

NGHIÊN CỨU NỒNG ĐỘ YẾU TỐ HOẠI TỬ U ALPHA HUYẾT THANH
Ở BỆNH NHÂN XƠ GAN DO RƯỢU

Dương Quang Huy¹, Vũ Văn Huỳnh¹
Đào Đức Tiến², Nguyễn Khánh Linh³

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định nồng độ yếu tố hoại tử u alpha (Tumor Necrosis Factor-alpha: TNF- α) huyết thanh ở bệnh nhân (BN) xơ gan do rượu và mối liên quan với mức độ suy gan. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu tiến cứu, mô tả, cắt ngang trên 45 BN xơ gan do rượu và 30 người khỏe mạnh được xét nghiệm TNF- α máu lúc đói theo phương pháp hấp thụ miễn dịch gắn enzyme (ELISA) tại Khoa Nội Tiêu hóa - Bệnh viện Quân y 103. **Kết quả:** Trung vị nồng độ TNF- α huyết thanh ở BN xơ gan rượu là 34,6 pg/mL, cao hơn có ý nghĩa so với chỉ số tương ứng ở nhóm chứng 13,3 pg/mL, $p = 0,021$, mức tăng cao hơn thấy ở nhóm xơ gan Child-Pugh B/C so với nhóm xơ gan Child-Pugh A. Nồng độ TNF- α huyết thanh ở BN xơ gan do rượu có tương quan thuận mức độ chặt với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,729$, $p < 0,001$). **Kết luận:** TNF- α huyết thanh tăng cao ở BN xơ gan do rượu, mức tăng liên quan đến mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh.

* *Từ khóa:* Xơ gan do rượu; TNF- α .

EVALUATION OF SERUM TUMOR NECROSIS FACTOR-ALPHA
LEVEL IN PATIENTS WITH ALCOHOLIC CIRRHOSIS

Summary

Objectives: To evaluate serum tumor necrosis factor (TNF- α) level in patients with alcoholic cirrhosis and the relationship with the degree of cirrhosis. **Subjects and methods:** A prospective, cross-sectional descriptive study was carried out on 45 patients with alcoholic cirrhosis and 30 control subjects in the Digestive Department of 103 Military Hospital. TNF- α concentration in serum was determined

¹Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 175

³Đại học Y khoa Vinh

Người phản hồi: Dương Quang Huy (huyduonghvqy@gmail.com)

Ngày nhận bài: 21/02/2022

Ngày được chấp nhận đăng: 08/3/2022

by *Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA)*. **Results:** Median serum TNF- α levels in patients with cirrhosis was 34.6 pg/mL, significantly higher than that in the control group (13.3 pg/mL), $p < 0.001$, and the higher an increase in serum TNF- α was in Child-Pugh B/C patients compared with Child-Pugh A group. Serum TNF- α levels were significantly positive correlated to Child-Pugh score (correlation coefficient $r = 0.729$, $p < 0.001$). **Conclusion:** There is an increase in serum TNF- α concentration in alcoholic cirrhotic patients, the level of change is related to the degree of cirrhosis according to the Child-Pugh classification.

* *Keywords:* Alcoholic cirrhosis; TNF- α .

ĐẶT VẤN ĐỀ

Lạm dụng rượu và nghiện rượu gây ảnh hưởng tới các cơ quan trong cơ thể như tim, gan, não, tụy, dạ dày...; trong đó, gan là cơ quan chịu tác động bất lợi nhiều hơn cả [1]. Cơ chế bệnh sinh của tổn thương gan do rượu từ gan nhiễm mỡ đến xơ hóa gan và xơ gan rất phức tạp, có sự tham gia của nhiều gốc tự do (stress oxy hóa), thiếu hụt glutathione, chuyển hóa methionine bất thường... Nhiều nghiên cứu chỉ ra vai trò quan trọng của hoạt hóa đáp ứng miễn dịch bẩm sinh của cơ thể, tạo ra nhiều cytokine như interleukin (IL)-1 α , yếu tố hoại tử u... cùng với hệ bổ thể, lipopolysaccharide (LPS) là những yếu tố khởi phát tổn thương tế bào gan, kích thích tế bào sinh xơ, duy trì phản ứng viêm và từ đó thúc đẩy bệnh gan tiến triển, trong đó TNF- α là yếu tố giữ vai trò rất quan trọng trong quá trình diễn tiến này [2, 3].

Yếu tố hoại tử khối u alpha là một polypeptide có trọng lượng phân tử khoảng 17 kDa được sản xuất chính bởi đại thực bào, tế bào bạch cầu đơn nhân, tế bào lympho T... với nhiều chức năng khác nhau như điều chỉnh quá trình viêm, chết tế bào theo chương trình, sự di trú, phân chia và biệt hóa tế bào [4]. Với bệnh gan, nhiều nghiên cứu chỉ ra vai trò quan trọng của TNF- α trong cơ chế gây viêm và tổn thương gan mạn tính, là tác nhân kích thích và thúc đẩy quá trình xơ hóa gan dẫn đến xơ gan. Đồng thời, thử nghiệm lâm sàng các thuốc ức chế TNF- α trong điều trị ngăn chặn quá trình xơ hóa gan cũng đã và đang được tiến hành cho kết quả ban đầu đầy hứa hẹn [3]. Tuy nhiên, ở Việt Nam hiện nay chưa có nghiên cứu về vấn đề này; vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài nhằm: *Xác định nồng độ TNF- α huyết thanh và mối liên quan với mức độ suy gan ở BN xơ gan do rượu.*

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

45 BN xơ gan do rượu được điều trị nội trú tại Khoa Nội Tiêu hóa - Bệnh viện Quân y 103 từ 11/2018 - 6/2019.

* *Tiêu chuẩn lựa chọn*: BN được khám lâm sàng và xét nghiệm có đủ 2 hội chứng là suy chức năng gan và tăng áp lực tĩnh mạch cửa (TALTCM) cùng với thay đổi hình thái gan trên siêu âm và BN có tình trạng lạm dụng rượu được đánh giá theo bộ câu hỏi AUDIT của Tổ chức Y tế Thế giới [1].

* *Tiêu chuẩn loại trừ*: BN xơ gan căn nguyên liên quan virus viêm gan, thuốc..., xơ gan kèm theo ung thư biểu mô tế bào gan; đang có biến chứng nặng như xuất huyết tiêu hóa hoặc có các bệnh lý tim mạch, hô hấp, khớp, nội tiết kèm theo; đang sử dụng một số thuốc ảnh hưởng xét nghiệm nồng độ TNF- α ...

* *Nhóm chứng*: 30 người khỏe mạnh, không có bệnh lý gan mật, nội tiết, tim mạch, không lạm dụng rượu...có phân bố tuổi tương đương với nhóm bệnh.

2. Phương pháp nghiên cứu

* *Thiết kế nghiên cứu*: Nghiên cứu mô tả, cắt ngang có so sánh với nhóm chứng.

Tất cả BN chọn vào nghiên cứu được khám lâm sàng và thực hiện xét nghiệm cần thiết để xác định hội chứng suy chức năng gan, TALTCM và tình trạng lạm dụng rượu. Phân loại mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh (1973).

* *Định lượng TNF- α huyết thanh*:

Bệnh nhân nhịn ăn sáng, lấy 5 mL máu ly tâm 6000 vòng/phút trong 5 phút rồi tách lấy 3 mL huyết tương. Mỗi mẫu huyết tương có mã số riêng, lưu trữ trong tủ lạnh âm sâu -80⁰C tại Bộ môn Sinh lý bệnh - Học viện Quân y. Khi đủ số lượng, các mẫu sẽ được lấy khỏi tủ lạnh và rã đông trong vòng 2 giờ. Định lượng nồng độ TNF- α huyết thanh theo phương pháp ELISA, sử dụng bộ Kít IMK-480 (Viện Năng lượng Nguyên tử quốc gia Trung Quốc) theo hướng dẫn của nhà sản xuất.

* *Xử lý và phân tích số liệu*: Bằng phần mềm thống kê y học SPSS 20.0.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

Bảng 1: Đặc điểm tuổi, giới tính của nhóm nghiên cứu và nhóm chứng.

Tuổi, giới tính		Nhóm chứng (n = 30)		Nhóm nghiên cứu (n = 45)		p
		Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)	
Giới tính	Nam	30	100	45	100	> 0,05
	Nữ	0	0	0	0	
Tuổi trung bình		46,4 ± 15,6		51,8 ± 8,4		

100% BN xơ gan do rượu trong nghiên cứu là nam giới, với tuổi trung bình 51,8 ± 8,4; cho thấy xơ gan do rượu thường gặp ở lứa tuổi trung niên [1]. Không có sự khác biệt về tuổi trung bình của nhóm BN nghiên cứu và nhóm chứng (p > 0,05).

Bảng 2: Đặc điểm mức độ suy gan ở nhóm bệnh nhân xơ gan.

Mức độ suy gan	Số lượng (n)	Tỷ lệ (%)
Child-Pugh A	12	26,7
Child-Pugh B	18	40,0
Child-Pugh C	15	33,3
Điểm Child-Pugh trung bình	8,6 ± 2,2	

Mức độ suy chức năng gan chiếm đa số là Child-Pugh B và C (73,3%) với điểm Child-Pugh trung bình là 8,6 ± 2,2, cho thấy BN xơ gan do rượu nhập viện điều trị thường có biến chứng với suy giảm nặng chức năng gan.

Bảng 3: Biến đổi nồng độ TNF-α huyết thanh ở bệnh nhân xơ gan so với nhóm chứng.

TNF-α huyết thanh (pg/mL)	Nhóm chứng (n = 30)	Nhóm xơ gan (n = 45)	p
$\bar{x} \pm SD$	18,8 ± 12,3	47,6 ± 45,3	0,008
Median (Q1-Q3)	13,3 (10,4 - 28,4)	34,6 (12,7 - 65,3)	0,021

Nồng độ TNF- α trung bình ở 30 người nhóm chứng là $18,8 \pm 12,3$ pg/mL. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trên thế giới về nồng độ TNF- α huyết thanh ở người bình thường không có bệnh gan như nghiên cứu của Sabry H.S. và CS (2015) cho kết quả nồng độ TNF- α là $23,58 \pm 3,81$ pg/mL [5]; nghiên cứu của Zuwala-Jagiello J. và CS (2011) là $33,11 \pm 2,06$ pg/mL [6].

Nồng độ TNF- α huyết thanh trung bình ở nhóm BN xơ gan là $47,6 \pm 45,3$ pg/mL, trung vị $34,6$ pg/mL, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nồng độ TNF- α ở nhóm chứng ($p = 0,021$). Nghiên cứu của Prystupa A. và CS (2016) ghi nhận nồng độ TNF- α huyết thanh ở 62 BN xơ gan do rượu tăng cao hơn rõ so với nhóm 31 người khỏe mạnh không có bệnh gan ($3,42 \pm 2,75$ so với $1,645 \pm 0,945$ pg/mL, $p < 0,05$) [7]. Nghiên cứu của Mohammed B.J. và CS (2018) thực hiện trên 69 BN xơ gan, đối chứng với 50 người khỏe mạnh, định lượng TNF- α huyết thanh bằng phương pháp ELISA cho thấy nồng độ TNF- α toàn huyết thanh ở BN xơ gan cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng ($35,41 \pm 2,15$ so với $14,33 \pm 1,62$ pg/mL $p < 0,001$) [8].

Như vậy, kết quả của các nghiên cứu cho thấy ở BN xơ gan do rượu đều tăng nồng độ TNF- α huyết thanh so với người bình thường. Cơ chế của hiện tượng này được lý giải là do uống rượu thường xuyên, làm dư thừa các gốc tự do (tạo ra trong quá trình chuyển hóa rượu tại tế bào gan và khả năng chống oxy hóa của gan bị giảm sút) và Lipopolysacharide (LPS - nội độc tố được sản xuất bởi các vi khuẩn quá phát trong lòng ruột do tiếp xúc lâu ngày với ethanol) [1, 2]. Các gốc tự do và LPS sẽ kích hoạt tế bào Kupffer thông qua thụ thể CD14 trên bề mặt tế bào, sau đó hoạt hóa thụ thể Toll-like 4 (TLR4) và đường truyền tín hiệu NF- κ B để tạo ra TNF- α và IFN β [4]. TNF- α là cytokine có vai trò quan trọng trong đáp ứng viêm của cơ thể, là yếu tố kéo dài phản ứng viêm tại gan, từ đó gia tăng chết tế bào gan theo chương trình. Đồng thời, TNF- α còn duy trì sự sống và hoạt hóa tế bào sao (Hepatic stellate cell) để tạo ra collagen type III, IV, VI, fibronectine, acid hyaluronic..., thúc đẩy chuyển dạng tế bào sao thành những tế bào giống nguyên bào sợi cơ (myofibroblast) có khả năng co rút, hóa xơ, từ đó dẫn đến xơ hóa gan và hậu quả cuối cùng là xơ gan [2, 3].

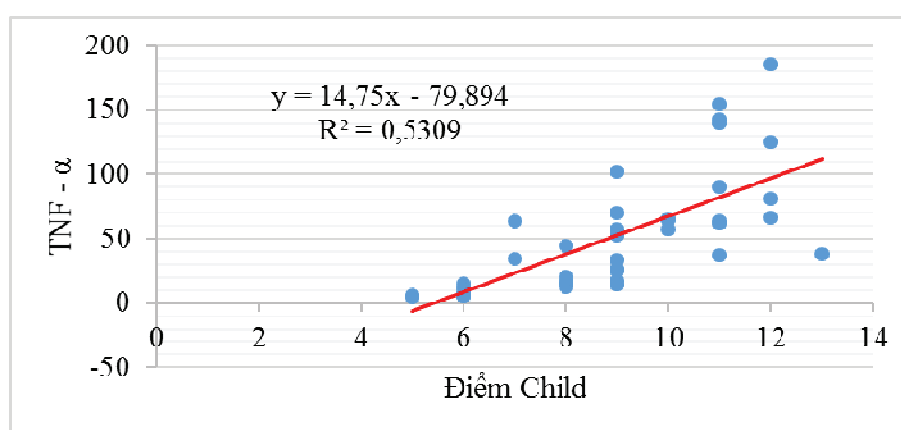
Bảng 4: Mối liên quan giữa nồng độ TNF- α huyết thanh với mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh (n= 45).

Mức độ suy gan	Nồng độ TNF- α huyết thanh (pg/mL) Median (Q1-Q3)	p
Child-Pugh A	6,34 (4,85 - 9,81)	$p_{A-B} < 0,001$ $p_{B-C} < 0,001$ $p_{A-C} < 0,001$
Child-Pugh B	30,02 (16,67 - 54,70)	
Child-Pugh C	66,70 (62,13 - 139,80)	

Trung vị nồng độ TNF- α huyết thanh ở phân nhóm xơ gan Child-Pugh B/C cao hơn rõ so với chỉ số tương ứng ở phân nhóm xơ gan Child-Pugh A ($p < 0,001$).

Bảng 5: Mối tương quan giữa nồng độ TNF- α huyết thanh với một số thông số đánh giá chức năng gan và điểm Child-Pugh (n = 45).

	Các biến tương quan	Hệ số tương quan (r)	p
Nồng độ TNF- α huyết thanh (pg/mL)	Albumin (g/L)	- 0,571	< 0,001
	Bilirubin TP ($\mu\text{mol/L}$)	0,108	0,482
	Tỷ lệ prothrombin (%)	- 0,370	0,012
	Điểm Child-Pugh	0,729	< 0,001



Biểu đồ 1: Mối tương quan giữa nồng độ TNF- α huyết thanh với điểm Child-Pugh.

Thang điểm Child-Pugh được sử dụng rộng rãi nhất hiện nay để đánh giá mức độ suy chức năng gan của các bệnh gan mạn tính, từ đó giúp tiên lượng và lựa chọn phương pháp điều trị phù hợp. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ TNF- α huyết thanh trung bình tăng dần theo mức độ suy gan theo thang điểm Child-Pugh, $p < 0,001$. Đồng thời chúng tôi cũng tìm thấy mối tương quan thuận mức độ chặt giữa nồng độ TNF- α huyết thanh với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,729$, $p < 0,001$).

Hầu hết các nghiên cứu trên thế giới khi đánh giá nồng độ TNF- α huyết thanh ở BN xơ gan nói chung và BN xơ gan do rượu nói riêng đều ghi nhận kết quả như nghiên cứu của chúng tôi. Nghiên cứu của Sabry H.S. và CS (2015) cho thấy nồng độ TNF- α huyết thanh tăng dần theo mức độ xơ gan từ $25,75 \pm 4,81$ pg/mL ở nhóm xơ gan Child-Pugh A lên $39,03 \pm 11,49$ pg/mL ở nhóm xơ gan Child-Pugh B và cao nhất lên đến $64,75 \pm 27,34$ pg/mL ở nhóm xơ gan Child-Pugh C, $p < 0,001$ [5]. Nghiên cứu của Prystupa A. và CS (2016) trên 62 BN xơ gan do rượu cũng ghi nhận kết quả tương tự [7]. Nghiên cứu 43 BN xơ gan do rượu, Zuwala-Jagiello J. và CS (2011) đã xác định được mối tương quan thuận giữa nồng độ TNF- α huyết thanh với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,28$; $p < 0,05$) [6].

Như vậy, kết quả các nghiên cứu đều ghi nhận mức độ suy chức năng gan có ảnh hưởng rõ rệt đến nồng độ TNF- α huyết thanh. Điều này cho thấy, TNF- α là một cytokine không chỉ tham gia vào cơ chế gây xơ hóa gan mà còn liên quan đến mức độ thoái triển chức năng tế bào gan. Cơ chế của mối liên quan này là do TNF- α được tạo ra và được thanh thải tại gan cho nên suy gan càng nặng sẽ càng giảm khả năng thanh thải. Ngoài ra, đáp ứng miễn dịch của cơ thể cũng kém hơn khi chức năng gan suy giảm, từ đó dẫn đến quá phát vi khuẩn tại lòng ống tiêu hóa, gia tăng nội độc tố hấp thu vào máu và kích thích tế bào Kupffer tăng sản xuất TNF- α [2, 3, 4].

KẾT LUẬN

Nghiên cứu nồng độ TNF- α huyết thanh ở 45 BN xơ gan do rượu, có so sánh với nhóm 30 người khỏe mạnh cùng tuổi, chúng tôi nhận thấy:

- Trung vị nồng độ TNF- α huyết thanh ở BN xơ gan do rượu là 34,6 pg/mL, cao hơn có ý nghĩa so với chỉ số tương ứng ở nhóm chứng 13,3 pg/mL, $p = 0,021$, mức tăng cao hơn thấy ở nhóm xơ gan Child-Pugh B/C so với nhóm xơ gan Child-Pugh A.

- Nồng độ TNF- α huyết thanh ở BN xơ gan do rượu có tương quan thuận mức độ chặt với điểm Child-Pugh (hệ số tương quan $r = 0,729$, $p < 0,001$).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. European Association for the Study of the Liver (2018). EASL Clinical Practice Guideline: Management of alcohol - related liver disease. *Journal of Hepatology*; 69:154-181.
2. Kawaratani H., Tsujimoto T., Douhara A. et al. (2013). The effect of inflammatory cytokines in alcoholic liver disease. *Mediators Inflamm*: 495156.
3. Yang Y.M., Seki E. (2015). TNF alpha in liver fibrosis, *Curr Pathobiol Rep*; 3(4):253-261.
4. Parameswaran N., Patial S. (2010). Tumor necrosis factor-alpha signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*; 20(2):87-103.
5. Sabry H.S., El-Hendyd A.A.K., Mohammed H.I., et al. (2015). Study of serum tumor necrosis factor- α in patients with liver cirrhosis. *Menoufia Medical Journal*; 28(2):525-531.
6. Zuwala-Jagiello J., Pazgan-Simon M., Simon K., et al. (2011). Advanced oxidation protein products and inflammatory markers in liver cirrhosis: A comparison between alcohol-related and HCV-related cirrhosis. *Acta Biochim Pol*; 58(1):59-65.
7. Prystupa A., Kicinski P., Niedzialek J. et al. (2016). Circulating cytokeratin-18 and tumour necrosis factor- α in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Journal of Pre-Clinical and Clinical Research*; 10(2):87-90.
8. Mohammed B.J. (2018), Association between TNF- α level and TNF- α gene polymorphisms in liver cirrhosis of Iraqi patients, *Bioscience Research*, 15(2): 1342-1349.