm một mạng lưới cytokin tương tác phức tạp và gây rối loạn hoạt động của các tế bào miễn dịch, dẫn tới biểu hiện viêm và xơ hóa [1].

Nhiều cytokin đã được nghiên cứu trong XCBHT, như yếu tố hoại tử u (TNF), protein hóa ứng động bạch cầu đơn nhân (MCP-1), yếu tố hoạt hóa tế bào B (BAFF), yếu tố tăng trưởng chuyển dạng (TGF)- β 1, và các interleukin (IL) như IL-6, IL-10, và IL-2. Tuy nhiên, ít nghiên cứu đã tiến hành trên bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm, trong khi đây là giai đoạn quan trọng để khảo sát nồng độ cytokin trong huyết thanh [2].

Do vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu trên bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm với mục tiêu: *Định lượng nồng độ các cytokin trong huyết thanh và đánh giá tương quan giữa nồng độ cytokin với biểu hiện lâm sàng.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

2.1.1. Thiết kế

Nghiên cứu cắt ngang được tiến hành tại Bệnh viện Da liễu Trung ương trên bệnh nhân được chẩn đoán XCBHT theo tiêu chuẩn ACR/EULAR 2013, có thời gian bị bệnh ≤ 36 tháng, và chưa điều trị. Tiêu chuẩn loại trừ bao gồm: Hội chứng overlap, có bệnh lý nhiễm trùng da hoặc ung thư da, phụ nữ có thai, và phụ nữ đang cho con bú. Bệnh nhân đủ tiêu chuẩn đồng ý tham gia nghiên cứu sẽ được tiến hành các quy trình nghiên cứu.

2.1.2. Quy trình

Bệnh nhân nghiên cứu được đánh giá thương tổn của XCBHT bằng lâm sàng và cận lâm sàng: (1) Thương tổn dày da (điểm da Rodnan có sửa đổi (mRSS)); (2) loét ngón tay; (3) bệnh phổi kẽ (chụp cắt lớp vi tính ngực độ phân giải cao); (4) tăng áp lực động mạch phổi (siêu âm tim qua thành ngực); (5) bất thường tổng phân tích nước tiểu; (6) nuốt nghẹn; (7) đau khớp và (8) tổn thương cơ (đau cơ, định lượng creatinine phosphokinase, và điện cơ kim).

Để định lượng nồng độ các cytokin trong huyết thanh, mẫu huyết thanh của bệnh nhân sẽ được thu thập, lưu giữ, và bảo quản theo quy trình chuẩn của Bệnh viện Da liễu Trung ương, sau đó chuyển sang Nhật Bản. Nồng độ 7 cytokin TNF, MCP-1, TGF- β 1, IL-6, BAFF, IL-10, và IL-2 được định lượng tại Bệnh viện Kanazawa - Nhật Bản bằng phương pháp đếm tế bào dòng, sử dụng bộ kit BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokine Kit của hãng Becton, Dickinson and Company.

2.2. Phương pháp

Phương pháp chọn mẫu: Chọn mẫu thuận tiện.

Cỡ mẫu: XCBHT có tỷ lệ mắc thấp, do vậy chúng tôi thu tuyển tất cả các bệnh nhân đủ tiêu chuẩn trong thời gian nghiên cứu.

2.3. Thu thập và phân tích số liệu

Số liệu được thu thập vào mẫu bệnh án nghiên cứu thiết kế sẵn, sau đó được nhập liệu và phân tích trên phần mềm SPSS 18.0 (IBM Corporation, Hoa Kỳ). Các số liệu được biểu diễn dưới dạng tỷ lệ hoặc trung bình/trung vị. Số liệu về đặc điểm chung được so sánh giữa hai nhóm XCBHT thể lan tỏa và thể giới hạn bằng kiểm định chi bình phương hoặc Mann-Whitney. Tương quan giữa nồng độ cytokin và các biểu

hiện lâm sàng được khảo sát bằng hồi quy logistic đa biến.

2.4. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được chấp thuận tiến hành của Hội đồng Nghiên cứu sinh - Trường Đại học Y Hà Nội và Bệnh viện Da liễu Trung ương.

3. Kết quả

Từ tháng 12/2014 đến tháng 12/2017, nghiên cứu thu tuyển được 32 bệnh nhân, trong

đó, 21 (65,6%) bệnh nhân được chẩn đoán XCBHT thể lan tỏa và 11 (34,4%) bệnh nhân thể giới hạn. Bảng 1 trình bày đặc điểm chung của bệnh nhân nghiên cứu. Không có khác biệt về đặc điểm nhân khẩu học, thời gian bị bệnh, và các biểu hiện lâm sàng (trừ điểm mRSS) giữa hai nhóm thể lan tỏa và thể giới hạn. Điểm mRSS cao hơn có ý nghĩa thống kê ở nhóm thể lan tỏa.

Bảng 1. Đặc điểm chung

Đặc điểm	Chung (n = 32)	Thể lan tỏa (n = 21)	Thể giới hạn (n = 11)	p*
Tuổi khởi phát (TB $\pm$ SD)	49,6 $\pm$ 12,0	47,5 $\pm$ 11,9	53,5 $\pm$ 11,6	0,2
Giới, nam (n, %)	9 (28,1%)	6 (28,6%)	3 (27,3%)	0,9
Thời gian bị bệnh (tháng, TB $\pm$ SD)	10,8 $\pm$ 8,1	10,2 $\pm$ 7,3	12,0 $\pm$ 9,8	0,6
Lâm sàng				
mRSS (TB $\pm$ SD)	13,9 $\pm$ 8,7	17,7 $\pm$ 8,1	6,6 $\pm$ 3,7	0,0001
Loét đầu chi (n, %)	6 (18,8%)	4 (19,0%)	2 (18,2%)	0,67
ILD (n, %)	25 (78,1%)	16 (76,2%)	9 (81,8%)	0,54
PAH (n, %)	13 (40,6%)	7 (33,3%)	6 (54,5%)	0,22
Bất thường TPTNT (n, %)	7 (21,9%)	5 (23,8%)	2 (18,2%)	0,54
Nuốt nghẹn (n, %)	5 (15,6%)	4 (19,0%)	1 (9,1%)	0,43
Đau khớp (n, %)	18 (56,3%)	13 (61,9%)	5 (45,5%)	0,30
Tổn thương cơ (n, %)	8 (25%)	5 (23,8%)	3 (27,3%)	0,56

TB: Trung bình, SD: Độ lệch chuẩn; mRSS: Điểm da của Rodnan có sửa đổi, ILD: Bệnh phổi kẽ, PAH: Tăng áp lực động mạch phổi, TPTNT: Tổng phân tích nước tiểu.

*: Khác biệt giữa hai nhóm XCBHT thể lan tỏa và thể giới hạn được so sánh bằng kiểm định Mann-Whitney với biến liên tục hoặc kiểm định chi bình phương với các tỷ lệ.

Tất cả 32 bệnh nhân đều được xét nghiệm nồng độ 7 cytokin trong huyết thanh. Trong đó, MCP-1, TGF- β 1, IL-6, và BAFF được phát hiện ở hầu hết các bệnh nhân. Những cytokin khác có tỷ lệ phát hiện được trong huyết thanh từ 31,3% - 40,6%. Bảng 2 trình bày nồng độ của 7 cytokin.

Bảng 2. Nồng độ của 7 cytokin trong huyết thanh

Cytokin (pg/ml)	Trên ngưỡng phát hiện (n, %)	Trung bình $\pm$ SD	Trung vị	Min - Max
TNF	13 (40,6%)	8,1 $\pm$ 17,9	8,97	0 - 68

MCP-1	31 (96,9%)	673,6 ± 702,7	488	0 - 2730
TGF-β1	30 (93,8%)	28367,0 ± 18037,7	28669	0 - 65800
IL-6	32 (100%)	301,1 ± 950,5	9	2 - 4541
BAFF	32 (100%)	2148,1 ± 979,4	1977	430 - 4820
IL-10	10 (31,3%)	3,1 ± 14,9	0,925	0 - 85
IL-2	12 (37,5%)	3,1 ± 9,9	2,5	0 - 54

Phân tích hồi quy logistic đa biến không phát hiện được mối liên quan giữa các cytokin trong nghiên cứu với thương tổn dày da nặng, tăng áp lực động mạch phổi, nuốt nghẹn, bất thường tổng phân tích nước tiểu, và tổn thương cơ.

Bảng 3 trình bày kết quả hồi quy logistic đa biến của tổn thương loét đầu chi, bệnh phổi kẽ nặng, và đau khớp. Chỉ có nồng độ IL-10 trên ngưỡng phát hiện liên quan tới nguy cơ tổn thương loét đầu chi. IL-10 trên ngưỡng phát hiện và MCP-1 ≥ 389,2pg/ml liên quan tới nguy cơ tổn thương bệnh phổi kẽ nặng và đau khớp. Ngoài ra, nam giới cũng tăng nguy cơ gặp đau khớp.

Bảng 3. Tương quan của nồng độ cytokin với biểu hiện lâm sàng bằng hồi quy logistic đa biến

Cytokin	Loét đầu chi	Bệnh phổi kẽ nặng	Đau khớp
Giới nam			0,04 (0,002 - 0,9)
Thể lan tỏa	1,9 (0,1 - 64,7)	17,9 (0,7 - 494,2)	14,7 (0,9 - 243,6)
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,4 (0,01 - 12,7)	0,2 (0,01 - 4,7)	0,3 (0,02 - 3,4)
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	0,1 (0,004 - 5,9)	1,9 (0,1 - 40,0)	2,2 (0,2 - 25,2)
MCP-1 (≥ 389,2 pg/ml)	8,5 (0,2 - 365,9)	42,1 (1,1 - 1643,1)	30,8 (1,4 - 673,1)
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	10,1 (0,2 - 424,2)	0,03 (0 - 3,7)	2,5 (0,1 - 53,3)
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	1,0 (0,03 - 37,5)	0,02 (0 - 1,1)	0,8 (0,1 - 7,5)
BAFF (≥ 1997,1 pg/mL)	4,7 (0,1 - 197,1)	0,1 (0,01 - 1,7)	2,5 (0,3 - 23,5)
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	76,9 (1,2 - 4911,6)	236,2 (1,4 - 38664,9)	23,2 (1,0 - 514,8)
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	2,4 (0,04 - 126,6)	0,1 (0,01 - 2,4)	0,9 (0,1 - 7,3)

Giá trị trong bảng: Tỷ số chênh OR (khoảng tin cậy 95%). Giá trị in đậm: Có ý nghĩa thống kê.

4. Bàn luận

Bệnh nhân trong nghiên cứu có tuổi khởi phát 49,6 ± 12,0 và đa số là nữ. Kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây. Tuy nhiên, thời gian bị bệnh của bệnh nhân trong nghiên cứu là

10,8 ± 8,1 tháng, ngắn hơn so với các nghiên cứu trên thế giới có cùng mục tiêu [2], [4].

Đặc điểm nhân khẩu học và lâm sàng giữa hai nhóm thể lan tỏa và thể giới hạn không có khác biệt, trừ điểm mRSS cao hơn ở bệnh nhân thể lan tỏa vì phân biệt XCBHT thể lan tỏa và thể giới hạn dựa trên mức độ lan rộng của thương tổn da. Kết quả này phù hợp với các báo cáo trước đây [5].

Trong 7 cytokin, chỉ có MCP-1, TGF- β 1, IL-6, và BAFF được phát hiện ở hầu hết bệnh nhân. MCP-1 có vai trò trung tâm trong quá trình viêm cấp và mạn tính bằng cách kiểm soát dòng đại thực bào vào tổ chức, tăng cao trong giai đoạn đầu và suốt 6 năm đầu của bệnh [4]. TGF- β 1 có hoạt động tiền xơ mạnh, kích thích sự tổng hợp collagen và đóng vai trò trung tâm trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT [6]. IL-6 được chứng minh là cytokin tham gia vào nhiều vị trí nhất trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT. Một số nghiên cứu cho thấy nồng độ IL-6 tăng cao trên bệnh nhân XCBHT do nguyên bào sợi sản xuất ra [7]. BAFF kích thích lympho B và duy trì thời gian sống của lympho B trong tủy xương. Nồng độ BAFF tăng cao trong giai đoạn sớm cho thấy kích thích lympho B xuất hiện rất sớm trong cơ chế bệnh sinh của bệnh [8].

Phân tích hồi quy logistic đa biến cho thấy chỉ có IL-10 và MCP-1 có liên quan tới một số tổn thương. IL-10 liên quan tới tổn thương loét đầu chi, bệnh phổi kẽ nặng, và đau khớp. IL-10 là một cytokin chống viêm và có khả năng kéo dài tuổi thọ của lympho B. Như vậy, IL-10 có khả năng tăng phản ứng trước các thương tổn viêm trên bệnh nhân XCBHT [9]. MCP-1 ngược lại, có thể là khởi đầu cho các phản ứng viêm cấp và mạn tính tại tổ chức và liên quan đến mức độ nặng của các thương tổn nội tạng trên [4]. Cần phải nghiên cứu sâu hơn trên mô hình thực nghiệm để xác định rõ hơn quan hệ nhân quả giữa hai cytokin này với thương tổn nội tạng.

5. Kết luận

MCP-1, TGF- β 1, IL-6, và BAFF được phát hiện ở hầu hết bệnh nhân trong nghiên cứu. Nồng độ IL-10 trên ngưỡng phát hiện liên quan

tới nguy cơ loét đầu chi và bệnh phổi kẽ nặng. Nồng độ MCP-1 $\geq 389,2\text{pg/ml}$ và nồng độ IL-10 trên ngưỡng phát hiện liên quan tới nguy cơ đau khớp. Định lượng nồng độ cytokin huyết thanh có giá trị trong việc làm rõ cơ chế bệnh sinh và gợi ý các biện pháp điều trị mới hiệu quả cho XCBHT.

Tài liệu tham khảo

1. Baraut J, Michel L, Verrecchia F et al (2010) *Relationship between cytokine profiles and clinical outcomes in patients with systemic sclerosis*. Autoimmun Rev 10(2): 65-73.
2. Hasegawa M, Fujimoto M, Matsushita T et al (2011) *Serum chemokine and cytokine levels as indicators of disease activity in patients with systemic sclerosis*. Clin Rheumatol 30(2): 231-237.
3. Antonelli A, Ferri C, Fallahi P et al (2008) *CXCL10 (alpha) and CCL2 (beta) chemokines in systemic sclerosis-a longitudinal study*. Rheumatology (Oxford) 47(1): 45-49.
4. Matsushita T, Hasegawa M, Hamaguchi Y et al (2006) *Longitudinal analysis of serum cytokine concentrations in systemic sclerosis: Association of interleukin 12 elevation with spontaneous regression of skin sclerosis*. J Rheumatol 33(2): 275-284.
5. Scolnik M, Catoggio LJ, Lancioni E et al (2014) *Are there clinical differences in limited systemic sclerosis according to extension of skin involvement?* Int J Rheumatol 716358.
6. Lafyatis R (2014) *Transforming growth factor beta-at the centre of systemic sclerosis*. Nat Rev Rheumatol 10(12): 706-719.
7. Khan K, Xu S, Nihtyanova S et al (2012) *Clinical and pathological significance of interleukin 6 overexpression in systemic sclerosis*. Ann Rheum Dis 71(7): 1235-1242.
8. Matsushita T, Hasegawa M, Yanaba K et al (2006) *Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: Enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes*. Arthritis Rheum 54(1): 192-201.

9. Scala E, Pallotta S, Frezzolini A et al (2004) *Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: Relationship with cutaneous and internal organ involvement.* Clin Exp Immunol 138(3): 540-546.