

# NGHIÊN CỨU MỐI LIÊN QUAN GIỮA NỒNG ĐỘ CYTOKINE VÀ HOẠT ĐỘ ENZYME AST/ALT Ở BỆNH NHÂN SỐT DENGUE

VŨ XUÂN NGHĨA, HUỖNH QUANG THUẬN  
Học viện Quân y

## TÓM TẮT

Nồng độ các cytokine TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 và hoạt độ enzyme AST/ALT được nghiên cứu trên 74 bệnh nhân sốt dengue và 30 người khỏe mạnh bình thường. Biểu hiện của các cytokine được định lượng trong huyết tương của bệnh nhân sốt dengue theo phương pháp ELISA. Kết quả cho thấy, ở bệnh nhân SXH-D có biểu hiện gan to, nồng độ IL-6 và IL-10 tăng cao rõ rệt so với bệnh nhân không có gan to với  $p < 0,05$ , sự thay đổi của TNF- $\alpha$  với biểu hiện gan to không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Hơn nữa, kết quả cho thấy có mối liên quan thuận mức độ vừa giữa nồng độ IL-10 với enzyme ALT ở bệnh nhân DF ( $r = 0,39, p < 0,05$ ), trong khi đó TNF- $\alpha$ , IL-6 không có biểu hiện liên quan. Bởi vậy, mối tương quan giữa nồng độ các cytokine và hoạt độ enzyme AST/ALT có ý nghĩa quan trọng trong theo dõi, chẩn đoán, điều trị và tiên lượng bệnh nhân sốt dengue.

**Từ khóa:** Dengue virus, Cytokine.

## SUMMARY

The concentration of the cytokines TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-10 and the activity of enzymes AST / ALT was investigated in 74 cases of dengue fever (DF) and 30 normal persons as a negative control by ELISA assay. The concentration of the cytokines in plasma of dengue fever patients was measured by ELISA method. Results showed that patients have hepatomegaly, the concentration of IL-6 and IL-10 significantly increased compared with patients without hepatomegaly with  $p < 0.05$ , the concentration of TNF- $\alpha$  not be statistically significant with  $p > 0.05$ . Moreover, the results showed the correlation between the concentration of IL-10 with enzyme ALT in DF patients ( $r = 0.39, p < 0.05$ ), whereas TNF- $\alpha$ , IL-6 are not. Therefore, the correlation between the cytokine levels and the activity of enzymes AST/ALT is important in monitoring, diagnosis, treatment and prognosis of dengue fever patients.

**Keyword:** Dengue virus, Cytokine.

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Bệnh nhân sốt dengue, virus Dengue xâm nhập trong các tế bào gan và tế bào Kupffer tại gan. Hiện tượng hoại tử tế bào gan cũng được phát hiện. Cũng như hiện tượng gan to trên lâm sàng, enzyme AST, enzyme ALT tăng cao cũng được mô tả trong bệnh lý nhiễm DENV.

Sự tổn thương các tế bào gan có thể giải thích cho sự suy giảm các yếu tố đông máu và phát triển rối loạn đông máu, vì gan có vai trò trong việc sản sinh ra một số yếu tố đông máu như fibrinogen, prothrombin, yếu

tố V, VII, IX và X. Ngoài ra còn kéo theo nhiều rối loạn phức tạp khác, do gan còn có nhiều chức năng quan trọng khác nữa.

Virus dengue cũng nhân lên trong các tế bào, kích thích các tế bào sản xuất hàng loạt các cytokine như IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-15, IL-8, RANTES, MCP-1 $\alpha$ , MCD-1 $\beta$  và NO. Sự tăng cao các cytokine, làm tăng biểu hiện MHC lớp I và II, gây tăng cường nhận biết của các tế bào lympho các tế bào TCD4, TCD8, tế bào lympho B. Các tế bào này được hoạt hóa, sản xuất các cytokine IFN- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-10, granzyme, perforin, Fas [68],[70]. Để đánh giá hơn nữa vai trò của các cytokine trong cơ chế bệnh sinh sốt xuất huyết dengue, chúng tôi tiến hành phân tích mối liên quan giữa nồng độ của các cytokine và hoạt độ enzyme AST/ALT ở bệnh nhân sốt dengue.

## ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### Đối tượng nghiên cứu

Tiêu chuẩn chọn đối tượng

Chọn bệnh nhân theo tiêu chuẩn của WHO  2009

- Lâm sàng: Sốt cao đột ngột và liên tục từ 2 đến 7 ngày. Và có từ 2 trở lên trong các dấu hiệu sau: Xuất huyết: có nghiệm pháp dây thắt (+), hoặc có xuất huyết tự nhiên dưới da, niêm mạc, hay xuất huyết nội tạng; Da sung huyết, phát ban; Nhức đầu, chán ăn, buồn nôn; Đau cơ, đau khớp, nhức 2 hố mắt. Gan, lách và hạch.

- Cận lâm sàng: Hematocrit bình thường hoặc tăng (Hct >45% hoặc trên 20% trị số bình thường); Tiểu cầu bình thường hoặc giảm; Bạch cầu thường giảm

- Nhóm chứng: Lựa chọn người khỏe mạnh có các chỉ số về tuổi, giới tương tự như nhóm bệnh làm nhóm chứng.

Số lượng, nhóm bệnh nhân nghiên cứu

Nhóm chứng có 30 người; Nhóm DF có 38 bệnh nhân; Nhóm DHF có 36 bệnh nhân

Phương pháp nghiên cứu

Nghiên cứu mô tả cắt ngang, chọn mẫu ngẫu nhiên có chủ đích, đối chiếu so sánh và kỹ thuật labo.

Định lượng nồng độ các cytokine: Phương pháp ELISA sử dụng kit hãng AviBion - Orgenium của Phần Lan theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

Định lượng hoạt độ enzyme AST/ALT: khoa hóa sinh-HVQY

## KẾT QUẢ VÀ BÀN LUẬN

Đặc điểm các nhóm đối tượng nghiên cứu

Bảng 1: Đặc điểm về các dấu hiệu xuất huyết, gan to, hạch to ở bệnh nhân nghiên cứu.

Chỉ tiêu	Nhóm	DF n(%)	DHF n(%)	p
Xuất huyết	Dây thắt (+)	31(81,58)	12(33,33)	<0,05
	XH tự nhiên	7(18,42)	24(66,67)	
Hạch	Bình thường	25(65,79)	19(52,78)	>0,05
	To	13(34,21)	17(47,22)	
Gan	Bình thường	37(97,37)	5(13,89)	<0,05
	To	1(2,63)	31(86,11)	

Trong nhóm DHF tỷ lệ xuất huyết tự nhiên cao hơn rõ rệt so với tỷ lệ xuất huyết tự nhiên trong nhóm DF với  $p < 0,05$ . Tỷ lệ hạch to trong nhóm DF không khác biệt với nhóm DHF với  $p > 0,05$ . Tỷ lệ gan to trong nhóm DHF cao hơn rõ rệt so với nhóm DF với  $p < 0,05$ .

Bảng 2: Đặc điểm cận lâm sàng ở các nhóm nghiên cứu.

Chỉ tiêu ( $\bar{x} \pm SD$ )	Nhóm	DF (n=38) (1)	DHF (n=36) (2)	Chứng (n=30) (3)	p
AST (U/ml)		102,4 $\pm 29,4$	155,6 $\pm 62,8$	22,03 $\pm 1,62$	$p(1,2),(1,3),(2,3) < 0,05$
ALT(U/ml)		86,3 $\pm 19,67$	127,98 $\pm 56,0$	28,94 $\pm 2,64$	$p(1,2),(1,3),(2,3) < 0,05$

Enzyme AST và ALT tăng cao nhất ở nhóm DHF, giảm dần ở nhóm.

DF và thấp nhất ở nhóm chứng với  $p(1,2),(1,3),(2,3) < 0,05$ .

Bảng 3. Nồng độ các cytokine trong các nhóm nghiên cứu :

CYTOKINE ( $\bar{x} \pm SD$ )	Nhóm	DF (n=38) (1)	DHF (n=36) (2)	CHỨNG (n=30) (3)	p
TNF- $\alpha$ (pg/ml)		174,04 $\pm 74,5$	262,82 $\pm 117,2$	17,04 $\pm 6,65$	$p(1,2),(1,3),(2,3) < 0,05$
IL-6 (pg/ml)		150,42 $\pm 159,6$	258,42 $\pm 316,7$	1,09 $\pm 1,18$	$p(1,2) > 0,05$ $p(1,3), (2,3) < 0,05$
IL10 (pg/ml)		16,77 $\pm 9,5$	36,00 $\pm 38,1$	4,93 $\pm 3,16$	$p(1,2),(1,3),(2,3) < 0,05$

Nồng độ của TNF- $\alpha$  và IL-10 tăng cao rõ rệt ở nhóm DHF so với nhóm DF và thấp nhất ở nhóm chứng  $p(1,2),(1,3),(2,3) < 0,05$ . Nồng độ IL-6 cũng tăng cao rõ rệt từ ở nhóm bệnh so với nhóm chứng với  $p(1,3),(2,3) < 0,05$ . Nồng độ IL-6 ở nhóm DHF và ở nhóm DF không khác với  $p(1,2) < 0,05$ .

#### Mối liên quan giữa nồng độ các cytokine với hoạt độ enzyme AST/ALT

Bảng 4. Liên quan của nồng độ TNF- $\alpha$ , IL-6 và IL-10 với dấu hiệu gan

Chỉ tiêu	CYTOKINE ( $\bar{x} \pm SD$ )	TNF- $\alpha$ (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	IL-10 (pg/ml)
Gan bình thường		198,68 $\pm 91,26$	143,27 $\pm 150,42$	18,27 $\pm 13,83$
Gan to		241,57 $\pm 121,40$	281,30 $\pm 330,96$	36,43 $\pm 38,95$

p	p>0,05	p<0,05	p<0,05
---	--------	--------	--------

Các trường hợp có gan to trên lâm sàng đều có nồng độ các cytokine IL-6 và IL-10 tăng cao rõ rệt so với các trường hợp có gan bình thường với  $p < 0,05$ . TNF- $\alpha$  ở bệnh nhân có gan to tuy có tăng nhưng không tạo khác biệt so với nhóm bệnh nhân có gan bình thường với  $p > 0,05$ .

Bảng 5: Tương quan của TNF- $\alpha$ , IL-6 và IL-10 với hoạt độ enzyme ALT ở nhóm DF

Mối tương quan	Hệ số tương quan r	p	Hàm số
TNF - $\alpha$	-0,06	> 0,05	
IL - 6	0,21	> 0,05	
IL -10	0,39	< 0,05	$y = 70,58 + 0,93x$

Có mối tương quan thuận mức độ vừa giữa IL-10 với ALT trong nhóm bệnh nhân DF ( $r = 0,39, p < 0,05$ ), IL-10 càng tăng thì ALT cũng tăng theo. TNF- $\alpha$  và IL-6 không thấy có tương quan với sự tăng của enzyme ALT. Mối tương quan này cũng đã được ghi nhận tại nghiên cứu của Nguyễn Thanh Hùng trên SXH ở trẻ nhũ nhi với hệ số tương quan chặt ( $r = 0,91, p < 0,001$ ).

#### KẾT LUẬN

Liên quan của TNF- $\alpha$ , IL-6 và IL-10 với biểu hiện gan to: ở bệnh nhân SXH-D có biểu hiện gan to, nồng độ IL-6 và IL-10 tăng cao rõ rệt so với bệnh nhân không có gan to với  $p < 0,05$ . Sự thay đổi của TNF- $\alpha$  với biểu hiện gan to không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Có mối liên quan thuận mức độ vừa giữa nồng độ IL-10 với enzyme ALT ở bệnh nhân DF ( $r = 0,39, p < 0,05$ ).

Những mối liên quan giữa nồng độ các cytokine và hoạt độ enzyme AST/ALT ở bệnh nhân sốt xuất huyết dengue hứa hẹn là một trong những dấu ấn sinh học quan trọng trong phát hiện, chẩn đoán, tiên lượng và điều trị bệnh nhân DF, DHF.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Braga E.L.A, Patricia Moura, Luzia MO Pinto, Sonia RN Ignacio, Maria Jose C Oliveria, Marly T Cordeiro, Claire F Kubelka-(2001): Detection of Circulant Tumor Necrosis Factor- $\alpha$ , Soluble Tumor Necrosis Factor p75 and Interferon-g in Brazilian Patients with Dengue Fever and Dengue hemorrhagic Fever; Mem inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol 96(2), pp 229-232.
- Bozza<sup>1</sup> FA, Oswaldo G Cruz<sup>2</sup>, Sonia MO Zagne<sup>3</sup>, Elzinandes L Azeredo<sup>4</sup>, Rita MR Nogueira<sup>5</sup>, Edson F Assis<sup>6</sup>, Patricia T Bozza<sup>6</sup> and Claire F Kubelka<sup>4</sup> (2008) Multiples cytokine profile from Dengue patients: Mip- $\alpha$  and INF-gama as predictive factors for severity. BMC Infectious Diseases, 8:86.
- Chaturvedi U.C., R. Agarwal, E.A Elbishbishi, A.S. Mustafa (2000): Cytokin cascade in dengue hemorrhagic fever: Implications for pathogenesis; FEMS Immunology and Medical Microbiology 183-188
- Chaturvedi U.C. (2009): Shift to Th2 cytokine response in dengue haemorrhagic fever; Indian J Med Res 129, January 2009, pp1-3