

## **ĐẶT VẤN ĐỀ**

Dioxin là một nhóm các hợp chất hữu cơ độc hại, là sản phẩm phụ không mong muốn của một số ngành công nghiệp hóa chất và đốt cháy các sản phẩm hữu cơ. Với đặc tính không hòa tan trong nước, khó thoái hóa nên trong môi trường bị ô nhiễm, dioxin lắng đọng trong đất, cặn bùn và tích trữ sinh học vào một số loại động vật có trong chuỗi thức ăn của con người. Khi xâm nhập vào cơ thể con người, dioxin tích lũy chủ yếu ở các mô mỡ trong cơ thể và đào thải rất chậm [1].

Dioxin tác động đến quá trình sinh sản và phát triển, gây rối loạn hệ thống miễn dịch và nội tiết của cơ thể ngay cả khi chỉ có hàm lượng rất nhỏ. Nó tác động đến nhiều cơ quan, hệ cơ quan trong cơ thể gây ra những rối loạn bệnh lý phức tạp và đa dạng, điều đó làm giảm tuổi thọ ở những người bị phơi nhiễm cũng như con cái họ ở những thế hệ kế tiếp trong tương lai [2].

Trong cuộc chiến tranh tại Việt Nam giai đoạn 1961 đến 1972 quân đội Mỹ đã rải một lượng lớn các chất diệt cỏ có tạp nhiễm một lượng lớn dioxin trong thành phần xuống nhiều vùng rộng lớn ở miền Nam Việt Nam, nhằm mục đích phát quang để phá hủy nơi ẩn lấp của quân đội giải phóng chiến đấu ở miền Nam Việt Nam [3]. Do đặc tính bền vững của dioxin, cho đến nay tác động của nó đã và vẫn đang gây nên những hậu quả nghiêm trọng đối với sức khỏe con người và môi trường sống ở Việt Nam, đặc biệt các bà mẹ và trẻ em tại các khu vực phơi nhiễm dioxin. Dioxin ảnh hưởng tới bào thai từ rất sớm qua nhau thai. Những trẻ nhỏ tiếp xúc với dioxin sẽ bị ảnh hưởng về phát triển thể chất và tâm thần [2], [4],[5].

Phơi nhiễm dioxin gây các tác dụng độc hại mà một trong số đó là tác động trên hệ thống nội tiết. Bên cạnh đó, với đặc tính ưa lipid của dioxin nên

ở người mẹ cho con bú, dioxin và các đồng phân của nó chủ yếu tập trung vào sữa mẹ. Như vậy, sữa mẹ là một con đường thải trừ dioxin chủ yếu. Nồng độ dioxin trong sữa mẹ phụ thuộc vào mức độ tiếp xúc và loại đồng phân dioxin. Mặt khác, dioxin và polychlorinated biphenyls (PCBs) đã được chứng minh là tích lũy trong tuyến thượng thận khi xâm nhập vào cơ thể. Đồng thời làm thay đổi tổng hợp hormon steroid vỏ thượng thận theo liều lượng và thời gian tác động. Tuy nhiên, những tác động của dioxin trên hormon steroid thượng thận chưa được điều tra kỹ lưỡng và chỉ thông qua đánh giá trên thực nghiệm. Hơn nữa, chưa có nhiều nghiên cứu về nồng độ dioxin trong chiến tranh liên quan đến hormon steroid trong huyết thanh, đặc biệt là nồng độ hormon steroid trong nước bọt ở người mẹ và trẻ em sống ở khu vực điểm nóng dioxin Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài “nghiên cứu sự thay đổi nồng độ hormon steroid trong nước bọt, sữa và huyết thanh trên những người sống tại vùng phơi nhiễm chất da cam/dioxin ở Việt Nam” với mục tiêu:

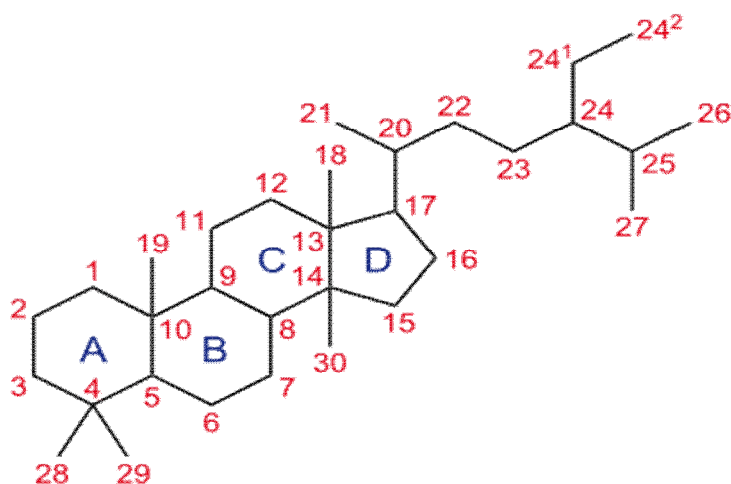
- 1. Xác định nồng độ dioxin trong sữa của những người mẹ sống tại Phù Cát - Bình Định.*
- 2. Xác định nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ và con, trong sữa và huyết thanh của người mẹ sống tại Phù Cát - Bình Định.*
- 3. Tìm hiểu mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt, sữa và huyết thanh với nồng độ dioxin trong sữa của những người mẹ.*

## CHƯƠNG 1 TỔNG QUAN

### 1.1. Hormon steroid

#### 1.1.1. Đại cương hormon steroid

Hormon steroid có nguồn gốc từ cholesterol và đặc trưng bởi nhân steroid. Cấu trúc bao gồm ba vòng sáu cạnh và một vòng năm cạnh, tương ứng với tên gọi A, B, C và D [6].



**Hình 1.1. Cấu trúc nhân steroid [7]**

Cấu trúc này được biết đến như cyclopentanoperhydrophenanthrene, có sáu vị trí không đối xứng, cung cấp nhiều đồng phân khác nhau. Hơn nữa, tại vị trí C-17 có một nhóm thế mà khi thay đổi sẽ tạo thành hormon steroid khác có chức năng tùy thuộc vào chức năng của nhóm thế [6].

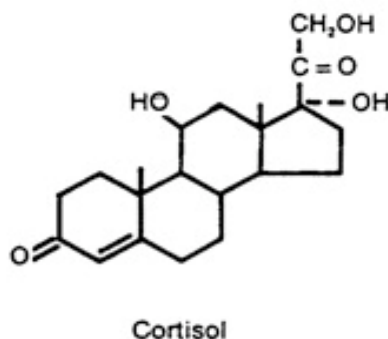
Hormon steroid được tổng hợp bởi một loạt các mô, nổi bật nhất là tuyến thượng thận và tuyến sinh dục. Tiền thân từ cholesterol được tổng hợp trong tế bào từ acetate, từ các thành phần este-cholesterol trong các giọt lipid của tế bào hoặc từ sự hấp thu của lipoprotein tỉ trọng thấp chứa cholesterol.

### 1.1.2. Các loại hormon steroid

Các hormon steroid được xác định theo nguồn gốc và tác dụng sinh học chủ yếu của chúng. Thông thường, phân loại hormon steroid vào năm nhóm chính, chủ yếu dựa vào các thụ thể mà chúng ràng buộc.

#### 1.1.2.1. Glucocorticoid

Glucocorticoid bao gồm các thành phần cortisol và corticosteron bắt nguồn từ vỏ thượng thận và ảnh hưởng chủ yếu đến sự trao đổi chất theo nhiều cách khác nhau. Cortisol là glucocorticoid chính được tiết ra bởi tuyến vỏ thượng thận, nó có nguồn gốc sinh học từ pregnenolon với vai trò của enzym  $17\alpha$ -hydroxypregnenolon,  $17\alpha$ -hydroxyprogesteron và 11-deoxycortisol. Glucocorticoid thường xâm nhập qua màng tế bào và gắn với thụ thể của glucocorticoid trong bào tương. Sau đó phức hợp này sẽ xâm nhập vào nhân tế bào và gắn vào các vị trí chuyên biệt ở ADN, dẫn đến các gen đặc hiệu được biểu hiện và có sự sao chép của ARN thông tin. Cuối cùng, protein đặc hiệu sẽ được tổng hợp và phát huy tác dụng sinh học của glucocorticoid. Mặc dù các thụ thể đối với glucocorticoid giống nhau ở nhiều mô cơ quan nhưng các protein được tổng hợp lại thay đổi rất nhiều tùy thuộc vào mô đích và do đó sẽ phát huy các tác dụng rất khác nhau ở các mô khác nhau, điều này tạo nên những tác dụng đa dạng của các glucocorticoid [8].



**Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của cortisol [7]**

### 1.1.2.2. Mineralocorticoid

Các mineralocorticoid được tuyến thượng thận bài tiết bao gồm aldosteron 11-deoxycorticosterone. Aldosteron chỉ được sản xuất ở vùng cầu của vỏ thượng thận bắt nguồn từ progesteron dưới ảnh hưởng chủ yếu của hệ thống renin - angiotensin, quá trình tổng hợp theo các bước sau:

Progesteron → 11-Deoxycorticosteron → Corticosteron → Aldosteron.

Các bước này được xúc tác bởi các enzym CYP21A2, CYP11B1 và aldosteron synthase/CYP11B tương ứng. nhóm hydroxyl của progesteron ở carbon-21 mang 11-deoxycorticosteron và corticosteron sau một bước hydroxyl ở carbon-11. Quá trình hydroxyl và khử oxi hóa ở carbon-18 được xúc tác bởi CYP11B2 kết quả trong sự hình thành của aldosteron.

Mineralocorticoid có tác dụng quan trọng trong việc điều hòa thể tích dịch ngoại bào và chuyển hóa kali hay còn được gọi là nhóm hormon chuyển hóa muối nước [8].

### 1.1.2.3. Androgen

Androgen bắt nguồn từ tuyến vỏ thượng thận, tuyến sinh dục và chủ yếu ảnh hưởng đến sự trưởng thành chức năng của cơ quan sinh dục thứ cấp. Hormon androgen có nguồn gốc từ hai steroid 17 $\alpha$ -hydroxy bao gồm 17 $\alpha$ -hydroxypregnenolon và 17 $\alpha$ -hydroxyprogesteron. Hai steroid này có thể được chuyển đổi bằng enzym CYP17 để trở thành androgen dehydroepiandrosteron (DHEA) và androstenedion tương ứng. DHEA được chuyển thành androstenedion bởi 3 $\beta$ -HSD (3 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase). Sự hình thành androgen tại tuyến thượng thận được giới hạn bởi DHEA và androstenedion, trong khi ở tinh hoàn lại có sự hiện diện của 17 $\beta$ -HSD (17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase) trong các tế bào Leydig để đảm bảo sự hình thành của testosterone [9],[10].

Tuyến thượng thận sản xuất androgen góp phần quan trọng đối với nhiều quá trình sinh lý. Các androgen như androstenedion, DHEA và dehydroepiandrosterone sulfate (DHEA-S) có thể chuyển thành testosterone ở các mô khác.

Trước tuổi dậy thì chỉ có một lượng rất nhỏ androgen được tiết ra trước khi. Androgen cần thiết cho sự phát triển của hệ thống sinh sản nam đặc biệt là trong giai đoạn dậy thì, nhóm hormon này góp phần quan trọng cho sự hình thành và duy trì ham muốn tình dục. Androgen có xu hướng làm tăng kích thước của cơ quan sinh sản ở nam giới. Ngược lại, nếu thiếu hụt trên nam giới đã trưởng thành sẽ gây teo và giảm hoạt động các bộ phận sinh dục [8].

Ở phụ nữ khoảng một nửa androgen hàng ngày được sản xuất từ buồng trứng dưới dạng của testosterone và androstenedion. Phần còn lại là do tuyến thượng thận sản xuất, chủ yếu là DHEA và DHEA-S, mà được chuyển đổi thành androstenedion và testosterone ở các mô khác. Ở phụ nữ sản xuất dư thừa của androgen có thể xảy ra do rối loạn tuyến thượng thận, rối loạn buồng trứng hoặc rối loạn chuyển hóa mỡ [8],[10].

#### *1.1.2.4. Estrogen*

Estrogen là hormon steroid nữ được sản xuất chủ yếu bởi buồng trứng, một số lượng ít hơn được sản xuất bởi vỏ thượng thận, nhau thai và tinh hoàn của nam giới. Estrogen giúp kiểm soát và phát triển giới tính, bao gồm những thay đổi về thể chất liên quan đến tuổi dậy thì. Nó cũng ảnh hưởng đến quá trình rụng trứng trong chu kỳ kinh nguyệt, cho con bú sau khi mang thai, các tình trạng tâm lý và quá trình lão hóa.

Estrogen bao gồm 2 thành phần estron và estradiol chúng chủ yếu ảnh hưởng đến sự phát triển, trưởng thành chức năng của cơ quan sinh dục ở nữ giới và xác định tính dục nữ. Quá trình tổng hợp estrogen đòi hỏi một enzym P<sub>450</sub> nhóm aromatase hay CYP19A1. Chất nền là một trong hai

androstenedion (cho estron) hoặc testosterone (cho estradiol). Estron và estradiol là có thể hoán đổi cho nhau thông qua một phản ứng thuận nghịch liên quan đến enzym  $17\beta$ -HSD, như trong quá trình chuyển đổi androstenedion-testosterone. Hoạt động aromatase có mặt trong buồng trứng và nhau thai [11],[12],[13].

#### *1.1.2.5. Progesteron*

Progesteron được sản xuất bởi buồng trứng, nhau thai và một phần nhỏ bởi tuyến thượng thận, có vai trò quan trọng trong chu kỳ kinh nguyệt và duy trì phát triển bào thai. Trong khi mang thai, progesteron cũng kích thích sự phát triển của tuyến vú [14].

#### **1.1.3. Tổng hợp hormon steroid**

Trong khi cholesterol có thể được tổng hợp trong nhiều mô của cơ thể, thì các hormon steroid chỉ được tổng hợp trong vỏ thượng thận, buồng trứng và tinh hoàn. Nguồn gốc cấu trúc của hợp chất cholesterol có chứa một hệ thống liên kết bao gồm 27 nguyên tử carbon. Nó được tạo thành từ ba vòng carbon sáu cạnh và một vòng carbon năm cạnh, một chuỗi bên có số nguyên tử carbon từ 20 đến 27 được đính kèm ở vị trí 17 của hydrocarbon đa vòng. Các hormon steroid được tổng hợp bởi một nhóm tế bào nhất định phụ thuộc vào vai trò của các enzym, đa số các enzym thuộc nhóm cytochrom P<sub>450</sub> oxygenase. Dưới sự tác động của enzym P<sub>450</sub> SCC hay CYP11 A trong ty lạp thể của tế bào, chuỗi bên của cholesterol sẽ được tách ra và tạo thành pregnenolon. Quá trình này chịu sự tác động của hormon kích vỏ thượng thận ACTH [8].

Sau khi được hình thành, pregnenolon sẽ được chuyển ra khỏi ty thể của tế bào để tiếp tục chuyển đổi thành 17-hydroxy-pregnenolon dưới tác dụng của enzym P<sub>450</sub>C17. Tác dụng của hệ thống enzym  $3\beta$ -HSD2 sẽ chuyển các nối đôi để tạo thành  $17\alpha$ -hydroxy- progesteron từ 17-hydroxy-pregnenolon.

Sau đó, trong vùng lưới và vùng bó của vỏ thượng thận các enzym P<sub>450</sub>C21 và P<sub>450</sub>C11 sẽ làm trung gian cho quá trình hydroxyl hóa tại vị trí 11 $\beta$  của thành phần 17-hydroxy-pregnenolon. Sau khi chuỗi phản ứng này kết thúc sẽ chuyển 11-deoxycortisol thành cortisol và 11 deoxycorticosteron thành corticosteron [8].

Tại vùng cầu của lớp vỏ thượng thận, enzym P<sub>450</sub> aldo hay còn gọi là CYP11 B2 đóng vai trò trung gian cho quá trình hydroxyl hóa tại vị trí 11 $\beta$  và quá trình oxy hóa ở vị trí 18 để chuyển đổi từ 11-deoxycorticosteron thành corticosteron và 18-hydroxycorticosteron. Cuối cùng của chuỗi phản ứng này sẽ tạo thành aldosteron là hormon có vai trò trong chuyển hóa muối nước.

Trong hệ võng nội mạc, chỉ có một enzym P<sub>450</sub>C17 là đóng vai trò trung gian cho quá trình hoạt động của 17 $\alpha$ -hydroxylase và 17-20 lyase, đối với enzym P<sub>450</sub>C21 làm trung gian cho quá trình hydroxyl hóa ở vị trí 21 của progesteron và 21-hydroxyprogesteron.

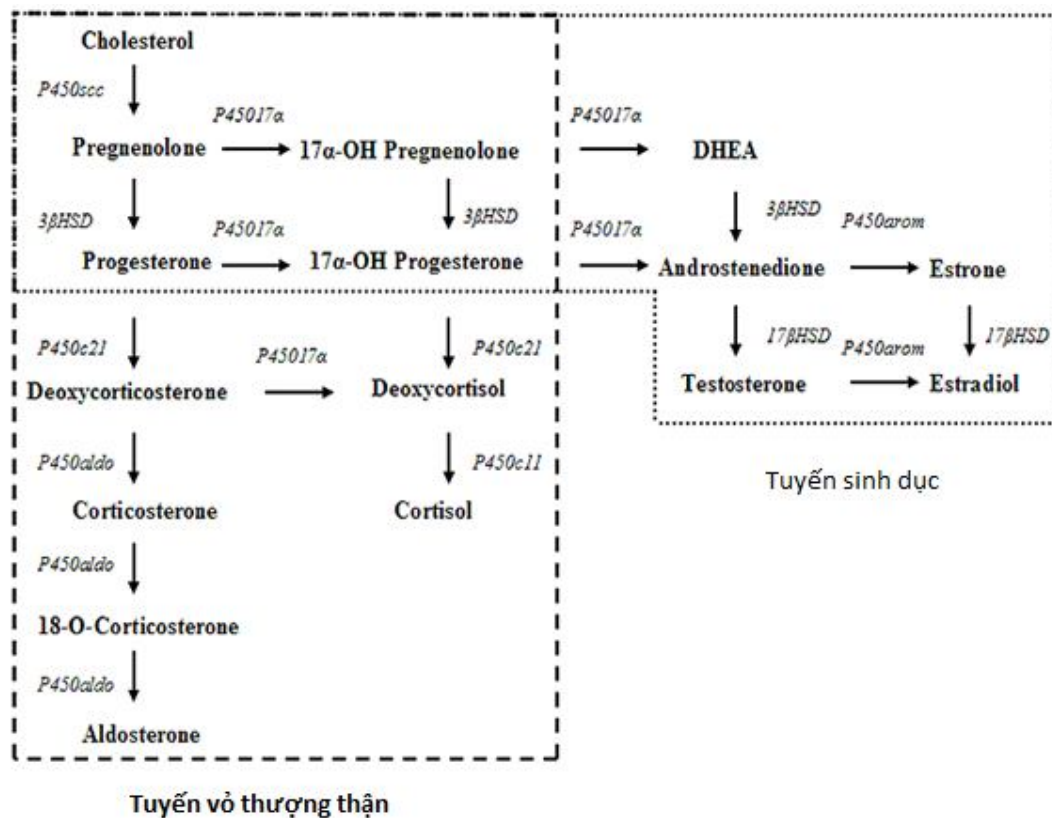
Androgen của vỏ thượng thận được tổng hợp khởi đầu là tác dụng của enzym P<sub>450</sub>C17, với sự hoạt hóa của enzym này các thành phần pregnenolon và progesteron được hydroxyl hóa ở vị trí 17 $\alpha$ . Tại ty thể của tế bào dưới tác dụng của enzym 17,20 demolase chuỗi bên có 2 nguyên tử carbon ở vị trí 17 sẽ bị tách ra khỏi thành phần của 17-hydroxy-pregnenolon để tạo thành DHEA có chứa nhóm ceto ở vị trí C17. Tiếp theo dưới tác dụng của enzym sulfokinase của thượng thận thì DHEA được chuyển thành DHEA sulfat, đây là một quá trình thuận nghịch. Enzym 17,20 demolase cũng có tác dụng chuyển đổi từ 17-hydroxyprogesteron thành androstenedion, còn lại một phần nhỏ androstenedion được thành lập từ DHEA [9],[10].

Ở người trưởng thành các androgen bao gồm cả DHEA và androstenedion hay estrogen gồm estron (E1) và estradiol (E2) chủ yếu được



tổng hợp ở tinh hoàn đối với nam giới và buồng trứng đối với nữ giới dưới tác dụng các hormon kích thích như LH và FSH [8].

Tuy nhiên, con đường sinh tổng hợp các hormon steroid với các thành phần tham gia là rất giống nhau trong tất cả các mô, sự khác biệt trong khả năng tổng hợp và bài tiết là sự kích thích hay ức chế của một số enzym cụ thể. Sinh tổng hợp của hormon steroid đòi hỏi một kích thích của các enzym oxy hóa nằm cả trong ty thể và lưới nội chất.



**Hình 1.3. Sơ đồ tổng hợp các hormon steroid [15]**

#### 1.1.4. Tác dụng sinh học

Các hormon steroid được giải phóng và lưu thông trong máu ngay sau khi chúng được hình thành, chúng được lưu thông đến các bộ phận khác nhau của cơ thể và thực hiện hoạt tính sinh học bằng cách đi qua màng tế bào và

liên kết với các thụ thể trong tế bào. Phức hợp hormon steroid - thụ thể thực hiện tác dụng sinh học của chúng bằng cách gắn vào nucleotid cụ thể trong ADN của gen đáp ứng [8].

Sự tương tác của phức hợp hormon steroid - thụ thể với ADN có thể gây ra sự kích thích hoặc kìm hãm quá trình phiên mã của các gen liên quan. Một số rối loạn nội tiết cũng liên quan đến các rối loạn trong sinh tổng hợp steroid do khiếm khuyết enzym cụ thể. Không có khả năng tiết ra mức bình thường của steroid thượng thận có thể dẫn đến mắc bệnh tăng sản bẩm sinh tuyến thượng thận (CAH). Trong phần lớn các trường hợp, hội chứng này là do đột biến gen CYP21A2 và được kết hợp với tăng tiết androgen thượng thận và một phần nam hóa ở các bé gái. Khiếm tật trong tổng hợp androgen tinh hoàn (do đột biến gen CYP17 hoặc  $17\beta$ -HSD) có thể dẫn đến hiện tượng lưỡng tính ở nam [16],[17],[18].

Các hormon steroid được tổng hợp và bài tiết bởi các tuyến nội tiết như vỏ thượng thận và tuyến sinh dục. Sau khi giải phóng vào máu, chúng lưu hành đến các bộ phận khác nhau của cơ thể, nơi chúng đem lại những đáp ứng cụ thể từ các tế bào cụ thể.

Các glucocorticoid ảnh hưởng đến hoạt động chuyển hóa carbohydrat, protein và lipid và ảnh hưởng của một loạt các chức năng quan trọng khác bao gồm các phản ứng viêm và khả năng thích ứng với sự căng thẳng. Các mineralocorticoid phần lớn chức năng để điều chỉnh sự bài tiết muối và nước của thận. Cả androgen và estrogen đều ảnh hưởng đến sự phát triển sinh dục và chức năng. Các hormon này tạo nên sự khác biệt giới tính, từ các đặc điểm giới tính thứ cấp đến các hành vi tình dục. Progesteron được sản xuất bởi thể vàng và nhau thai, nó tác động đến sự phát triển của niêm mạc tử cung và

tuyến vú. Progesteron có vai trò điều tiết các hoạt động liên quan đến chu kỳ kinh nguyệt và mang thai [19],[20].

### ***1.1.5. Một số phương pháp định lượng hormon steroid***

Nhiều kỹ thuật đã được sử dụng trong các nghiên cứu lâm sàng và xác định nồng độ steroid lưu hành. Phương pháp xét nghiệm miễn dịch đã được sử dụng rộng rãi trong phân tích do tính đơn giản và kinh tế, tuy vậy tính đặc hiệu và độ nhạy chưa cao để phân tích đồng thời nhiều loại steroid trong các mẫu sinh học. Sắc ký lỏng kết hợp với khối phổ kép (LC-MS/MS) là một lựa chọn tốt cho định lượng các hormon steroid trên phạm vi rộng. Kỹ thuật này tránh được vấn đề phản ứng chéo của kháng thể. Một lợi thế của kỹ thuật LC-MS/MS là khả năng phân tích nhiều steroid cùng một lúc. Kể cả khi khối lượng mẫu hạn chế như phân tích trong mẫu nước bọt, trong mẫu tóc. Kỹ thuật LC-MS/MS đặc biệt quan trọng với tính ưu việt về độ nhạy và độ chính xác.

#### ***1.1.5.1. Phương pháp xét nghiệm miễn dịch***

##### **\* Kỹ thuật ELISA**

ELISA (Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay) là một kỹ thuật miễn dịch hóa học để phát hiện kháng thể hay kháng nguyên trong mẫu cần phân tích. Hiện nay ELISA được sử dụng rộng rãi trong nhiều lĩnh vực nghiên cứu như y học và đặc biệt là trong các quy trình định lượng một số marker sinh học.

Phương pháp ELISA có rất nhiều dạng mà đặc điểm chung đều dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với một enzym. Khi cho thêm cơ chất thích hợp vào phản ứng, enzym sẽ thủy phân cơ chất thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng thể với kháng nguyên và thông qua cường độ màu mà biết được nồng độ kháng nguyên hay kháng thể cần phát hiện.

Phương pháp này được thiết kế cho việc phát hiện và định lượng vật chất như peptides, protein, antibodies, hormon,...

Kỹ thuật này khá nhạy và đơn giản, cho phép ta xác định kháng nguyên hoặc kháng thể ở một nồng độ thấp (khoảng 0,1 ng/ml). So với kỹ thuật miễn dịch phóng xạ thì kỹ thuật này rẻ tiền và an toàn hơn mà vẫn đảm bảo độ chính xác như nhau.

Kỹ thuật ELISA gồm ba thành phần tham gia phản ứng là: kháng nguyên, kháng thể và chất tạo màu.

Kỹ thuật được thực hiện qua hai bước: Phản ứng miễn dịch học (1) đó là sự kết hợp giữa kháng nguyên và kháng thể; Phản ứng hóa học (2) giai đoạn này thông qua hoạt tính xúc tác của enzym làm giải phóng oxy nguyên tử [O] từ  $H_2O_2$  để oxy hóa cơ chất chỉ thị màu, do đó làm thay đổi màu của hỗn hợp trong dung dịch thí nghiệm.

#### **\* Kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang**

Xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang (Fluoroimmunoassay: FIA) là một kỹ thuật tương tự như kỹ miễn dịch phóng xạ ngoại trừ chất đánh dấu là một chất huỳnh quang thay vì là một đồng vị phóng xạ. Như trong xét nghiệm miễn dịch khác, phương pháp FIA có thể được phân loại thành các xét nghiệm không đồng nhất và đồng nhất.

Phương pháp FIA cung cấp độ nhạy dao động từ 0,01 đến 2 ng/ml, kỹ thuật này được dựa trên những nguyên lý:

+ Khi một chất phân tích liên hợp huỳnh quang được kích thích với ánh sáng phân cực, sự phân cực của phát xạ tỷ lệ nghịch với hằng số phân rã của chất thăm dò và trên chuyển động quay của liên hợp. Với các phân tử nhỏ được xoay ngẫu nhiên để làm giảm tín hiệu phân cực.

+ Khi ràng buộc với kháng thể đặc hiệu, quá trình luân chuyển bị chậm lại và tăng tín hiệu phân cực. Sự gia tăng các tín hiệu phân cực là liên quan với nồng độ của chất phân tích.

Các phương pháp phân tích miễn dịch huỳnh quang phân cực sử dụng rất đơn giản, chính xác và dễ dàng thực hiện. Vì vậy, các phương pháp này được áp dụng rộng rãi trong nghiên cứu phát hiện ma túy [21] cũng như trong việc theo dõi điều trị của một loạt các chất phân tích [21],[22],[23]. Gần đây, một bước cải thiện kỹ thuật miễn dịch huỳnh quang phân cực được phát triển cho phân tích của hormone progesteron sử dụng một thuốc thử immunocomplex duy nhất (một hỗn hợp tiền cân bằng của kháng thể và đánh dấu) [24]. Xét nghiệm này được thực hiện nhanh chóng và không cần thời gian ủ trước khi đo các tín hiệu phân cực huỳnh quang (tổng thời gian khảo nghiệm là khoảng 7 phút cho 10 mẫu). Giới hạn phát hiện của xét nghiệm này là 2,7 ng/ml với 50 ml mẫu.

Phương pháp miễn dịch huỳnh quang phân cực có độ nhạy cao đã được phát triển để phân tích nhiều thành phần, hormone trong dịch sinh học. Lợi thế của kỹ thuật này là khả năng giải quyết sự phát tín hiệu huỳnh quang nền (do dịch sinh học) từ huỳnh quang khảo nghiệm. Vì vậy, sự phát huỳnh quang nội sinh không cụ thể đã được loại bỏ.

#### **\* Kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang**

Xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang (Chemiluminescent Immuno Assay: CLIA) liên quan đến một chất phát quang ánh sáng như là một đánh dấu. Kỹ thuật này phát triển mạnh mẽ trong phân tích hormone, được phẩm do hiệu quả của nó cao, giới hạn phát hiện thấp và độ chính xác tốt.

Các xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang đã được sử dụng để phân tích nhiều hợp chất có tầm quan trọng như dược phẩm, hormone và các marker sinh học khác [25]. Các phản ứng quang hóa được áp dụng cho việc xác định các chất sinh học quan trọng trong dược phẩm, hay có thể được áp dụng để theo dõi khí thải sử dụng tiêm dòng chảy, sắc ký lỏng và phân tích điện di mao mạch, cũng như cho sự phát triển của các bộ cảm biến quang hóa

dựa trên thử nghiệm miễn dịch. Nói chung cường độ phát tín hiệu là tuyến tính và tỷ lệ thuận với nồng độ của bất kỳ của các thuốc thử. Kỹ thuật này cho phép phân tích các thành phần khác nhau tham gia vào các phản ứng phát quang của sản phẩm phản ứng, trong số đó là những thuốc thử chemiluminescent, oxy hóa, các chất ức chế, chất xúc tác và một số chất huỳnh quang [26].

Kỹ thuật này mở ra triển vọng cho tăng độ nhạy phát hiện trong dòng chảy thu nhỏ. Mặt khác, một số nhược điểm vẫn còn hạn chế cho việc áp dụng phương pháp này như sự phụ thuộc của các tín hiệu phát xạ trên một số yếu tố môi trường buộc các nhà phân tích phải cân nhắc để thực hiện các điều kiện giữa tách và đo lường, do vậy nó thiếu chọn lọc trong các trường hợp cụ thể.

#### **\* Kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch – điện hóa phát quang**

Kỹ thuật điện hóa phát quang (Electrode Chemi Luminescence: ECL) sử dụng chất đánh dấu là ruthenium khởi phát từ điện chứ không phải từ phản ứng hóa học. Vì vậy khả năng phát hiện những chất có nồng độ thấp và cho kết quả rất nhanh chỉ trong vòng 18 – 20 phút. Các kháng thể (hoặc kháng nguyên) gắn biotin và chất đánh dấu ruthenium cùng vi hạt phủ streptavidin được ủ trong hỗn hợp phản ứng. Khi đặt một điện thế lên điện cực buồng đo, phức hợp ruthenium được kích hoạt và tín hiệu phát quang được hình thành. Tín hiệu được đo và kết quả xét nghiệm được xác định qua đường chuẩn xét nghiệm đã được thiết lập.

#### **\* Kỹ thuật xét nghiệm miễn dịch – phóng xạ**

Lịch sử và phát triển của miễn dịch phóng xạ (Radioimmunoassay: RIA) được gắn liền với các tác giả Najjar và Weintraub [27].

Phương pháp pháp định lượng miễn dịch phóng xạ RIA dựa trên tính đặc hiệu cao của phản ứng miễn dịch, trong đó chất cần định lượng đóng vai trò là kháng nguyên (KN) cùng với kháng nguyên đồng nhất về miễn dịch

nhưng được đánh dấu bằng đồng vị phóng xạ (KN\*) liên kết với một kháng thể (KT) đặc hiệu để tạo thành các phức hợp KN\*-KT và KN-KT.

Hầu hết các phương pháp hiện nay được tự động với sự hỗ trợ của việc sử dụng các kháng thể ràng buộc vào một ma trận ở pha rắn. Lợi thế quan trọng nhất của RIA trong các phép đo để xác định các hợp chất trong dịch sinh học với độ chính xác và độ nhạy cao mà nó hoàn toàn vượt trội so với các kỹ thuật miễn dịch thông thường [28].

Với độ đặc hiệu và độ chính xác cao, kỹ thuật này có thể định lượng được hầu hết các hormon trong cơ thể, góp phần quan trọng trong chẩn đoán các bệnh nội tiết như đái tháo đường, các rối loạn chức năng tuyến giáp, rối loạn chuyển hoá, rối loạn nội tiết sinh dục...

Ngày nay phương pháp này ngày càng được cải tiến và mở rộng trong nhiều lĩnh vực như: nghiên cứu miễn dịch học, đánh giá tình trạng dinh dưỡng, ung thư học. Đặc biệt việc sản xuất được kháng thể đơn dòng đã làm tăng hơn nữa độ nhạy của kỹ thuật RIA để có thể định lượng những chất có nồng độ thấp trong huyết thanh.

#### *1.1.5.2. Phương pháp sắc ký*

Sắc ký là một nhóm các phương pháp hóa lý dùng để tách các thành phần của một hỗn hợp. Sự tách sắc ký được dựa trên sự phân chia khác nhau của các chất khác nhau vào hai pha luôn tiếp xúc và không hòa lẫn vào nhau. Khi các chất di chuyển qua hệ thống sắc ký với tốc độ khác nhau sẽ được phân tách theo thời gian. Mỗi chất đi qua hệ thống trong một khoảng thời gian riêng biệt, gọi là thời gian lưu. Trong kỹ thuật sắc ký, hỗn hợp được chuyển chở trong chất lỏng hoặc khí và các thành phần của nó được tách ra do sự phân bố khác nhau của các chất hòa tan khi chúng chảy qua pha tĩnh rắn hoặc lỏng. Nhiều kỹ thuật khác nhau đã được dùng để phân tích hợp chất phức tạp dựa trên ái tính khác nhau của các chất trong môi trường động (khí hoặc lỏng)

và đối với môi trường hấp phụ tĩnh mà chúng di chuyển qua như giấy, gelatin hay gel magnesium silicate,... Sắc ký là phương pháp để phân tách và tinh sạch các phân tử sinh học dễ dàng và không ảnh hưởng đến protein, đây là phương pháp được áp dụng nhiều trong nghiên cứu định lượng protein hay các phân tử.

#### **\* Kỹ thuật sắc ký giấy**

Sắc ký giấy là một phương pháp phân tách dễ dàng các thành phần của một hỗn hợp (acid amin). Trong sắc ký giấy, pha tĩnh được thực hiện trên một bản giấy bằng cellulose, pha động là chất lỏng. Phương pháp sắc ký giấy định lượng hormon steroid đã được phát triển mà thường được sử dụng như là một thử nghiệm ổn định cho este steroid có một cấu trúc 4-dehydro-3-keto. Phương pháp này bao gồm các bước cơ bản cho sự tách biệt giữa các ester steroid gốc và steroid tự do và sự rửa giải để định lượng các ester steroid từ hỗn hợp ban đầu [29].

Trong khi ly giải, dung môi di chuyển dọc theo bề mặt sợi và các lỗ rỗng trên bề mặt giấy cellulose sẽ được phủ đầy dung môi. Như thế, các chất tan bị phân tán nhiều trong lỗ rỗng khiến các vết sắc ký to hơn. Bột giấy hấp thu nước, nước bị giữ lại trong cấu trúc glucopyranose bằng cầu nối hydrogen, vì thế quá trình sắc ký xảy ra theo cơ chế phân chia. Những hormon khác nhau sẽ được trải ra ở những điểm khác biệt trên bản giấy và tạo thành một sắc ký đồ.

#### **\* Kỹ thuật xét nghiệm sắc ký lỏng khối phổ**

Sắc ký lỏng khối phổ (Liquid chromatography–mass spectrometry: LCMS) là phương pháp được dùng trong phân tích vết các hợp chất cần nhận danh chính xác. Trong những điều kiện vận hành nhất định ngoài thời gian lưu đặc trưng, các chất còn được nhận danh bằng khối phổ của nó dựa trên sự chuyển động của các ion nguyên tử hay ion phân tử trong một điện trường



hoặc từ trường nhất định. Tỉ số giữa khối lượng và điện tích ( $m/z$ ) có ảnh hưởng rất lớn đối với chuyển động này của ion. Nếu biết được điện tích của ion thì ta dễ dàng xác định được khối lượng của ion đó.

Phân tích hormon steroid trên hệ thống LS-MS/MS hiện đang được phát triển và ứng dụng mạnh mẽ trong các phòng thí nghiệm. Phương pháp này thích hợp cho việc nghiên cứu nhiều hormon đồng thời chỉ với lượng huyết tương nhỏ (khoảng 50 $\mu$ l). Ưu điểm nổi bật của LC-MS/MS là đo lường chính xác, trực tiếp những hormon steroid và có thể cung cấp những thông tin liên quan đến nghiên cứu lâm sàng, nghiên cứu điều tra trên diện rộng về các hiệu ứng bệnh lý liên quan đến các steroid (chi tiết của phương pháp ở phần phụ lục 4).

## **1.2. Chất độc da cam/dioxin**

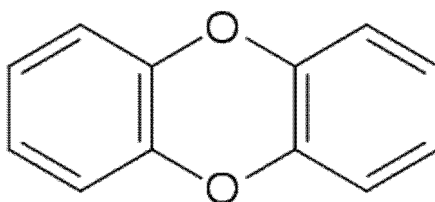
Trong chiến tranh tại Việt Nam, giai đoạn 1961 đến 1972 quân đội Mỹ đã sử dụng một lượng lớn các chất hóa học và thuốc diệt cỏ khác nhau có tạp nhiễm dioxin như chất da cam, chất trắng, chất tím hay chất xanh nhằm phá hủy các bụi cây, cánh rừng hay những cánh đồng là nơi ẩn nấp và nguồn cung cấp thực phẩm cho quân đội giải phóng [3].

Chất độc da cam là hóa chất diệt cỏ có tạp nhiễm một lượng lớn các thành phần dioxin đã được sử dụng rộng rãi với số lượng lớn hơn các chất khác. Chất độc da cam là một hợp chất gồm 2 thành phần 2,4 - D và 2,4,5 - T với tỷ lệ 50/50. Chất này chỉ tồn tại vài ngày hoặc vài tuần, sau đó tự tiêu hủy nhưng tạp nhiễm các độc chất dioxin thì không dễ dàng phân hủy. Cho đến nay vẫn đang gây ra các vấn đề về sức khỏe cho người dân ở Việt Nam.

Dioxin có tên hóa học là dioxin 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-para hay còn gọi là TCDD. Nó là một chất hữu cơ bền vững và độc nhất trong số khoảng 419 loại hợp chất độc tương tự, bao gồm PCBs (polychlorinated biphenyls) [1].

### 1.2.1. Công thức hóa học

Cấu trúc hóa học của dibenzo-para-dioxin bao gồm hai nhân thơm benzen liên kết với nhau bởi hai cầu nối oxy. Điều này làm cho các hợp chất trở thành cấu trúc một nhân thơm di-ether.

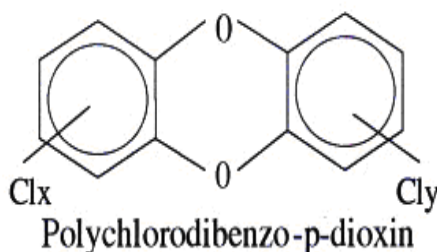


**Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của dibenzo-para-dioxin**

Cấu trúc hóa học của dioxin là 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*para*-dioxin (TCDD), có đặc trưng bởi sự ổn định với nhiệt độ và khả năng phản ứng thấp. TCDD chỉ bị phân hủy ở nhiệt độ trên 750<sup>0</sup>C và không tác dụng với kiềm hay acid ngay cả khi bị đun nóng. Những nghiên cứu về cấu trúc của TCDD cho biết, TCDD có cấu trúc phẳng, sự phân bố mật độ electron –  $\pi$  giữa các vòng được thực hiện để làm mất độ cực đại nằm trong khu vực của vòng 1,4-dioxin, còn ở những nguyên tử carbon kết hợp với các nguyên tử clo thì mật độ electron –  $\pi$  là cực tiểu. Ứng với công thức đó phân tử TCDD ở trạng thái bazơ có một trung tâm cho và 2 trung tâm nhận. Hợp chất này có thể tạo thành các phức hợp bền vững hơn các chất có 2 trung tâm cho và một trung tâm nhận gần giống như ở TCDD. Cấu trúc hóa học này giải thích cho những đặc tính hóa lý của TCDD [30].

Trong phân tử polychlorinated dibenzo-*para*-dioxins (PCDDs), nguyên tử clo được gắn vào cấu trúc này ở bất kỳ vị trí nào trong 8 nơi khác nhau trên phân tử, tại các vị trí từ 1-4 và từ 6-9. Do cách bố trí cấu tạo như vậy nên có 75 PCDD đồng phân khác nhau [31]

Độc tính của PCDDs phụ thuộc vào số lượng và vị trí của các nguyên tử clo. Đồng phân có chứa 4 nguyên tử clo ở các vị trí 2, 3, 7, và 8 đã được tìm thấy là có độc tính mạnh nhất (hình 1.5). Nhưng trong thực tế, có 7 đồng phân không gian khác nhau với vị trí quay khác nhau của các nguyên tử clo được xem là có độ độc hại tương đương nhau theo phân loại của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO-TEQ) [32].



**Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của PCDD [2]**

### **1.2.2. Tính chất lý học, hóa học của dioxin**

#### **\* Đặc tính lý học**

Dioxin có áp suất bay hơi rất thấp, cụ thể là  $7,4 \pm 0,4 \cdot 10^{-10}$  mm Hg ở nhiệt độ 25°C [33]. Hầu như không tan trong nước thường, chủ yếu tan trong các dung môi hữu cơ.

Trong đất dioxin có thể bị thay đổi các quá trình lý học, hóa học và sinh học nhờ sự hiện diện của một số vi sinh vật, chuyển hóa chất ban đầu thành những tạp chất khác. Dựa trên so sánh nồng độ giả định và nồng độ thực tế thu được, U.S EPA nhận định rằng quá trình bay hơi đóng vai trò là cơ chế

chính trong sự phân hủy của dioxin trong đất. Nhưng quá trình bay hơi lại diễn ra rất chậm vì dioxin có áp suất bay hơi rất thấp [34].

**\* Tích lũy sinh học của dioxin trong nước**

Trong môi trường nước, ở sông ngòi dioxin thường tập trung trong cặn lắng bùn, từ đó có thể xâm nhập vào cơ thể một số thủy sản tầng đáy như sò, cua hến và các loài khác. Tỷ lệ tích lũy dioxin ở cá thường cao hơn so với tích lũy trong cặn lắng từ 1-10 lần. Ví dụ cá ở tầng đáy như cá bống ở một số sông hồ có tỷ lệ tích lũy cao gấp 10 lần so với tích lũy trong bùn sông.

Ở Việt Nam sau khi cuộc chiến tranh hóa học kết thúc, năm 1973 Baughmann và Medeslon đã lấy mẫu và phân tích, cho thấy nồng độ dioxin trung bình trong mẫu tôm, ếch ở Cần giờ là 49ppt. Năm 1989 nồng độ dioxin đã giảm xuống đáng kể ở mức thấp nhất 0,46 ppt. Tuy nhiên ở những vùng bị rải nặng nồng độ dioxin vẫn còn cao. Năm 1996 định lượng dioxin trong cá ở khu vực xã Aso thuộc huyện A Lưới – Thừa Thiên Huế một trong những vùng bị rải nặng trước đây có hàm lượng là 51ppt [35].

**\* Tích lũy sinh học trong gia cầm và động vật**

Những loài gia cầm và động vật cho sữa có thể tích lũy một lượng đáng kể dioxin và các hợp chất hữu cơ. Những nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy trong thực phẩm của một số động vật hoang dã, ăn thịt sống lâu trong vùng bị rải hàm lượng TCDD rất cao. Năm 1988, Olie phân tích phủ tạng của một con rùa bắt ở trong vùng bị rải nặng cho thấy trong buồng trứng, gan, cơ và túi mật đều chứa một lượng TCDD cao đặc biệt trong buồng trứng là 223,4 ppt trọng lượng khô. Đây là hàm lượng TCDD cao nhất được xác định trong thú hoang dã ở miền Nam cho đến nay. Trong các phủ tạng thì buồng trứng là nơi tập trung cao nhất tiếp đó là gan, túi mật, cơ có hàm lượng thấp nhất [1].

**\* Chuyển hóa vào cây trồng**

Dioxin từ trong đất được chuyển hóa vào cây trồng, nhưng mức độ chuyển hóa vào cây trồng vẫn còn chưa xác định rõ. Một số nhà khoa học cho rằng dioxin chuyển hóa vào cây trồng rất cao, ngược lại một số nghiên cứu khác lại cho rằng dioxin chuyển hóa vào cây trồng là không đáng kể.

Tuy nhiên có thể thấy rằng trên đất nhiễm dioxin các cây trồng cho củ có thể tích lũy một lượng dioxin đáng kể, còn các cây trồng cho quả thì sự tích lũy là nhỏ song không có nghĩa là không nguy hiểm.

**\* Thời gian bán hủy**

Thời gian bán phân hủy của dioxin trong cơ thể sống cũng thay đổi tùy loài. Theo cơ quan bảo vệ môi trường Hoa Kỳ (EPA) thời gian bán hủy trong cơ thể con người có thể là 3-5 năm , 10 năm hoặc có khi kéo dài đến 30 năm [34]. Trung tâm kiểm soát bệnh tật Mỹ (CDC) năm 1980 khi nghiên cứu bệnh tật cựu chiến binh Mỹ tham chiến ở Việt Nam (từ 8/1964 đến 5/1975), đã kết luận thời gian bán hủy của dioxin là 6-10 năm. Nghiên cứu của Viện nghiên cứu Sức khỏe và Bảo hộ lao động Hoa Kỳ (NIOSH) trên cựu chiến binh Mỹ tham gia cuộc chiến tranh hóa học Việt Nam và dân thường Missouri cho rằng thời gian bán hủy là 15-20 năm (CDC 1989a). Viện nghiên cứu Y học quốc gia hoa kỳ (IOM) lấy con số 10 năm làm thời gian bán phân hủy của dioxin trong cơ thể người (IOM 1994) Michlek nghiên cứu trên cựu binh Mỹ xác định thời gian bán phân hủy là 8,5 năm [36].

**1.2.3. Các nguồn ô nhiễm**

Dioxin là sản phẩm phụ không mong muốn của một số ngành công nghiệp hóa chất, chủ yếu là các lĩnh vực sản xuất công nghiệp các chất hữu cơ có chứa chất Clo.

Quá trình đốt cháy chất thải sinh hoạt, chất thải y tế hoặc cháy rừng. Các quá trình sản xuất với đặc điểm công nghệ bền với nhiệt độ như lò luyện

kim sắt thép, lò chế biến kim loại đốt cháy dây điện, cáp kim loại thứ cấp để luyện thép, phục hồi tái chế các kim loại phế thải như nhôm, chì, kẽm, đồng, thải mangan.

Ở Việt Nam, hiện nay nguồn dioxin được quan tâm là hậu quả của chiến tranh, một lượng lớn dioxin có trong thành phần của chất diệt cỏ do quân đội Mỹ đã sử dụng trong chiến dịch Ranch Hand và chiến dịch Pacer Ivy từ năm 1961 đến 1972. Số lượng hóa chất đã sử dụng hiện vẫn còn tranh cãi. Sau khi kết thúc chiến tranh Bộ Quốc Phòng Mỹ đã cung cấp dữ liệu cho rằng tổng lượng chất hóa học đã được rải tại Việt Nam vào khoảng 72 triệu lít. Nhưng thống kê thực cho thấy lượng chất diệt cỏ đã được sử dụng khoảng 74 triệu lít. Trong đó chất da cam chiếm 61% lượng rải và 86% lượng hóa chất được rải bằng máy bay có cánh cố định C123.

Vấn đề quan tâm lớn hiện nay đó là sự tồn lưu của dioxin. Sau khi được rải xuống môi trường, chúng gây ô nhiễm trong bùn đất và nguồn nước rồi tồn tại và gây độc hại với thiên nhiên. Đồng thời xâm nhập vào cơ thể người thông qua thức ăn, nước uống và ảnh hưởng tới sức khỏe. Chu kỳ bán hủy của dioxin trong môi trường khoảng từ 15 đến 20 năm, trong cơ thể con người là từ 7 đến 11 năm [37]. Như vậy lượng dioxin tồn lưu trong thiên nhiên và người dân Việt Nam sẽ vẫn đang là vấn đề thách thức, đặc biệt là những người dân sống ở các khu vực bị ô nhiễm nặng nhất là những “điểm nóng dioxin” gồm khu vực quanh sân bay Biên Hòa, Phù Cát và Đà Nẵng [38].

#### **1.2.4. Chuyển hóa và bài tiết**

##### **1.2.4.1. Chuyển hóa**

Trong gan TCDD được chuyển hóa bởi một số enzym để tạo thành các dẫn xuất có thể tan trong nước với độc tính giảm hơn và dễ dàng đào thải khỏi cơ thể hơn bản thân TCDD. Mặc dù quá trình chuyển hóa của TCDD chưa thực sự rõ ràng, nhưng có tới 6 đồng phân của TCDD được xác định là

chuyển hóa tại mật khi nghiên cứu thực nghiệm trên chó với liều gây chết [39]. Qua các nghiên cứu thực tiễn, các nhà khoa học phát hiện ra rằng chất chuyển hóa chính của TCDD là Glucuronid [40]. Sự loại bỏ liên kết của các TCDD đã được chuyển hóa bằng  $\beta$  - glucuronidase sẽ tạo 1-hydroxit - 2,3,7,8-TCDD và 8-hydroxy-2,3,7,-trichloro-3-hydroxydibanzo-para-dioxin.

Con đường chuyển hóa chính của TCDD trong thử thực nghiệm liên quan đến quá trình oxy hóa nguyên tử carbon không thay thế gần nguyên tử oxy nhất trong phân tử TCDD. Sự trao đổi sinh học hay chuyển hóa của TCDD có thể coi như là quá trình phản ứng và làm giảm độc tính của độc tố này với cơ thể [41].

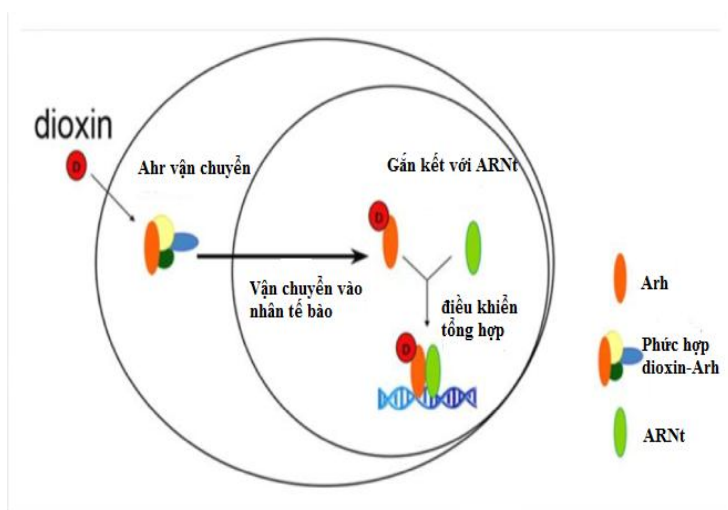
#### *1.2.4.2. Bài tiết*

Tốc độ và con đường bài tiết dioxin ở động vật thực nghiệm thay đổi theo loài. Sau khi gây độc bởi liều đơn TCDD ở một số loài cho thấy, đào thải rất chậm ở chuột đồng với thời gian bán đào thải là 11 ngày, với chuột lang trung bình là 94 ngày [42]. Ở thỏ sau các liều lặp lại, thời gian bán đào thải dao động từ 16-37 ngày. Con đường đào thải TCDD ở chuột và thỏ chủ yếu qua phân và nước tiểu [43],[44],[45]. Đối với một số loài động vật thực nghiệm khác thì chỉ đào thải chủ yếu qua phân [46],[47],[48]. Một phần nhỏ lượng  $^{14}\text{C}$ -TCDD đồng vị phóng xạ cũng được bài tiết bằng đường hô hấp [46].

Mặc dù TCDD được đào thải qua nhiều con đường khác nhau nhưng ở động vật thực nghiệm TCDD không thể chuyển hóa được hoàn toàn. Ở thỏ và chuột đồng trong phân đào thải còn 15 - 35% TCDD chưa chuyển hóa, trong khi đó ở chuột lang tỷ lệ này còn cao hơn nhiều là 81%. Tuy nhiên mối liên hệ giữa liều phơi nhiễm với tốc độ đào thải và bài tiết được hiểu biết còn hạn chế, cũng như chưa tìm thấy mối quan hệ có ý nghĩa giữa chuyển hóa, phân bố với độc tính của TCDD ở các loài khác nhau.

### 1.2.5. Cơ chế tác động

Cho đến nay đã có nhiều công trình nghiên cứu về lĩnh vực này nhưng cơ chế tác động của dioxin còn nhiều điều cần được nghiên cứu và làm sáng tỏ hơn. Phần lớn những nghiên cứu về cơ chế của dioxin tập trung vào việc xác định môi trường tác giữa phân tử dioxin với một loại protein nội bào trong cơ thể tên gọi là thụ thể AhR (Aryl hydrocarbon Receptor) (Hình 1.6).



**Hình 1.6. Hoạt động của thụ thể AhR và tương tác với dioxin trong tế bào<sup>[49]</sup>**

Dioxin đi vào tế bào bằng cách khuếch tán qua màng tế bào nhờ các chất béo. Thông thường một hóa chất hòa tan trong nước sẽ được vận chuyển qua màng tế bào bởi những thụ thể vận chuyển màng, nhưng dioxin khuếch tán qua màng tế bào vì độ hòa tan trong lipid.

#### 1.2.5.1. Cơ chế tác động thông qua thụ thể AhR

Thụ thể AhR có mặt trong hầu hết mọi cơ quan và tế bào của cơ thể, là protein có đặc tính bảo tồn cao, đóng vai trò nền tảng trong sinh lý tế bào, sinh lý cơ quan và trong cân bằng nội môi. Nó có khả năng liên kết với các hydrocarbon aryl mà dioxin là một trong những hydrocarbon đó.



Thụ thể AhR tồn tại trong một trạng thái không hoạt động như một phức hợp multiprotein trong tế bào. Khi phân tử dioxin liên kết với các phức hợp AhR multiprotein, nó sẽ thay đổi cấu trúc và thay đổi hình dạng. Điều này làm cho thụ thể AhR di chuyển vào nhân tế bào, nơi chứa đựng sợi nhiễm sắc thể của ADN tế bào. Ngay sau khi di chuyển vào trong nhân, thụ thể AhR có chứa hỗn hợp thành phần dioxin liên kết với một loại protein cấu trúc liên quan gọi là ARNT.

Phức hợp AhR/ARNT sẽ liên kết với các gen đích aryl hydrocarbon để ảnh hưởng đến hoạt động của các gen. Điều này dẫn đến tăng hệ số của quá trình phiên mã gen vào mRNA và sau đó là protein. Vì vậy, việc kiểm soát toàn bộ quy định chuyển đổi gen được tổ chức lại và kết quả là sự hỗn loạn trao đổi chất xảy ra [50], [51].

Tương tác với thụ thể AhR, dioxin gây ra nhiều biến đổi sinh học không có lợi. Nó ảnh hưởng tới hormon steroid, tới yếu tố tăng trưởng [52]. Những thay đổi trực tiếp trong việc sao mã gen sẽ dẫn đến các ảnh hưởng gián tiếp thông qua thụ thể AhR. Một trong những thụ thể mà dioxin tương tác là thụ thể phát triển biểu bì (EGFR), bởi vậy mà các nhà khoa học cho rằng EGFR có thể là dấu ấn sinh học tốt cho dioxin [53]. Qua thụ thể phát triển biểu bì này, dioxin có thể cảm ứng gen điều khiển thụ thể tăng trưởng và giảm nhạy cảm tế bào với tín hiệu tăng trưởng. Thêm vào đó dioxin có thể dẫn đến sự phá hủy mô và phản ứng tăng sinh bù đắp có thể gây ra khiếm khuyết di truyền thường xuyên, tạo điều kiện cho sự biến đổi tân sinh tế bào tiếp theo rất có thể dẫn đến phát triển khối u và ung thư.

#### *1.2.5.2. Cơ chế tác động không qua thụ thể Ah*

Có một số tổn thương được coi như là không thông qua cơ chế AhR được đề cập đến. Sự cảm ứng của gen CYP1A1 bởi dioxin có thể làm tăng

các gốc oxy hoạt tính và gây stress oxy hóa, gây tổn thương oxy hóa các phân tử, tổn thương ADN dẫn đến các đột biến và gây ung thư, gây tổn thương nặng nề các màng sinh học và màng tế bào làm mất tính nguyên vẹn đó là nền tảng để nhiều bệnh lý xuất hiện [54].

Sự hoạt hóa AhR do dioxin còn gây tăng quá trình chết theo chương trình của tế bào ở một số vùng sau của não bộ có thể là căn nguyên gây suy giảm hoạt động chức năng của não bộ [55]. Ngoài ra có những đáp ứng do hoạt động sao chép và hậu sao chép không thông qua trung gian AhR như hoạt hóa biểu hiện của các gen tiền ung thư c-fos, c-jun và tăng hoạt tính của các yếu tố phiên mã protein hoạt hóa 1 [56].

Cơ chế tác động của dioxin là một vấn đề phức tạp và nan giải, trong đó có nhiều khía cạnh chưa có lời giải, các nhà nghiên cứu đang cố gắng để tìm ra câu trả lời chính xác và khoa học.

#### *1.2.5.6. Ngưỡng đáp ứng*

Có nhiều ý kiến khác nhau về việc có tồn tại hay không một mức mà dưới mức đó không có một tác động hóa học nào của dioxin. Một số thì cho rằng mọi tác động của dioxin trong đó có cảm ứng sao mã gen đều có ngưỡng đáp ứng. Số khác lại cho rằng chỉ có tổng hợp các tác động có sự phù hợp ít nhất là hai tác dụng trở lên – ví dụ như sự tăng trưởng tế bào mới, có thể có đường cong đáp ứng liều. Có nghĩa là có thể tồn tại một ngưỡng đáp ứng với dioxin mà từ đó phát huy tác dụng sinh học thông qua liên kết với thụ thể [57].

Cũng có một số nhà khoa học cho rằng, có thể có một ngưỡng đáp ứng sinh học với dioxin tuy nhiên họ không tìm cách xác định ngưỡng đó, vì họ cho rằng gánh nặng với dioxin của cơ thể có thể bị chònh chất thêm bởi các độc chất khác.

### ***1.2.6. Lịch sử ô nhiễm dioxin ở Việt Nam***

Dioxin là một hóa chất độc tính gấp nhiều lần các hóa chất ô nhiễm khác trong môi trường, đã ngày càng thu hút sự chú ý của khoa học. Những vụ tai nạn gây phát tán dioxin công nghiệp ngoài ý muốn của người sử dụng đã xảy ra ở một số nơi trên thế giới.

Trong cuộc chiến tranh ở Việt Nam, đặc biệt là giai đoạn 1961 đến 1971 với chiến dịch Ranch Hand và giai đoạn 1971 đến 1972 với chiến dịch Pacer Ivy một lượng lớn hóa chất có tạp nhiễm dioxin đã được sử dụng. Việc sử dụng hóa chất diệt cỏ có một lượng lớn dioxin trong chiến dịch Ranch Hand [3] đã gây nên những hậu quả nghiêm trọng đối với sức khỏe con người và môi trường Việt Nam trong mấy chục năm qua và vẫn tiếp tục gây hậu quả lâu dài [2]. Cụ thể, trong cuộc chiến tranh Việt Nam từ năm 1961 đến năm 1971, quân đội Hoa Kỳ đã rải 20 triệu US gallon tương đương với 76 triệu lít các loại chất hóa học và chất diệt cỏ có tạp nhiễm hàm lượng lớn dioxin tại Việt Nam, như một phần của chiến dịch [3]. Theo hồ sơ báo cáo của Không lực Hoa Kỳ cho thấy rằng có ít nhất 6.542 vụ rải đã diễn ra trong quá trình chiến dịch Ranch Hand [58].



***Hình 1.7. Máy bay Mỹ rải chất da cam xuống lãnh thổ Việt Nam trong chiến dịch Ranch Hand [59]***

Bên cạnh hậu quả của việc phun rải thì việc tẩy rửa các xe phun và máy bay sau khi phun rải, đặc biệt là sự cố đổ tràn các hóa chất này tại các khu lưu trữ và trong khi di chuyển cũng là những nguyên nhân gây nên tình trạng ô nhiễm. Do vậy cho đến nay vẫn còn tồn dư một lượng lớn dioxin trong môi trường sống và ảnh hưởng xấu đến sức khỏe người dân sống tại những khu vực này.



***Hình 1.8. Tập kết chất da cam/dioxin trước khi đưa đi phun rải trong những năm từ 1961 – 1972 [60]***

### ***1.2.7. Ảnh hưởng của dioxin đối với sức khỏe con người***

#### ***1.2.7.1. Rối loạn hệ thống miễn dịch và nội tiết***

##### ***\* Rối loạn miễn dịch***

Qua các nghiên cứu thực nghiệm, các nhà khoa học thấy rằng ở nồng độ cao TCDD làm giảm số lượng các tế bào lympho trong đó có tuyến ức là tuyến nhạy cảm nhất với TCDD [61]. Thay đổi chức năng hệ thống miễn dịch xuất hiện ở nồng độ thấp thậm chí dưới nồng độ thấp hơn mức giảm tiêu tế bào lympho [4].

TCDD làm teo tuyến ức mà tế bào đầu tiên là các tế bào đệm ở chuột thực nghiệm và làm giảm đồng loạt 4 loại tế bào T: CD4+, CD4+CD8+, CD4-CD8- và CD8+ [62].

Ngoài ra TCDD còn ảnh hưởng đến một số cytokin như làm tăng nồng độ interleukin IL-2, IL-3, IL-6, tăng IL1 $\beta$  và các yếu tố hoại tử TNF [63],[64].

TCDD cũng gây ức chế miễn dịch dịch thể làm giảm kháng thể tế bào lympho B trên chuột. Ở chuột trưởng thành đáp ứng miễn dịch dịch thể với TCDD còn nhạy cảm hơn là đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào [65].

#### **\* Rối loạn hệ thống nội tiết**

##### ***Căn nguyên gây nên một số bệnh nội tiết***

Theo EPA: "Một trong những cơ chế gián tiếp quan trọng là thông qua ảnh hưởng đến hệ thống nội tiết. Một số kích thích tố đã được chứng minh để điều chỉnh phản ứng miễn dịch, bao gồm glucocorticoid, steroid sinh dục, thyroxin, hormon tăng trưởng và prolactin. Điều đáng lo ngại là TCDD và các hợp chất khác liên quan đã được chứng minh làm thay đổi sự hoạt động của các hormon" [66].

Đối với chức năng của các tuyến nội tiết, các nghiên cứu cho thấy có liên quan giữa phơi nhiễm dioxin với rối loạn chức năng tuyến giáp như tăng hormon TSH và giảm hormon T4 tự do của tuyến giáp trạng [67],[68],[69]. TCDD gây rối loạn hệ thống nội tiết liên quan với hormon LH, FSH và tỷ lệ nghịch với testosterone huyết thanh [70],[71].

Phơi nhiễm với nồng độ cao TCDD có thể gây ra sự thay đổi lâu dài trong quá trình chuyển hóa glucose và thay đổi mức độ hormon do sự gián đoạn của hệ thống nội tiết gây bệnh lý đái tháo đường [72].

Hiện tượng tăng glucose huyết ở những đối tượng tiếp xúc với dioxin làm tăng tỷ lệ đái đường trong cộng đồng [73]. TCDD và các hợp chất giống dioxin như PCB 126 luôn luôn gây ra sự cảm ứng với hệ thống enzym cytochrom P450 1A (CYP1A) của gan gây ảnh hưởng đến quá trình chuyển hóa [74].

### ***Ảnh hưởng đến tuyến yên và tuyến thượng thận***

TCDD gây nhiễm độc trên trục tuyến yên-thượng thận. Các nghiên cứu thực nghiệm đã chỉ ra nồng độ corticosteron huyết thanh ở chuột giảm thấp hoặc tăng cao khi tiếp xúc với TCDD ở các liều khác nhau [75].

Tổng hợp và bài tiết corticosteron phụ thuộc vào hormon của thùy trước tuyến yên adrenocorticotropin (ACTH), đây là hormon kích vỏ thượng thận quy định sự tổng hợp các enzym cytochrom P450 bằng cách tăng tổng hợp mRNA từ đó tăng quá trình dịch mã tạo các enzym.

Do đó, ACTH là cần thiết trong việc duy trì mức tối ưu của các steroidogenic. Nên sự tổng hợp và bài tiết corticosteroid sẽ không bình thường khi ACTH thay đổi. Phản ứng sinh tổng hợp corticosteroid được quy định bởi ACTH có thể bị gián đoạn nếu tổng hợp ACTH bị thay đổi bởi TCDD [76].

### ***Ảnh hưởng đến chức năng tuyến giáp***

Hormon tuyến giáp đóng vai trò chính trong sự phát triển của tế bào thần kinh, phát triển các sinap thần kinh và hình thành sợi myelin. Sự suy giảm mức độ hormon tuyến giáp trong giai đoạn quyết định có thể gây nên những tổn thương thần kinh vĩnh viễn. Hormon tuyến giáp qua nhau thai và vào não bộ chủ yếu là thyroxin ( $T_4$ ) do đó trong điều kiện cụ thể nếu làm giảm mức độ  $T_4$  trong huyết thanh sẽ làm giảm Tác dụng của  $T_4$  đối với sự phát triển của não bộ. Triiodothyronin ( $T_3$ ) là dạng chủ yếu của hormon tuyến giáp liên kết với các thụ thể, hormon  $T_3$  được sản xuất từ  $T_4$ . PCBs là một chất độc trong nhóm các thành phần dioxin có cấu trúc rất giống với các hormon tuyến giáp hoạt động và có thể tùy thuộc vào liều lượng để hoạt động như chất chủ vận đối kháng hay chất chủ vận để kích thích tuyến giáp [77].

Ngay cả khi tiếp xúc thoáng qua với dioxin trong giai đoạn mang thai có thể không gây độc hại cho người mẹ nhưng có thể tác động đến phát triển thần kinh của thai nhi [78]. Do đó biphenyl polyclo hóa (PCBs) và dioxin đã được giả thiết là can thiệp vào hoạt động nội tiết của tuyến giáp và ảnh hưởng đến sự phát triển và trưởng thành của não. Các nghiên cứu ảnh hưởng của dioxin trên động vật đã cho thấy rõ những ảnh hưởng của rối loạn hormon tuyến giáp và những ảnh hưởng của rối loạn nội tiết chung [79].

### ***Căn nguyên gây bệnh đái tháo đường***

Nghiên cứu ở những người tiếp xúc với nồng độ cao dioxin cho thấy tăng tỷ lệ bệnh đái tháo đường typ 2. Cụ thể là, tăng tỷ lệ mắc bệnh đái tháo đường đã được báo cáo trong các cựu chiến binh Việt Nam tiếp xúc với dioxin. Ngoài ra, bất thường insulin cũng được chứng minh khi nghiên cứu ở các cựu chiến binh có tiếp xúc với mức độ dioxin cao mà không đái tháo đường [73]. Các nghiên cứu khác cũng chỉ ra rằng bệnh đái tháo đường có liên quan đến phơi nhiễm dioxin ở Việt Nam [80],[81].

Năm 1976, một tai nạn tại nhà máy hóa chất làm phát tán một lượng lớn dioxin vào một số khu vực dân cư ở Seveso, Italy. Theo dõi khu dân cư sống trong khu vực bị ô nhiễm trong thời gian xảy ra tai nạn đã cho thấy tỷ lệ tử vong do bệnh tiểu đường tăng cao hơn các khu vực khác [82].

Đánh giá tình trạng sức khỏe của những người lao động tiếp xúc với mức độ cao dioxin đã cho thấy khoảng 55% mắc bệnh tiểu đường typ 2; 91% có lượng cholesterol cao; 73% có tăng huyết áp và 45% bị bệnh tim mạch. Ngoài ra, có tới 91% có tổn thương thần kinh ở các mức độ [83].

Cơ sở bệnh sinh đã được một số nghiên cứu cho thấy dioxin có thể thúc đẩy bệnh tiểu đường bằng các cơ chế liên quan đến việc thụ thể aryl hydrocarbon (AhR) [84]. Dioxin đã được chứng minh là kích thích bài tiết

insulin của tế bào beta ở chuột [85]. Một nghiên cứu khác lại cho thấy dioxin khiến một số quy trình bài tiết insulin từ tế bào beta bị giảm [86]. Khả năng dioxin ảnh hưởng đến các tế bào beta có thể thúc đẩy phát triển bệnh đái tháo đường [87].

#### **1.2.7.2. Bệnh ung thư**

TCDD là một thành phần độc nhất của dibenzodioxins, được phân loại như là một chất gây ung thư bởi Cơ quan nghiên cứu Quốc tế về ung thư (IARC). TCDD có chu kỳ bán rã khoảng 8 năm trong cơ thể người, mặc dù ở nồng độ cao, tỷ lệ loại bỏ được tăng cường bởi sự trao đổi chất [88]. Sự ảnh hưởng của dioxin được thông qua vai trò trung gian bởi sự hoạt động của một thụ thể tế bào, cụ thể là thụ thể AhR [89].

Từ năm 1997, TCDD đã được phân loại là một chất gây ung thư nhóm I cho con người [90]. Mặc dù khả năng gây ung thư của TCDD vẫn đang được nghiên cứu [91]. Cho dù nếu TCDD là chất không gây ung thư thì ở liều cao cũng gây tổn hại bởi độc tính của nó đối với các mô và tế bào [92],[93],[94].

Như đã biết cơ chế sinh ung thư là cơ chế đa yếu tố và nhiều giai đoạn. Nhiều nhà khoa học đã nghiên cứu vấn đề này, tuy nhiên cũng chưa đưa ra kết luận chính xác. Tuy vậy, TCDD được đánh giá là độc chất tăng sinh khối u là chính và cũng có thể là chất gây phát sinh khối u, gây sai hỏng ADN, dẫn đến thay đổi, rối loạn các yếu tố điều hòa tăng trưởng, điều khiển tăng sinh và biệt hóa tế bào tạo khối u ở một số cơ quan đích [95],[96].

TCDD cảm ứng cytochrom P450 nhóm enzym CYP1A và CYP1B1, mức độ CYP1A và CYP1A1 tăng lên một cách đáng kể trong một số tế bào ung thư ở người, biến đổi estrogen thành catechol estrogens có khả năng tạo sai lệch ADN làm giảm khả năng liên kết của estrogen với thụ thể của nó [97]. Ngoài ra TCDD còn cảm ứng yếu tố hình thành phát triển TFG- $\alpha$ . Tất cả những điều đó dẫn đến làm tăng các tín hiệu mitogen từ đó thay đổi sự phát



triển của tế bào dẫn đến dị thường, tăng sinh xuất hiện các dị sản, loạn sản và tạo khối u, ung thư tế bào [98].

Trong báo cáo về các vấn đề ung thư và không ung thư liên quan đến chất da cam/dioxin ở Việt Nam cho thấy, ở nhóm quân nhân hoạt động trong khu vực bị rải từ 10 năm trở lên thì nguy cơ và khả năng mắc ung thư gan có xu hướng tăng cao theo thời gian phục vụ ở chiến trường [99].

Hầu hết các nghiên cứu trên động thực nghiệm cho thấy ung thư có thể được gây ra ở động vật tại nhiều tổ chức. Ở liều đủ cao TCDD đã gây ra ung thư ở tất cả các động vật thí nghiệm, nhạy cảm nhất là ung thư gan ở chuột cái và điều này từ lâu đã là cơ sở cho việc đánh giá rủi ro của việc tiếp xúc với TCDD [100]. Các nghiên cứu trên thỏ và chuột cho thấy tăng tỷ lệ từ tạo khối u đến ung thư ở những động vật thực nghiệm này [101],[102].

Liều lượng đáp ứng của TCDD trong việc gây ra bệnh ung thư dường như không phải là tuyến tính và có một ngưỡng thấp có thể không gây ung thư [94]. Bản thân TCDD là không gây đột biến hoặc gây nhiễm độc cho gen, nói cách khác nó không phải là nhân tố có thể bắt đầu ung thư và nguy cơ của ung thư mà chỉ bắt đầu bằng các hợp chất khác hoặc tác động gián tiếp như cơ chế phòng vệ của cơ thể [92]. Đáng lo ngại có thể là bằng cách ngăn chặn quá trình chết theo chu trình hoặc cái chết được lập trình của tế bào bị thay đổi [103],[104].

### *1.2.7.3. Các bệnh lý mạn tính*

#### **\* Ảnh hưởng hệ thần kinh**

Dioxin là những chất có ái lực hướng mỡ, bởi vậy não là nơi tập nồng độ thấp và thường chỉ xác định được sau nhiễm độc một cách hệ thống [105].

Trên chuột thực nghiệm nhiễm độc cấp không gây độc tính gì đáng kể, ngoại trừ giảm tỷ lệ cầu não [106]. Còn tác giả Allen và cộng sự đã gây nhiễm độc mạn tính trên khỉ, cho thấy TCDD gây xuất huyết não và các cơ quan khác [107].

**\* Độc tính trên thận**

TCDD kích hoạt tổng hợp prostaglandins ở tế bào thận chó [108]. Các prostaglandin được coi là các hormon của mô, bản chất lipid được sinh tổng hợp ngay tại màng của nhiều loại tế bào, có khả năng tăng tính thấm thành mạch, làm co giãn mạch, gây sốt và tăng cường hoặc ức chế đáp ứng miễn dịch... Trong thực nghiệm này TCDD tăng tổng hợp prostaglandin tế bào thận bằng cách tăng sao chép gen endoperoxide H<sub>2</sub> synthase-2 (PGHS-2) lên hàng chục lần. Thực nghiệm còn chỉ ra rằng đường như là endoperoxide H<sub>2</sub> synthase-2 còn có thể liên quan đến sự phát triển sai lạc tế bào như loạn sản biểu bì và hình thành khối u.

**\* Độc tính tim mạch**

TCDD làm tăng hàm lượng triglycerid trong máu [109]. Lớp tế bào đơn nội mạch có thể là nơi đầu tiên của hệ tim mạch bị ảnh hưởng một cách hệ thống bởi độc tố. Trên chuột xuất hiện các tổn thương tiền xơ vữa động mạch như bọng lộ tạo thành màng vẩy hoại tử màng tế bào, xuất hiện những dạng giống đại thực bào trong nội mạc và nội mô. Trên tế bào nuôi cấy động mạch chủ của lợn, hoạt tính gen CYP1A bị thay đổi bởi TCDD trong đó chỉ có gen CYP1A1 là có cảm ứng TCDD ở nồng độ trung bình (0,1 hoặc 1 $\mu$ M), nhưng lại bị ức chế ở nồng độ. Thực nghiệm trên cá hồi cho thấy, TCDD gây biến đổi CYP1A, hay AhR nội mô, dẫn đến phù nề noãn hoàng, phù màng ngoài tim, phù não và có thể dẫn đến tử vong [110].

**\* Độc tính hô hấp**

Đường hô hấp là nơi tiếp xúc đầu tiên và là cơ quan tích tụ chính các dị sinh dạng khí. Các nghiên cứu về hướng này tập trung vào độc tính dioxin và hợp chất hữu cơ trên phổi là cảm ứng enzym cytochrom P450 sinh ung thư ở phổi gây hoạt hóa các yếu tố sinh ung thư hiệu quả hơn. TCDD tăng đáng kể

cảm ứng cytochrom P450 trong phổi. Xuất hiện các enzym của cytochrom P450 trong các tế bào khác nhau của phổi như tế bào nội mô của hệ nội mạch phổi và đại thực bào phế nang. Ngoài ra còn thấy TCDD tăng gấp 2 lần cảm ứng hoạt tính của enzym vận chuyển hóa độc được là Aryl hydroxylase ở đường hô hấp [111]

**\* *Rối loạn chức năng gan***

Tất cả động vật thực nghiệm đều bị tổn thương gan ở các mức độ khác nhau, thậm chí ở liều dưới mức tử vong. Đó là hậu quả trực tiếp của biến đổi tăng sản và phì đại tế bào gan [112].

TCDD làm suy yếu chức năng màng tế bào gan, làm ức chế khả năng liên kết hoặc thể hiện của nhiều loại thụ thể tham gia vào điều hòa chức năng tế bào như thụ thể phát triển biểu bì, thụ thể glucocorticoid, thụ thể estrogen [95],[113].

Đã có nhiều nghiên cứu về ảnh hưởng của TCDD với chức năng bài tiết mật. Các nghiên cứu cấu trúc hoạt tính của TCDD được đo bởi sự giảm ouabain – một chất hiển thị sự không chuyển hóa [114]. TCDD ức chế vận chuyển các sản phẩm trao đổi chất glucuronid thành mật trong tiểu quản mật, nó cũng ức chế tiểu quản vận chuyển ouabain thành mật [115].

Ảnh hưởng của TCDD tới hoạt tính enzym trong gan là một trong những vấn đề được nghiên cứu nhiều nhất. TCDD làm tăng hoạt tính oxy hóa vi thể của tế bào gan, hoạt hóa nhiều enzym tham gia vào chức năng khử độc do vậy làm giảm độc tính của hóa chất. Tuy nhiên TCDD còn cảm ứng cả những enzym không chuyển hóa độc chất như ornithine decarboxylase, prostaglandin synthetase, porphyrinogen carboxylase, transglutaminase, aldehyde dehydrogenase,  $\delta$ -aminolevulinic acid synthetase. Ngoài ra TCDD còn cảm ứng mạnh cytochrom P450 CYP1A1 làm thay đổi hoạt tính AhR [116],[117].

**\* Rối loạn tiêu hóa**

TCDD làm giảm bài tiết somatostatin vùng hang vị dạ dày, kèm theo tăng trọng lượng khô dạ dày lên 29% bởi vậy làm tăng bài tiết gastrin ở niêm mạc vùng hang vị và làm tăng gastrin huyết [118],[119]. Nhiễm độc thường xuyên sẽ gây loạn sản và dị sản tuyến nhầy đáy dạ dày, tạo u nang dưới tuyến nhầy [120]. TCDD cũng được thấy là làm giảm độ thấm thấu của ruột. Vì ruột non là nơi có khả năng hấp thu mạnh nhất các thức ăn đã tiêu hóa, vì vậy sẽ làm giảm khả năng thấm qua ruột, giảm sự hấp thu vận chuyển các chất qua màng đi nuôi cơ thể làm cho tình trạng dinh dưỡng của cơ thể bị giảm sút [121].

**\* Độc tính da**

Cũng như đường hô hấp, da là cơ quan đầu tiên tiếp xúc độc chất. Tuy nhiên, mức độ nhạy cảm của da với dioxin và các hợp chất hữu cơ trên động vật thực nghiệm không giống nhau.

Phản ứng sinh học trên da do dioxin không xảy ra ở mọi động vật thực nghiệm. Các thương tổn ngoài da thường liên quan đến thay đổi tế bào keratin, dẫn đến các dạng trứng cá như chloracne [122],[123]. Thực chất da là biểu hiện cuối của tác nhân độc tính nhiễm độc hệ thống bởi hợp chất gây chloracne.

Các phản ứng sinh học thường là các biến đổi tăng sản biểu bì, tăng sừng hóa và dị sản tuyến sebaceous và đều trung gian qua Ah thụ thể. Dẫn đến các thương tổn khác nhau và còn có thể tạo khối u ngoài da [123]. Tuy rằng các khối u ngoài da không nhất thiết xảy ra trên mọi động vật thực nghiệm nhưng chloracne được coi là một đáp ứng đặc trưng - dấu hiệu xác nhận tiêu chuẩn của nhiễm độc dioxin trên người.

**1.2.7.4. Các bệnh lý khác**

**\* Rối loạn chuyển hóa**

Một số chuyển hóa trung gian bị thay đổi bởi dioxin như chuyển hóa glucose, insulin, glycogen, hormon tuyến giáp, tuyến yên, thượng thận nhiệt

độ cơ thể... Người ta nhận thấy ở liều cao gây tử vong, triệu chứng tiền tử vong do dioxin là suy giảm glucose huyết nặng nề tiến triển nhanh đồng thời giảm insulin máu [124]. Nghiên cứu đối với chứng giảm glucose huyết do TCDD là có liên quan đến phá vỡ sinh tổng hợp glucose, đồng thời với giảm glucose huyết là sự tăng alanin, chứng tỏ rằng TCDD giảm chuyển hóa alanin thành đường. TCDD ức chế một số enzym sinh tổng hợp glucose, giảm hormon corticosteron – hormon tổng hợp glucose [124],[125],[126].

TCDD làm giảm thyroxin toàn phần và thyroxin tự do ngoài ra còn làm tăng triiodthyronin toàn phần – được biết như là hormon tổng hợp acid béo [118].

Nhiều phản ứng sinh học của cơ thể với dioxin là kết quả của đáp ứng qua trung gian nội tiết hormon vỏ thượng thận – các hormon tham gia vào chuyển hóa cơ bản protid, lipid, glucid, muối và nước, chống stress, dị ứng ... Cũng có nhiều nghiên cứu về lĩnh vực này, tuy nhiên các quan điểm chưa thống nhất, một số tác giả cho rằng TCDD làm tăng corticosteroid trong máu, một số khác lại có ý kiến ngược lại về hướng giảm corticosteroid máu [127]. Điều đó có thể liên quan đến liều lượng nhiễm độc. Các tác giả cũng cho rằng cơ chế này liên quan đến nhiều yếu tố như đáp ứng sinh lý của cơ thể, sự xáo trộn trong hằng định nội môi cholesterol sinh tổng hợp hormon thượng thận, trong ty lạp thể và lưới nội nguyên sinh chất. Cho dù có tăng hay giảm corticosteroid thì cũng đều nằm ngoài giới hạn bình thường và cũng đều ảnh hưởng đến các quá trình chuyển hóa chất cơ bản của cơ thể.

**\* Rối loạn sinh dục và bất thường sinh sản**

TCDD làm giảm hormon sinh dục đực là testosterone làm chậm quá trình dậy thì, giảm trọng lượng tinh hoàn và các cơ quan sinh dục phụ, giảm sản tinh trùng và giảm khả năng sinh sản ở con đực [128],[129].

Trên con cái gây trạng thái bệnh lý như chảy máu âm đạo, viêm niêm mạc tử cung và các biểu hiện sinh lý như giảm hàm lượng hormon sinh dục estrogen, chậm quá trình dậy thì, không rụng trứng, rối loạn chức năng buồng trứng dẫn đến giảm khả năng thụ thai và sinh sản [130],[131].

**\* *Biến cố sinh sản và bất thường phát triển bào thai***

Với chức năng sinh sản, có sự liên quan giữa TCDD và sự tăng cao một số biến cố sinh sản như tăng chết bào thai, tăng sảy thai tự nhiên [132],[133].

Một số nghiên cứu khác cho thấy con ở thế hệ thứ nhất xuất hiện dị tật cơ quan sinh dục ngoài như tật khe hở âm đạo ở con cái, tật nứt khe dương vật, tật lỗ đái lệch thấp ở con đực. Những tỷ lệ này thay đổi tùy thuộc vào mức độ và thời gian nhiễm độc. Nhiễm độc ở ngày mang thai thứ 15 được coi là có độc tính cao nhất với sự tăng trưởng sinh dục nam và dị tật cơ quan sinh dục ngoài của con cái, ví dụ ở nhóm chuột bị gây nhiễm vào ngày 15 thời kỳ mang thai sản xuất hiện tật nứt khe dương vật ở 65% con đực, và tật hở khe hở âm đạo ở 80% con cái. Nhiễm độc vào ngày thứ 8 mang thai thì có hiệu quả cao nhất với các thay đổi phát triển biến cố chức năng sinh sản [129].

Dioxin có ảnh hưởng tới chức năng sinh sản của phụ nữ đặc biệt quá trình tiếp xúc trước độ tuổi 20 [134]. Nghiên cứu thực nghiệm đã đưa ra bằng chứng cho thấy dioxin là một chất anti-estrogen thông qua sự cảm ứng CYP1A1 [135]. Các nghiên cứu ở loài gặm nhấm cho thấy TCDD gây các dị tật bẩm sinh ở các liều khác nhau, bao gồm các nghiên cứu ở các loài chuột như chuột đồng và chuột lang [136],[137]. Hoặc ở một số loài cá [138],[139].

Tác động đến sự phát triển ở động vật thường xảy ra ở liều rất thấp. Bao gồm các tình trạng dị tật như hở hàm ếch và não úng thủy [140]. Đặc biệt trong giai đoạn hình thành và phát triển của một số cơ quan có thể còn nhạy cảm hơn. Cụ thể ở liều rất thấp TCDD làm xáo trộn sự phát triển của cơ quan

sinh dục ở loài gặm nhấm và sự phát triển của răng ở chuột [141],[142],[143]. Những dị tật ở răng cũng đã được tìm thấy sau khi vụ tai nạn xảy ra ở Seveso [144],[145].

Có nhiều nghiên cứu cũng đã chỉ ra rằng việc tiếp xúc mức độ cao dioxin làm thay đổi tỷ lệ sinh nam nữ trong quần thể dân số do vậy nhiều trẻ gái được sinh ra nhiều hơn trẻ nam [134],[146],[147]. Xung quanh thảm họa nhà máy hóa chất tại Seveso ở Italia, các nghiên cứu nhận thấy tỷ lệ sinh trẻ gái trong 7 năm đầu sau khi vụ tai nạn xảy ra cao hơn bất cứ một vùng dân cư nào khác [148].

### ***1.2.8. Một số phương pháp định lượng dioxin***

Dioxins là chất ô nhiễm hữu cơ bền vững nhất được biết đến và ở một lượng rất nhỏ cũng đã gây ra những tác hại bất lợi về sức khỏe con người. Sự bền vững của dioxin thông qua đặc tính ưa lipid và rất khó chuyển hóa nên việc xác định nồng độ là khá phức tạp.

#### ***1.2.8.1. Phân tích bằng phương pháp DR Calux***

DR CALUX (Dioxin Response Chemically Activated Luciferase gene Expression) là một kỹ thuật dùng tế bào cảm biến sinh học để định lượng dioxin và PCB trong mẫu phân tích. Với kỹ thuật DR CALUX, kết quả xác định được là tổng TEQ của tất cả các đồng đẳng dioxin và PCB. Khác với kỹ thuật GCMS, kỹ thuật DR CALUX không định lượng nồng độ từng đồng đẳng dioxin và PCB riêng rẽ [149].

Nguyên lý của phương pháp là dựa vào đặc tính của các chất dioxin, PCB và các chất giống dioxin gắn đặc hiệu vào thụ thể AhR trên bề mặt tế bào, các nhà nghiên cứu đã phát triển dòng tế bào đặc trưng (H4II) để phát hiện dioxin và PCB.

Khi dioxin và PCB tiếp xúc với tế bào này, thụ thể AhR trên bề mặt tế bào sẽ gắn với chúng. Phức hợp này sau đó di chuyển vào trong nhân và gắn

đặc hiệu với protein ARNT. Phức hợp mới AhR-ARNT tiếp tục gắn đặc hiệu với vùng dioxin nằm trên chuỗi DNA. Đây là vùng nằm ở phía trên, tại vùng khởi động của rất nhiều gen, trong đó có gen mã hóa cho quá trình tổng hợp Enzym Luciferase. Enzym Luciferase sẽ chuyển hóa cơ chất Luciferin. Phản ứng chuyển hóa cơ chất này phát ra ánh sáng. Cường độ ánh sáng sẽ tương ứng với lượng dioxin và PCB tiếp xúc với tế bào cảm biến. Giá trị cường độ ánh sáng được đo và dùng để tính toán nồng độ dioxin và PCB có trong mẫu dựa trên đường chuẩn xây dựng từ việc cho tế bào tiếp xúc với TCDD ở các nồng độ đã biết trước khác nhau [149],[150].

#### *1.2.8.2. Phân tích bằng phương pháp sắc ký khí khối phổ có độ phân giải cao*

Phương pháp sắc ký khí khối phổ có độ phân giải cao dùng để phát hiện và định lượng các đồng phân 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran (2,3,7,8-TCDF) và các dẫn xuất khác chứa nguyên tử clo ở vị trí penta, hexa, hepta và octa của dibenzo-p-dioxin (PCDDs) và dibenzofuran (PCDFs). Mẫu sữa được phân tích theo phương pháp đã được báo cáo trước đây của tác giả Tawara và Phạm Thế Tài [151],[152]

Phương pháp này phải được tách chiết đặc biệt cho từng loại mẫu, sau đó là quá trình làm sạch chất cần phân tích và kỹ thuật phân tích sắc ký khí cột mao quản phân giải cao. Mẫu cần phân tích sẽ được bổ xung thêm chất nội chuẩn và được chiết theo quy trình chiết đặc trưng kiểu ma trận. Những mẫu lỏng được lọc và những mẫu rắn tồn tại trong pha lỏng phải được ly tâm trước khi chiết.

Sau khi tách chiết và cô đặc ban đầu, hợp chất gắn các chất đánh dấu được thêm vào mỗi mẫu vừa tách chiết ra là đồng vị 2,3,7,8-TCDD để xác định hiệu quả của quá trình làm sạch kế tiếp. Sự làm sạch mẫu chiết ra có thể bao gồm quá trình xử lý axit-bazơ và quá trình hút gel, oxit nhôm, silicagel, Florisil và than hoạt tính trên cột sắc ký Celite 545.



Mẫu tách chiết sau khi đã được cô đặc đến gần khô sẽ được thêm các chất nội chuẩn và tiêm mẫu vào hệ thống sắc ký khí khối phổ có độ phân giải cao (HRGC/HRMS) có chế độ hiển thị ion được chọn.

Sự xác định thành phần của từng chất dựa trên thứ tự thoát ra của chúng so với dung dịch chuẩn từ hệ thống sắc ký khối phổ. Đặc trưng đồng phân cho tất cả hợp chất 2,3,7,8-PCDDs/PCDFs không thể thu được trên một cột đơn lẻ. Việc sử dụng cả hai cột DB-5 và SP2331 được khuyến dùng. Không có phép phân tích nào có thể xử lý nếu không có tất cả các tiêu chuẩn về thời gian lưu, peak đặc trưng, tín hiệu/nhiều và tỉ lệ ion được phát hiện trong hệ thống sắc ký khí khối phổ sau khi hiệu chỉnh ban đầu và xác nhận hiệu chỉnh.

Cuối cùng là phép tính toán và chuyển đổi từ nồng độ dioxin sang độ độc tương đương (TEQ) bằng cách sử dụng bảng đánh giá yếu tố độc tính tương đương (TEFs) của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO 2005) (xem chi tiết tại phụ lục 5) [153].

### 1.3. Một số cơ sở khoa học thực hiện nghiên cứu

Do đặc tính ưa lipid của dioxin do vậy trong thành phần chất béo chứa một hàm lượng lớn thành phần chất này. Như vậy, ở những người mẹ cho con bú thì sữa mẹ là nguồn chất dinh dưỡng có chứa một hàm lượng lớn chất béo và một hàm lượng lớn dioxin sẽ được tập chung trong sữa [154].

Hơn nữa, dioxin được biết đến là làm thay đổi nồng độ hormon hay mức độ hormon cũng bị biến đổi bởi sự tác động của TCDD ngay cả khi tiếp xúc với liều thấp. Các nghiên cứu trên động vật thực nghiệm đã cho thấy có sự liên quan giữa phơi nhiễm TCDD với giảm nồng độ estradiol và progesterone trong huyết thanh. Một nghiên cứu liên quan đã chỉ ra rằng việc tiếp xúc của động vật gặm nhấm và các loài khác để TCDD dẫn đến những thay đổi mức độ hormon steroid [143]. Trên những nghiên cứu thực nghiệm

cũng cho thấy nồng độ hormon corticosteron huyết thanh giảm thấp hoặc tăng cao khi tiếp xúc với dioxin ở các liều khác nhau [75]. Kết quả của những thí nghiệm cho thấy TCDD làm giảm sự bài tiết estradiol và progesteron bởi sự tác động vào các tế bào nang trứng hay tế bào hoàng thể. Nó cũng chỉ ra rằng TCDD phá vỡ quá trình tổng hợp hormon steroid thông qua ảnh hưởng đến sự hoạt động của các enzym tham gia vào quá trình sinh tổng hợp [155]. TCDD gây ức chế sự bài tiết androgen khi tương tác với cytochrom 17 alpha-hydroxylase (P450c17) và cản trở enzym P450 [76]. Đồng thời với việc giảm bài tiết hormon steroid, một nghiên cứu khác chứng minh rằng dioxin làm giảm sản xuất progesterone bởi tác động đến các tế bào nhau thai và làm tăng chuyển đổi dehydroepiandrosterone vào estradiol và testosterone thành estradiol [156].

Nghiên cứu gần đây cho thấy quá trình sinh tổng hormon androgen, cortisol và aldosterone được thay đổi bởi thành phần PCB 126, là chất giống như dioxin khi tác động đến các tế bào H295R trong vỏ thượng thận của con người [157]. Nghiên cứu đầu tiên được báo cáo khi thực hiện trên con người đã được tác giả Đặng Đức Nhu và Teruhiko Kido cho thấy nồng độ một số hormon steroid biến đổi theo mức độ phơi nhiễm với chất da cam/dioxin [158], [159].

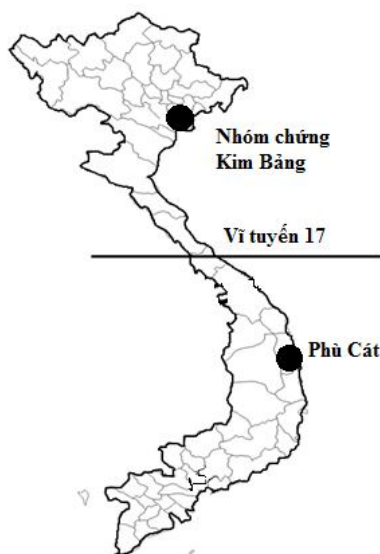
## CHƯƠNG 2

### ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

#### 2.1. Khu vực nghiên cứu

Nghiên cứu được tiến hành tại 2 khu vực khác nhau. Nhóm chủ cứu được tiến hành tại vùng phơi nhiễm chất da cam/dioxin ở mức độ cao hay được gọi là “điểm nóng dioxin”, đây là các khu dân cư sống quanh khu vực sân bay quân sự Phù Cát tại huyện Phù Cát tỉnh Bình Định thuộc miền Nam Trung Bộ Việt Nam.

Trong thời kỳ chiến tranh giai đoạn 1961 đến 1972, sân bay quân sự Phù Cát là nơi tập kết, lưu trữ và bị rò rỉ một lượng lớn hóa chất diệt cỏ có tạp nhiễm dioxin ra môi trường. Các khu vực dân cư này được chọn vào nghiên cứu như một vùng chủ cứu vì đây là khu vực bị ảnh hưởng một lượng lớn chất diệt cỏ chiến tranh và không có nguồn thải hoá chất công nghiệp có thể ảnh hưởng đến nghiên cứu.



*Hình 2.1. Địa điểm lấy mẫu nghiên cứu*

Vùng đối chứng - vùng không bị rải chất diệt cỏ trong chiến tranh, là các xã thuộc huyện Kim Bảng, tỉnh Hà Nam. Đây là các xã thuần nông không có

các nhà máy sản xuất hóa chất hay các khu công nghiệp, dân cư ổn định và là một khu vực thuộc miền Bắc Bộ của Việt Nam.

## **2.2. Đối tượng nghiên cứu**

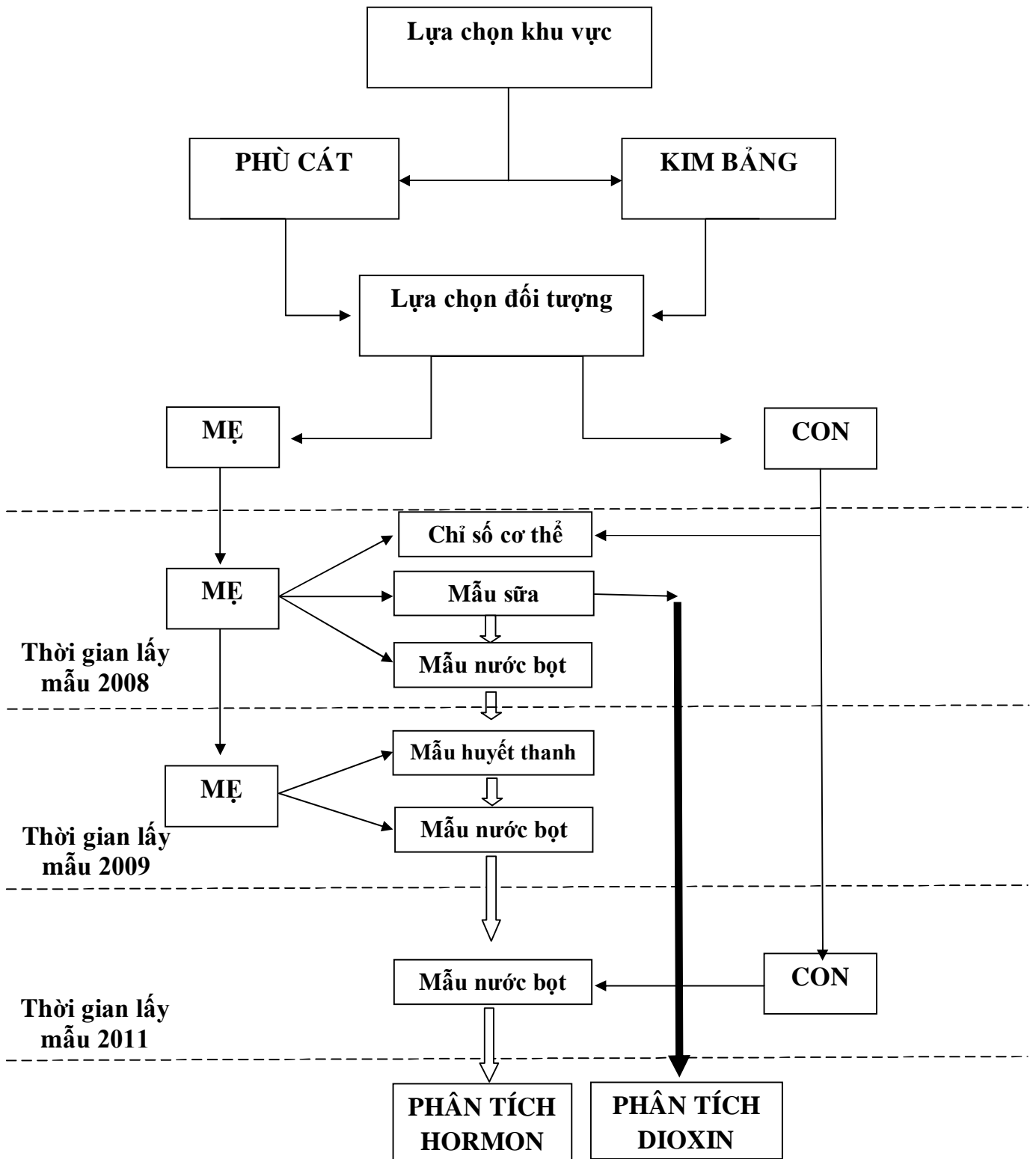
Các đối tượng nghiên cứu bao gồm 51 cặp mẹ và con ở khu vực phơi nhiễm dioxin, là khu dân cư đang sinh sống xung quanh sân bay quân sự Phù Cát. Các đối tượng ở khu vực đối chứng gồm 59 cặp mẹ và con thuộc các xã thuộc huyện Kim Bảng, là khu vực không phơi nhiễm dioxin. Những người mẹ cùng trong độ tuổi từ 20 đến 33 tuổi đều đang cho con bú với trẻ trong độ tuổi từ 4 đến 16 tuần tại thời điểm nghiên cứu.

Các mẫu sữa và mẫu nước bọt của những người mẹ tại 2 khu vực này được thu thập lần đầu tiên vào tháng 9 năm 2008 để định lượng dioxin và hormon. Tại thời điểm này do hạn chế về quy mô và kinh phí nghiên cứu nên số lượng mẫu sữa và mẫu nước bọt định lượng hormon ít hơn.

Tiếp theo, vào tháng 9 năm 2009 những người mẹ này lại tiếp tục được lấy mẫu nước bọt và huyết thanh để định lượng hormon. Đối với các trẻ em là con của những người mẹ ở hai khu vực này được lấy mẫu nước bọt để định lượng hormon vào tháng 9 năm 2011 khi những đứa trẻ được 3 tuổi.

Tất cả những người mẹ đều đồng ý tham gia vào nghiên cứu, sau khi được thành viên của nhóm nghiên cứu và nhân viên y tế giải thích mục đích, ý nghĩa của việc nghiên cứu.

Những người mẹ được yêu cầu cung cấp thông tin về gia đình, tuổi, cân nặng của trẻ lúc sinh và thời gian cư trú của họ tại khu vực nghiên cứu. Các chỉ số khối cơ thể của người mẹ và kích thước cơ thể của trẻ như chiều cao, cân nặng, chu vi vòng đầu và vòng ngực được các cán bộ nghiên cứu trực tiếp thực hiện để so sánh giữa hai khu vực.



Hình 2.2. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu

### **2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn**

Bao gồm những người mẹ đang cho con bú và con của họ, đang sống tại khu vực phơi nhiễm dioxin và một khu vực không phơi nhiễm dioxin làm đối chứng.

- + Những người mẹ đang cho con bú độ tuổi từ 20 đến 33.
- + Đã sinh sống tại các khu vực nghiên cứu được thời gian trên 5 năm.
- + Các trẻ em trong độ tuổi từ 4 đến 16 tuần tuổi, là con đẻ của những người mẹ tham gia nghiên cứu.

### **2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ**

- + Đối với người mẹ:
  - Không thuộc độ tuổi từ 20 đến 33
  - Bệnh lý tuyến vú: Abces, ung thư và bất thường tuyến vú.
  - Bệnh lý tuyến nước bọt: Quai bị, viêm tuyến nước bọt, abces ...
  - Các trường hợp có bệnh lý gan, thận nặng.
  - Không tình nguyện tham gia nghiên cứu hoặc không đủ dữ liệu nghiên cứu.
- + Đối với các trẻ em:
  - Không thuộc nhóm tuổi nghiên cứu
  - Bệnh lý tuyến nước bọt: Quai bị, viêm tuyến nước bọt
  - Các trường hợp có bệnh lý gan, thận nặng.

## **2.3. Phương pháp nghiên cứu**

Phương pháp nghiên cứu cắt ngang

## **2.4. Các quy trình và kỹ thuật nghiên cứu**

### **2.4.1. Quy trình lấy mẫu**

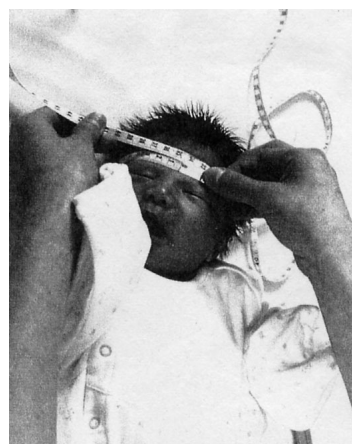
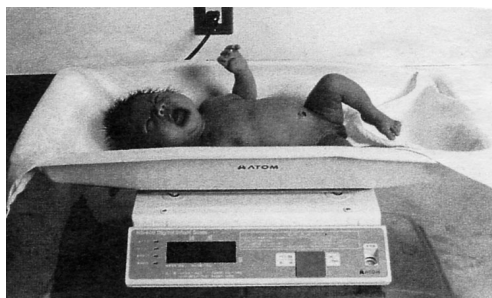
Để hạn chế những ảnh hưởng bởi nhịp sinh học của cơ thể đối với một số chỉ tiêu nghiên cứu, các mẫu nghiên cứu như mẫu nước bọt, mẫu sữa và huyết thanh đều được thu thập từ những người mẹ và trẻ em tham gia nghiên cứu tại

hai khu vực vào cùng một thời gian trong ngày. Đó là vào khoảng thời gian từ 8:00 đến 10:00 giờ sáng. Những mẫu nghiên cứu này được thu thập và lưu trữ trong các dụng cụ chuyên dụng và vô khuẩn, bảo quản đông lạnh bằng đá khô. Sau đó, tất cả các mẫu nghiên cứu được vận chuyển sang Nhật Bản và được bảo quản ở  $-70^{\circ}\text{C}$  cho đến khi phân tích.

**\* Quá trình cân và đo chỉ số cơ thể**

**Đo trọng lượng của trẻ tại 4 đến 16 tuần, gồm các bước sau:**

- ☑ Lấy cân bằng chuẩn của đồng hồ cân ở điểm 0.
- ☑ Cởi quần áo của em bé.
- ☑ Đặt bé nằm nhẹ nhàng trên bàn cân.
- ☑ Sau khi số trên đồng hồ dừng lại ổn định thì đọc chỉ số cân.



**Hình 2.3. Hình ảnh cân và đo các chỉ số cơ thể trẻ**

**Đo trọng lượng của trẻ 3 tuổi, gồm các bước sau:**

- ☑ Lấy cân bằng chuẩn của đồng hồ cân ở điểm 0.
  - ☑ Cho trẻ bước nhẹ nhàng lên bàn cân
  - ☑ Sau khi số trên đồng hồ dừng lại ổn định thì đọc chỉ số cân.
- \* Nếu trẻ đang khóc, có thể cân cùng với mẹ sau đó trừ đi trọng lượng của mẹ.

**Đo chiều dài của trẻ 4 đến 16 tuần**

- ☑ Đặt em bé nằm trên bàn đo, giữ cho đầu thẳng với thân người. Sau đó, nhẹ nhàng tỳ cho đầu gối trẻ căng và thẳng với thân người.
- ☑ Dùng miếng bìa mỏng áp sát bàn chân của em bé chạm bàn đo và đọc chỉ số chiều dài của trẻ.

**Đo chiều cao của trẻ 3 tuổi**

- ☑ Trẻ đứng trực tiếp lên giá đỡ và lưng chạm vào bảng, gót chân chạm cực dưới của thước đo.
- ☑ Kéo cực trên của thước đo từ trên xuống cho chạm đầu của trẻ và đọc chỉ số chiều cao trên thước đo.

**Đo chu vi vòng ngực**

Dùng thước vải vòng từ dưới lưng lên ngực ngang qua 2 núm vú của trẻ, sau đó đọc chỉ số chu vi vòng ngực trên thước đo.

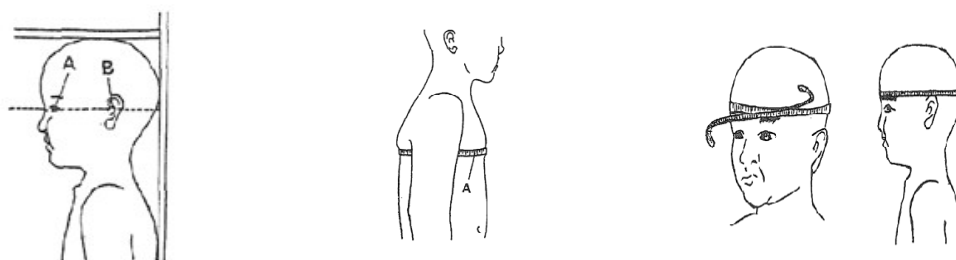
**Đo chu vi vòng đầu**

Dùng thước vải vòng từ phía trước tại điểm giữa cung mày ra mặt sau gáy, chỉ số chu vi vòng đầu là điểm gặp nhau của thước đo tại điểm giữa cung mày của trẻ.

Các chỉ số cân nặng và chiều cao của mẹ cũng được đo với phương pháp và tiêu chuẩn giống với trẻ 3 tuổi.



Đối với trẻ 4 đến 16 tuần tuổi dụng cụ đo chiều dài của trẻ là thước đo SECA -210, đo cân nặng là sử dụng cân đo SECA-833. Đối với trẻ 3 tuổi và người mẹ, chiều cao sử dụng thước đo chiều cao SECA-210, đo cân nặng là sử dụng cân đo SECA-803.



**Hình 2.4. Hướng dẫn đo các chỉ số cơ thể trẻ lớn**

**\* Quá trình thu thập mẫu sữa**

Những người mẹ tham gia nghiên cứu được giải thích rõ về mục đích nghiên cứu. Sau khi đồng ý hợp tác, người mẹ lấy 10-20 ml sữa, các mẫu sữa do chính các bà mẹ vắt bằng tay vào cốc sạch có chia vạch với sự hỗ trợ của các nhân viên y tế địa phương hoặc các nghiên cứu viên. Tất cả các mẫu này được bảo quản bằng tủ lạnh ở nhiệt độ  $-20^{\circ}\text{C}$  ngay sau khi lấy.

**\* Quá trình thu thập mẫu nước bọt.**

Mẫu nước bọt của người mẹ được thu thập bằng cách những người mẹ tự súc miệng với 15 ml nước sạch trong khoảng thời gian từ 5 đến 10 giây. Sau đó chuyển hỗn hợp trực tiếp này vào một ống nghiệm vô trùng có nắp đậy và dán nhãn.

Mẫu nước bọt của trẻ em được các thành viên nhóm nghiên cứu thực hiện bằng việc sử dụng bông vô trùng kích thước khoảng  $1 \times 1 \text{ cm}$ . Bông vô trùng được đựng trong một typ nhựa vô trùng có nắp đậy và dán nhãn. Trọng lượng của typ nhựa và bông vô trùng được cân để xác định trọng lượng trước khi tiến hành lấy mẫu nước bọt của trẻ.

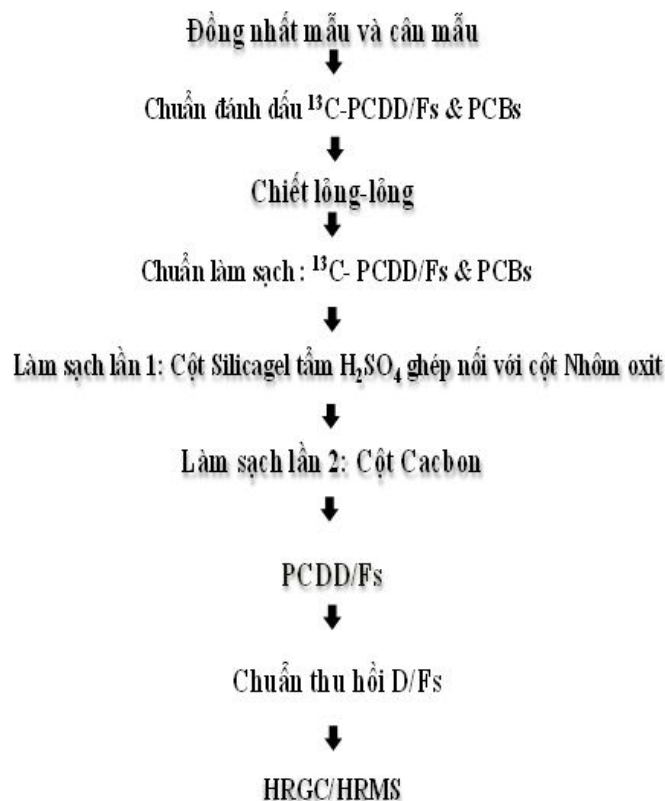
Cán bộ của nhóm nghiên cứu dùng kẹp nhựa vô trùng cố định miếng bông để thấm nước bọt ở quanh chân răng, dưới lưỡi của đứa trẻ sao cho miếng bông ướt đều toàn bộ để đảm bảo đủ số lượng nước bọt cần thiết cho phân tích.

#### \* Quá trình thu thập mẫu máu

Mẫu máu được lấy 3ml từ tĩnh mạch quay tại vị trí dưới nếp gấp khuỷu tay trái 1 cm sau khi garo. Máu tĩnh mạch sau khi lấy được chứa đựng trong typ trữ máu polymer có tráng một lớp chống đông heparin lithium. Sau đó ly tâm tách khối hồng cầu và được bảo quản đông lạnh bằng dụng cụ vô khuẩn.

#### 2.4.2. Kỹ thuật định lượng dioxin trong sữa

##### \* Quy trình xử lý mẫu và phân tích dioxin trong sữa



Hình 2.5. Sơ đồ quy trình phân tích dioxin trong sữa [151],[152]

### **\* Tiến hành**

Định lượng dioxin trong mẫu sữa được tiến hành theo quy trình giới thiệu trong tài liệu “Hướng dẫn định lượng nồng độ dioxin trong mẫu sữa” [151].

Mẫu sữa được phân tích dựa theo phương pháp phân tích của tác giả Tawara và Phạm Thế Tài [151],[152]. Sau khi tách thành phần lipid từ 10g sữa mẹ, tiếp tục cho thêm vào 40-80pg của từng đồng đẳng PCDD/PCDF được đánh dấu bằng  $C^{13}$  và sử dụng chúng như là những chất nội chuẩn.

Một loạt các bước tách chiết như xà phòng hóa lipid và các công đoạn sắc ký qua cột silica gel đa lớp và cột carbon hoạt tính để tách và thu thập các thành phần PCDDs/PSDFs. Mẫu chiết xuất cuối cùng được làm bay hơi hoàn toàn bằng khí nitơ, sau đó lại được hòa tan bằng cách thêm 20ml nonane chứa 40pg  $^{13}C_{12}$ -1,2,3,4-TCDD và  $^{13}C_{12}$ -1,2,7,8- TCDF dùng để tính hiệu suất thu hồi. Cuối cùng, việc định lượng các đồng đẳng PCDDs/PCDFs được tiến hành bằng hệ thống sắc ký khí khối phổ độ phân giải cao (GC/HRMS) (GC: HP-6980, Hewlett-Packard, Palo Alto, CA: HRMS: JEOL MS ga-JMS700). Ngoài ra, phương pháp phân tích nhắc lại được sử dụng trong trường hợp số lượng mẫu ít hơn 10g sữa để đảm bảo độ chính xác cao theo phương pháp đã được báo cáo trước đây của tác giả Tawara [151],[152] (Phụ lục 2).

### **\* Kiểm tra chất lượng và đánh giá kết quả**

Phân tích dioxin đã được thực hiện ở chế độ rà soát các ion đã được lựa chọn (Selected Ion Monitoring - SIM) ở độ phân giải 10.000. Nồng độ của từng đồng đẳng được chuyển sang độ độc tương đương (TEQ) bằng cách sử dụng bảng đánh giá yếu tố độc tính tương đương (TEFs) của Tổ chức Y tế Thế giới (WHO 2005). Tổng lượng TEQ cho mỗi mẫu phân tích được tính toán bằng cách cộng gộp độ độc tương đương TEQ của 17 đồng đẳng dioxin đã định lượng [153].

Các mẫu dưới ngưỡng phát hiện được gán cho giá trị bằng  $\frac{1}{2}$  giới hạn phát hiện để tính tổng lượng TEQ.

Quy trình kiểm soát chất lượng và đảm bảo chất lượng (QC/QA) được thực hiện theo các hướng dẫn trong tiêu chuẩn công nghiệp Nhật Bản (JIS). Hiệu suất thu hồi thông thường khoảng 60-95% và giới hạn phát hiện được xác định theo tỷ lệ tín hiệu thực cao gấp 3 lần tín hiệu nhiễu ( $S/N = 3$ ).

### ***2.4.3. Kỹ thuật định lượng hormon steroid bằng kỹ thuật sắc ký lỏng khối phổ kép (LC-MS/MS).***

#### ***2.4.3.1. Quy trình xử lý mẫu và phân tích hormon steroid trong huyết thanh***

Sử dụng 200 $\mu$ l huyết thanh kết hợp với 1,0ml nước tinh khiết, sau đó bổ sung thêm 1 lượng chính xác các chất nội chuẩn, cụ thể là cortisol-2H4 1ng, DHEA-2H4 100pg, T-2H4 100pg, progesterone-13C3 100pg, estrone-13C3 100pg và estradiol-13C3 100pg/100ml.

Các mẫu huyết thanh được chiết xuất với 3ml ethyl acetate. Dịch chiết sau khi thu được sẽ cho vào cột lọc Bond Elut C18 (Varian, CA, USA) để loại bỏ tạp chất. Sau đó, lại dùng dung dịch acetonitrile 80% để tách các thành phần steroid ra khỏi cột lọc Bond Elut C18. Cho hỗn hợp các steroid thu được tác dụng với hỗn hợp picolinic anhydrid acid (gọi là thuốc thử A), thuốc thử này A sẽ phản ứng với nhóm hydroxyl của steroid để làm tăng sự nhạy cảm của các steroid với hệ thống LC-MS/MS [160], [161]. Hỗn hợp sau phản ứng sẽ tiếp tục được cho vào cột lọc InterSept pharm (GL science, Tokyo, Nhật Bản) để loại bỏ hóa chất dư thừa. Các dẫn xuất steroid của axit picolinoyl, và dẫn xuất không chứa picolinoyl được định lượng trực tiếp bằng hệ thống LC/MS-MS [160].

#### **\* Kiểm tra chất lượng và đánh giá kết quả**

Các ion được ước tính như sau:

Cortisol và 2H4-cortisol: 468,2/309,2; 472,2/454,3;

Cortison và 2H4-cortisol: 468,2/309,2; 472,2/454,3;

DHEA và 2H4-DHEA: 394,3/175,1; 398,1/179,4;

Androstenedion và 13C3- Androstenedion: 287,4/109,0; 290,1/100,1;

Estron và 13C3-estron: 376,1/156,9; 380/160,8;

Estradiol và 13C3-estradiol: 483,3/264,0; 487,2/268,2.

Các giới hạn phân tích thấp nhất cho cortisol, cortison, DHEA, androstenedion, estron và estradiol tương ứng là 50, 50, 5, 10, 1,0 và 0,5 pg. Độ chính xác và độ lặp lại nằm trong khoảng  $\pm 20\%$  so với nồng độ thấp nhất trong ngày hay giữa các ngày. Độ chính xác và độ lặp lại cũng dao động trong khoảng  $\pm 15\%$  đối với các nồng độ khác.

#### **2.4.3.2. Quy trình xử lý mẫu và phân tích hormon steroid trong nước bọt và sữa**

##### **\* Tiến hành phân tích các steroid trong nước bọt và sữa bằng kỹ thuật LC-MS/MS**

Mẫu nước bọt hoặc sữa (1.0ml – 1.5ml) được trộn với các chất nội chuẩn bao gồm cortisol-2H4 1ng, DHEA-2H4 100pg, T-2H4 100pg, progesteron-13C3 100pg, estron-13C3 100pg và estradiol-13C3 100pg/100 ml. Hỗn hợp này được chiết xuất theo quy trình giống như đối với huyết thanh (hình 2.6).

Dịch chiết được cho vào cột Bond Elut C18 để tách các thành phần phân cực bao gồm cortisol và cortison bởi dung dịch acetonitrile 20% (2 ml) ra khỏi phần hỗn hợp, phần không phân cực được tách khỏi cột Bond Elut C18 bởi dung dịch acetonitrile 80% (3ml). Thành phần không phân cực lại tiếp tục được cho vào cột OASIS MAX (Massachusetts, Mỹ) đã được rửa trước bởi lần lượt các dung môi methanol (3ml), 0,1M NaOH (1ml) và nước (3ml).

Sau khi cho vào cột OASIS MAX, phần không phân cực sẽ được tách làm 2 phần. Phần trung tính được tách với methanol, còn estrogen (estradiol và estron) được tách bởi dung dịch 1% axit formic-methanol. Dung môi hữu cơ của cả hai phần được làm bay hơi hết. Phần estrogen được tạo dẫn xuất với hỗn hợp 2% pentafluorobenzyl bromide-acetonitrile (100 $\mu$ l) và dung dịch KOH-ethanol 5% (50 $\mu$ l) ở 53<sup>0</sup>C, các dẫn xuất tạo thành của estradiol và

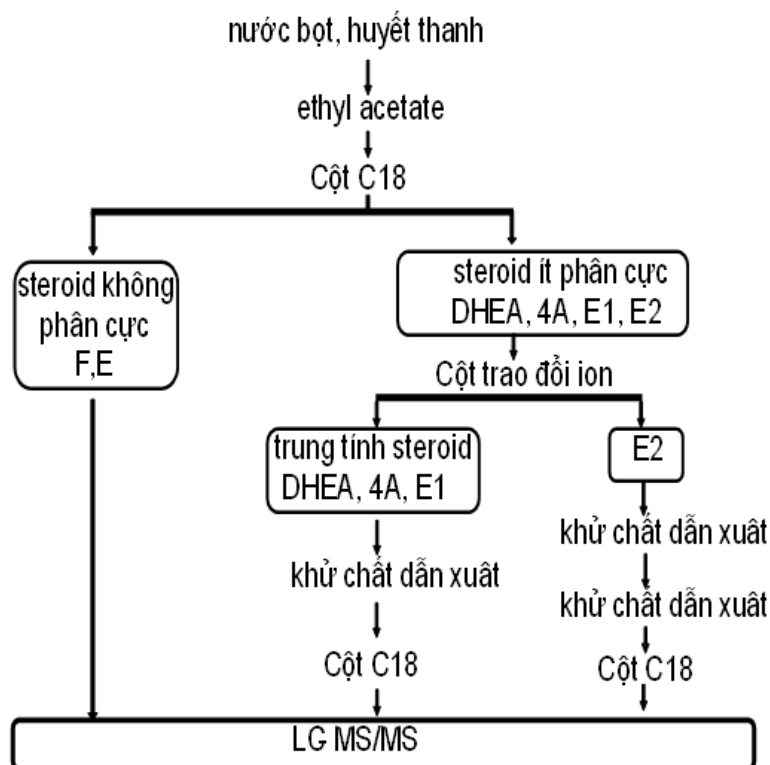
estron sẽ được tách bởi cột Intersept SI với dung dịch 15-50% ethyl acetate-hexan. Phần estron-3-pentafluorobenzyl được tạo thành dẫn xuất estron-3-pentafluorobenzyl-17-hydorazino-2-methylpyridinium theo phương pháp của Higashi [162], trong khi phần estradiol-3-pentafluorobenzyl được tạo thành dẫn xuất estradiol-3 pentafluorobenzyl-17-O-2-pyridinium ether bằng cách sử dụng tác nhân khác [163]. Cả hai dẫn xuất được tinh sạch trên một cột Bond Elut C18 để loại bỏ thuốc thử dư thừa. Các dẫn xuất của estron và estradiol được trộn với 100µl 1% axit formic/methanol/axetonitril (20: 1: 1) và 20 µl dung dịch này được đo bằng hệ thống LC-MS/MS.

Phần trung tính được xử lý theo phương pháp axit picolinic như đã mô tả ở trên cho các mẫu huyết thanh. Phần này cũng được đo bằng hệ thống LC-MS/MS (API 5000).

#### \* Kiểm tra chất lượng và đánh giá kết quả

Các ion ước tính như sau: cortisol và 2H4-cortisol: 468,2/309,2; 472,2/454,3; cortison và 2H4-cortisol: 468,2/309,2; 472,2/454,3; DHEA và 2H4-DHEA: 394,3/175,1; 398,1/179,4; A-Dion và 13C3-A-Dione: 287,4 109,0; 290,1/100,1; estron và estron-13C3: 556,3/313,1; 560,3/379,3; estradiol và 13C3-estradiol: 544,2/339,0; 548,2/343,2.

Các giới hạn phân tích thấp nhất cho cortisol, cortison, DHEA, androstenedion, estron và estradiol tương ứng là 50, 50, 2, 10, 0,5 và 0,1 pg/khảo nghiệm. Độ chính xác và độ lặp lại đều nằm trong khoảng  $\pm 20\%$  so với mức giới hạn thấp nhất trong ngày và giữa các ngày xét nghiệm; và cả hai đều nằm trong khoảng  $\pm 15\%$  đối với nồng độ không phải thấp nhất.



Hình 2.6. Sơ đồ quy trình phân tích hormon trong huyết thanh và nước bọt [164]

## 2.5. Ước tính lượng dioxin hấp thụ hàng ngày ở trẻ bú sữa mẹ (DDI)

Lượng dioxin hấp thụ hàng ngày của trẻ được ước tính gián tiếp thông qua lượng sữa mẹ tiêu thụ và trọng lượng của trẻ. Ở trẻ em trong độ tuổi từ 0 đến 24 tuần, tiêu thụ khoảng 800ml sữa mỗi ngày. Mức độ DDI được ước tính căn cứ vào lượng mỡ trong sữa mẹ và nồng độ dioxin theo phương trình dưới đây (quy trình tách mỡ trong sữa được trình bày ở phụ lục 3):

$$DDI = 800 \times (\% \text{ hàm lượng chất béo trong sữa}/100) \times (\text{PCDD/PCDF TEQ trong sữa mẹ trong pg/g lipid})/(\text{trọng lượng trẻ sơ sinh theo kg}) \text{ [165].}$$

## 2.6. Địa điểm phân tích

\* Phân tích dioxin từ các mẫu sữa được thực hiện tại phòng phân tích dioxin của trường Đại học Y Kanazawa, Nhật Bản.

\* Phân tích hormon từ các mẫu sữa, mẫu huyết thanh và mẫu nước bọt được

thực hiện tại phòng phân tích hormon thuộc công ty nghiên cứu Dược phẩm ASKA thành phố Kawasaki, Nhật Bản.

## 2.7. Xử lý số liệu nghiên cứu

\* Số liệu thu thập được mã hóa, nhập vào máy tính và xử lý theo chương trình SPSS 12.0 và phần mềm Microsoft Excel 2007.

\* Các thuật toán thống kê sử dụng trong nghiên cứu:

+ Tính tỷ lệ phần trăm (%)

+ Tính giá trị trung bình, trung vị, độ lệch chuẩn

+ So sánh 2 tỷ lệ bằng test  $\chi^2$  bình phương

+ So sánh 2 số trung bình quan sát bằng t-test với các dữ liệu phân phối chuẩn và các giá trị được biểu diễn dưới dạng số trung bình (mean) và độ lệch chuẩn (SD).

+ So sánh 2 số trung bình quan sát bằng Mann – Whitney test với các dữ liệu phân phối không chuẩn và các giá trị được biểu diễn dưới dạng số trung bình (mean), độ lệch chuẩn (SD) và trung vị (median).

$p > 0,05$  - độ tin cậy  $< 95\%$

$p < 0,05$  - độ tin cậy  $> 95\%$

$p > 0,01$  - độ tin cậy  $< 99\%$

$p < 0,01$  - độ tin cậy  $> 99\%$

$p < 0,001$  - độ tin cậy  $> 99,9\%$

+ Tính hệ số tương quan r Pearson theo công thức: 
$$r = \frac{\sum xy}{\sqrt{\sum x^2 \sum y^2}}$$

$|r| < 0,3$  là tương quan ít;

$0,3 \leq |r| \leq 0,5$  là tương quan mức độ vừa;

$0,5 \leq |r| \leq 0,7$  là tương quan khá chặt chẽ;

$|r| \geq 0,7$  là tương quan rất chặt chẽ.



## **2.8. Đạo đức nghiên cứu**

+ Tất cả các trường hợp tham gia nghiên cứu đều tự nguyện và không ép buộc. Bí mật hoàn toàn các thông tin cá nhân, số liệu và kết quả nghiên cứu của người tham gia. Các số liệu này chỉ phục vụ mục đích nghiên cứu khoa học, không phục vụ cho bất kỳ mục đích nào khác.

+ Động viên và thăm hỏi đối với các trường hợp tổn thương tâm lý và sức khỏe do hậu quả dioxin chiến tranh.

+ Ủy ban đạo đức y khoa của Đại học Kanazawa đã thông qua nghiên cứu này theo giấy phép y học số 89 năm 2008 và được sự đồng ý thông từ mỗi người tham gia.

+ Các mẫu nghiên cứu được quản lý, phân tích và xử lý sau phân tích đúng theo các quy định xử lý chất thải y tế độc hại của Bộ Y tế.

### CHƯƠNG 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

### 3.1. Đặc điểm chung

#### 3.1.1. Đặc điểm chung của mẹ

**Bảng 3.1. Đặc điểm của những người mẹ ở khu vực nghiên cứu**

Chỉ số	Kim Bảng			Phù Cát			P
	n	Trung bình	SD	n	Trung bình	SD	
Tuổi (năm)	59	25,8	2,9	51	27,3	3,8	<0,05
Chiều cao (cm)	59	152,2	5,0	51	152,0	5,3	>0,05
Cân nặng (kg)	59	48,4	4,9	51	48,4	6,7	>0,05
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	59	20,9	1,9	51	20,9	2,2	>0,05
Thời gian cư trú (năm)	59	21,6	5,6	51	22,7	4,1	>0,05

Độ tuổi trung bình của những người mẹ ở Phù Cát là  $27,3 \pm 3,8$  tuổi, cao hơn tuổi trung bình của những người mẹ ở Kim Bảng với  $25,8 \pm 2,9$  tuổi. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Các chỉ số về chiều cao, cân nặng và BMI của người mẹ không có sự khác biệt giữa các khu vực. Không có sự khác nhau về thời gian cư trú tại khu vực nghiên cứu của những người mẹ ở Phù Cát với  $21,6 \pm 5,6$  và ở nhóm chúng Kim Bảng với  $22,7 \pm 4,1$  năm.

### 3.1.2. Đặc điểm chung của con

**Bảng 3.2. Đặc điểm của trẻ tại các thời điểm nghiên cứu**

Thời điểm	Chỉ số	Kim Bảng			Phù Cát			p
		n	Trung bình	SD	n	Trung bình	SD	
<b>Dưới 3 tháng tuổi</b>	Tuổi (tuần)	19	9,4	1,6	29	9,0	1,9	>0,05
	Chiều cao (cm)	19	59,2	2,8	29	60,0	3,2	>0,05
	Cân nặng (g)	19	5372,6	661,5	29	5439,3	1018,9	>0,05
	Vòng đầu (cm)	19	39,0	1,3	29	39,1	1,6	>0,05
	Vòng ngực (cm)	19	39,8	1,9	29	39,4	2,8	>0,05
	DDI (TEQ pg/dl/ngày)	19	9,4	4,6	29	27,6	13,4	<0,001
<b>3 đến 4 tháng tuổi</b>	Tuổi (tuần)	40	15,3	3,5	22	14,3	2,5	>0,05
	Chiều cao (cm)	40	62,4	2,5	22	62,4	2,7	>0,05
	Cân nặng (g)	40	6327,3	832,5	22	6100,9	808,8	>0,05
	Vòng đầu (cm)	40	40,8	1,8	22	40,8	1,7	>0,05
	Vòng ngực (cm)	40	41,6	2,1	22	40,6	2,2	>0,05
	DDI (TEQ pg/dl/ngày)	40	7,5	3,1	22	25,1	14,6	<0,001
<b>3 tuổi</b>	Chiều cao (cm)	59	91,2	3,7	51	92,1	4,0	>0,05
	Cân nặng (kg)	59	12,8	1,6	51	12,8	1,8	>0,05
	Vòng đầu (cm)	59	48,5	1,4	51	48,8	1,6	>0,05
	Vòng ngực (cm)	59	49,3	2,0	51	49,4	2,7	>0,05

Tại thời điểm dưới 3 tháng tuổi, các chỉ số về chiều cao; chỉ số cân nặng; chu vi vòng đầu và chu vi vòng ngực của trẻ ở hai khu vực nghiên cứu là không khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Ước lượng mức độ dioxin hấp thụ hàng ngày của trẻ ở Phù Cát là  $27,6 \pm 13,4$  TEQ pg/dl cao hơn của trẻ ở Kim Bảng với  $9,4 \pm 4,6$  TEQ pg/dl. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Tại thời điểm 3 đến 4 tháng tuổi, chỉ số về chiều cao; cân nặng; chu vi vòng đầu và chu vi vòng ngực của trẻ ở hai khu vực nghiên cứu là không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Ước lượng mức độ dioxin hấp thụ hàng ngày của trẻ ở Phù Cát là  $25,1 \pm 14,6$  TEQ pg/dl cao hơn của trẻ ở Kim Bảng là  $7,5 \pm 3,1$  TEQ pg/dl. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Tại thời điểm 3 tuổi, các chỉ số về chiều cao, cân nặng, chu vi vòng đầu và chu vi vòng ngực của trẻ tại hai khu vực nghiên cứu là không có sự khác biệt với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.3. Cân nặng lúc sinh của trẻ ở Kim Bảng và Phù Cát**

<b>Cân nặng (g)</b>	<b>Kim Bảng (n = 59)</b>	<b>Phù Cát (n = 51)</b>	<b>p</b>
Trung bình	$3257 \pm 406$	$3131 \pm 502$	$>0,05$
<2500	2 (3,4%)	6 (11,8%)	$>0,05$
2501-2800	4 (6,8%)	5 (9,8%)	$>0,05$
>2800	53 (89,8%)	40 (78,4%)	$>0,05$

Cân nặng trung bình lúc sinh của trẻ ở Phù Cát là  $3131 \pm 502$  g, trong khi cân nặng trung bình của trẻ ở Kim Bảng là cao hơn với  $3257 \pm 406$  g. Khác biệt không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ .

Tỷ lệ trẻ sơ sinh có cân nặng thấp dưới 2500g ở Phù Cát là 11,8% cao hơn ở Kim Bảng với 3,4%. Tỷ lệ trẻ sơ sinh có cân nặng trên 2800g ở Phù Cát là 78,4% thấp hơn tỷ lệ này ở Kim Bảng với 89,8%. Khác biệt không có ý nghĩa với  $p > 0,05$ .

### 3.2. Nồng độ dioxin trong sữa mẹ

**Bảng 3.4. So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDDs trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

TEQ đồng phân dioxin (pg/g lipid)	Kim Bảng				Phù Cát				PC/KB	P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
2,3,7,8-TeCDD	59	0,458	0,344	0,337	51	1,455	0,709	1,266	3,8	***
1,2,3,7,8-PeCDD	59	1,300	0,572	1,211	51	4,241	1,736	4,022	3,3	***
1,2,3,4,7,8-HxCDD	59	0,064	0,025	0,063	51	0,198	0,081	0,178	2,8	***
1,2,3,6,7,8-HxCDD	59	0,140	0,064	0,129	51	0,686	0,305	0,625	4,9	***
1,2,3,7,8,9-HxCDD	59	0,061	0,027	0,058	51	0,261	0,110	0,227	3,9	***
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	59	0,026	0,019	0,023	51	0,135	0,061	0,128	5,5	***
OCDD	59	0,004	0,002	0,003	51	0,021	0,009	0,019	5,9	***

Ghi chú: PC/KB: tỷ lệ đồng phân dioxin giữa khu vực Phù Cát và Kim Bảng

\*\*\*,  $p < 0,001$ .

Mức độ đương lượng độc của các đồng phân nhóm PCDDs bao gồm 2,3,7,8-TeCDD; 1,2,3,7,8-PeCDD; 1,2,3,4,7,8-HxCDD; 1,2,3,6,7,8-HxCDD; 1,2,3,7,8,9-HxCDD; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD và OCDD trong sữa những người mẹ ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

**Bảng 3.5. So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDFs trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

TEQ đồng phân dioxin (pg/g lipid)	Kim Bảng				Phù Cát				PC/KB	P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
2,3,7,8-TeCDF	59	0,068	0,029	0,066	51	0,063	0,032	0,061	0,9	>0,05
1,2,3,7,8-PeCDF	59	0,014	0,007	0,013	51	0,058	0,033	0,051	4,0	***
2,3,4,7,8-PeCDF	59	0,921	0,339	0,867	51	1,777	0,607	1,710	2,0	***
1,2,3,4,7,8-HxCDF	59	0,193	0,072	0,184	51	1,447	0,784	1,289	7,0	***
1,2,3,6,7,8-HxCDF	59	0,166	0,065	0,161	51	0,850	0,416	0,769	4,8	***
1,2,3,7,8,9-HxCDF	59	0,014	0,007	0,012	51	0,037	0,027	0,027	2,2	***
2,3,4,6,7,8-HxCDF	59	0,056	0,030	0,050	51	0,147	0,061	0,133	2,7	***
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	59	0,017	0,023	0,013	51	0,164	0,116	0,135	10,8	***
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	59	0,002	0,001	0,002	51	0,017	0,012	0,013	8,4	***
OCDF	59	0,000	0,000	0,000	51	0,000	0,001	0,000	3,7	***

Ghi chú: PC/KB: tỷ lệ đồng phân dioxin giữa khu vực Phù Cát và Kim Bảng

\*\*\*,  $p < 0,001$ .

Mức độ đương lượng độc của các đồng phân nhóm PCDFs bao gồm 1,2,3,7,8-PeCDF; 2,3,4,7,8-PeCDF; 1,2,3,4,7,8-HxCDF; 1,2,3,6,7,8-HxCDF; 1,2,3,7,8,9-HxCDF; 2,3,4,6,7,8-HxCDF; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF; 1,2,3,4,7,8,9-HpCDF và OCDF trong sữa những người mẹ ở Phù Cát cao hơn so với ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Mức độ đương lượng độc của thành phần 2,3,7,8-TeCDF trong sữa những người mẹ ở Phù Cát và Kim Bảng là không có sự khác biệt.

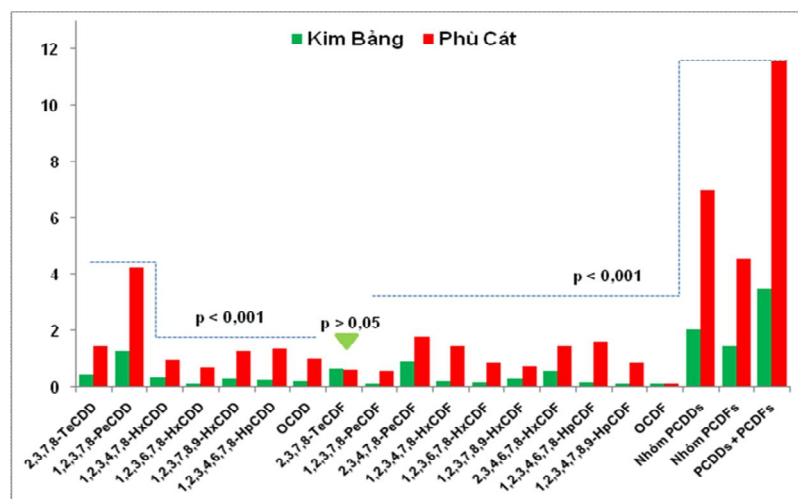
**Bảng 3.6. So sánh nồng độ tổng số các đồng phân dioxin trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

TEQ tổng đồng phân dioxin (pg/g lipid)	Kim Bảng				Phù Cát				PC/KB	p
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
Nhóm PCDDs	59	2,053	0,910	1,849	51	6,997	2,715	6,563	3,5	***
Nhóm PCDFs	59	1,451	0,495	1,319	51	4,561	1,835	4,304	3,3	***
PCDDs+PCDFs	59	3,505	1,356	3,140	51	11,558	4,079	11,039	3,5	***

Ghi chú: PC/KB: tỷ lệ đồng phân dioxin giữa khu vực Phù Cát và Kim Bảng

\*\*\*,  $p < 0,001$ .

Mức độ đương lượng độc của tổng các đồng phân nhóm PCDDs, nhóm PCDFs và toàn bộ PCDDs+PCDFs trong sữa những người mẹ ở Phù Cát cao hơn ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .



**Biểu đồ 3.1. Mức độ dioxin trong sữa mẹ ở các khu vực nghiên cứu**

Biểu đồ 3.1 cho thấy toàn bộ các đồng phân dioxin trong sữa của những người mẹ ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Không có sự khác biệt của đồng phân 2,3,7,8 TeCDF trong sữa những người mẹ ở hai khu vực.

**Bảng 3.7. So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDDs trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ**

TEQ đồng phân dioxin (pg/g lipid)	Mẹ sinh con đầu lòng				Mẹ sinh con thứ				ĐL /T	P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
2,3,7,8-TeCDD	37	1,203	0,813	1,052	73	0,777	0,656	0,559	1,5	**
1,2,3,7,8-PeCDD	37	3,499	2,338	2,810	73	2,240	1,539	1,855	1,6	**
1,2,3,4,7,8-HxCDD	37	0,155	0,111	0,105	73	0,112	0,071	0,096	1,4	*
1,2,3,6,7,8-HxCDD	37	0,510	0,421	0,324	73	0,334	0,286	0,212	1,5	*
1,2,3,7,8,9-HxCDD	37	0,194	0,152	0,132	73	0,134	0,107	0,093	1,4	*
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	37	0,093	0,083	0,055	73	0,068	0,060	0,040	1,4	>0,05
OCDD	37	0,013	0,011	0,010	73	0,011	0,010	0,006	1,2	>0,05

Ghi chú: ĐL/T: tỷ lệ đồng phân dioxin của mẹ sinh con đầu lòng và sinh con thứ;

\*,  $p < 0,05$ ; \*\*,  $p < 0,01$ .

Bảng 3.7 cho thấy các mức độ đương lượng độc của các đồng phân nhóm PCDDs trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Không có sự khác biệt về mức độ đương lượng độc của đồng phân 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD và OCDD giữa 2 nhóm.



**Bảng 3.8. So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDFs trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ**

TEQ đồng phân dioxin (pg/g lipid)	Mẹ sinh con đầu lòng				Mẹ sinh con thứ				ĐL /T	P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
2,3,7,8-TeCDF	37	0,064	0,030	0,059	73	0,067	0,030	0,065	1,0	>0,05
1,2,3,7,8-PeCDF	37	0,035	0,033	0,022	73	0,034	0,031	0,023	1,0	>0,05
2,3,4,7,8-PeCDF	37	1,632	0,675	1,512	73	1,158	0,568	0,992	1,4	***
1,2,3,4,7,8-HxCDF	37	0,933	0,886	0,412	73	0,694	0,785	0,286	1,3	*
1,2,3,6,7,8-HxCDF	37	0,574	0,470	0,335	73	0,437	0,429	0,220	1,3	*
1,2,3,7,8,9-HxCDF	37	0,029	0,025	0,016	73	0,023	0,021	0,015	1,3	>0,05
2,3,4,6,7,8-HxCDF	37	0,111	0,075	0,087	73	0,092	0,060	0,076	1,2	>0,05
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	37	0,097	0,106	0,051	73	0,080	0,110	0,020	1,2	>0,05
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	37	0,010	0,012	0,004	73	0,008	0,010	0,003	1,3	>0,05
OCDF	37	0,000	0,000	0,000	73	0,000	0,000	0,000	1,0	>0,05

Ghi chú: DL/T: tỷ lệ đồng phân dioxin của mẹ sinh con đầu lòng và sinh con thứ;

\*,  $p < 0,05$ ; \*\*\*,  $p < 0,001$ .

Đương lượng độc của đồng phân 2,3,4,7,8-PeCDF trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng là cao hơn những người sinh con thứ, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ . Đương lượng độc của các đồng phân 1,2,3,4,7,8-HxCDF và 1,2,3,6,7,8-HxCDF trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng là cao hơn những người sinh con thứ, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Không có sự khác biệt về mức độ đương lượng độc của các đồng phân nhóm PCDFs còn lại giữa 2 nhóm.

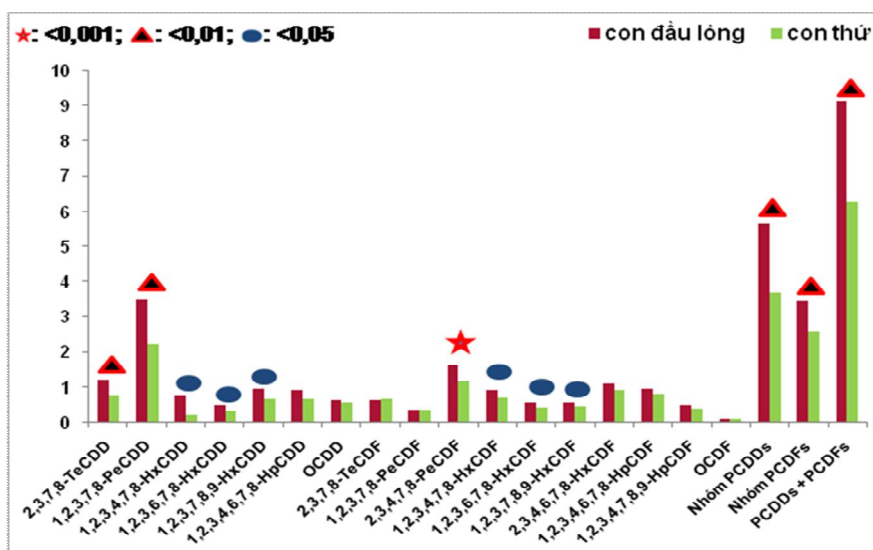
**Bảng 3.9. So sánh nồng độ tổng số các đồng phân dioxin trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ**

TEQ tổng đồng phân dioxin (pg/g lipid)	Mẹ sinh con đầu lòng				Mẹ sinh con thứ				ĐL/T	p
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
Nhóm PCDDs	37	5,668	3,805	4,138	73	3,675	2,545	3,150	1,5	**
Nhóm PCDFs	37	3,487	2,179	2,688	73	2,592	1,887	1,916	1,3	**
PCDDs + PCDFs	37	9,154	5,846	7,080	73	6,268	4,212	5,064	1,5	**

Ghi chú: ĐL/T: tỷ lệ đồng phân dioxin của mẹ sinh con đầu lòng và sinh con thứ;

\*\*,  $p < 0,01$ .

Bảng 3.9 cho thấy mức độ đương lượng độc của tổng các đồng phân dioxin trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .



**Biểu đồ 3.2. Mức độ dioxin trong sữa của những người mẹ sinh con đầu lòng và sinh con thứ.**

Biểu đồ 3.2 cho thấy đồng phân 2,3,7,8-TeCDD và 1,2,3,7,8-PeCDD trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Các đồng phân 1,2,3,4,7,8-HxCDD, 1,2,3,6,7,8- HxCDD, 1,2,3,7,8,9-HxCDD, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8- HxCDF, 1,2,3,7,8,9- HxCDF trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Đồng phân 2,3,4,7,8-PeCDF trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Mức độ đương lượng độc của tổng các đồng phân nhóm PCDDs, nhóm PCDFs và PCDDs+PCDFs trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Không có sự khác biệt của đồng phân 2,3,7,8-TeCDF trong sữa những người mẹ ở hai khu vực.

### 3.3. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt

#### 3.3.1. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi

**Bảng 3.10. So sánh nồng độ các hormon steroid trong nước bọt của những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				p
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	36	1,76	1,10	1,74	38	2,95	2,06	2,56	<0,01
Cortison (ng/ml)	36	9,76	5,17	9,54	38	14,59	6,37	13,03	<0,01
DHEA (pg/ml)	36	130,41	74,28	124,0	38	204,39	121,32	160,0	<0,01
Androstenedion (pg/ml)	36	45,09	20,76	43,75	38	43,82	17,59	42,0	>0,05
Estradiol (pg/ml)	17	0,14	0,08	0,13	38	0,15	0,16	0,12	>0,05

Nồng độ hormon cortisol, cortison và DHEA trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát cao hơn người mẹ ở Kim Bảng, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Không có sự khác biệt giữa nồng độ hormon androstenedion và estradiol trong nước bọt của những người mẹ ở Phù Cát so với Kim Bảng ( $p > 0,05$ ).

**Bảng 3.11. So sánh nồng độ các hormon steroid trong nước bọt những người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát.**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung Bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	9	1,68	1,44	1,67	18	3,08	2,79	2,34	>0,05
Cortison (ng/ml)	9	8,93	6,87	8,47	18	14,99	7,45	13,03	>0,05
DHEA (pg/ml)	9	100,9	90,8	75,9	18	187,3	99,9	154,3	<0,05
Androstenedion (pg/ml)	9	49,80	28,47	49,35	18	43,58	18,31	41,35	>0,05
Estradiol (pg/ml)	5	0,20	0,09	0,20	18	0,14	0,15	0,11	>0,05

Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát trung bình là  $187,3 \pm 99,9$  pg/ml cao hơn ở Kim Bảng với mức trung bình là  $100,9 \pm 90,8$  pg/ml, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hormon cortisol, cortison, androstenedion và estradiol trong nước bọt của những người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát so với ở Kim Bảng với  $p > 0,05$ .

**Bảng 3.12. So sánh nồng độ các hormon steroid trong nước bọt những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng			Phù Cát			p		
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình		SD	Trung vị
Cortisol (ng/ml)	27	1,81	1,03	1,89	20	3,03	1,40	3,23	<0,01
Cortison (ng/ml)	27	10,09	4,77	10,30	20	14,64	5,41	15,24	<0,05
DHEA (pg/ml)	27	136,90	68,93	141,00	20	214,69	144,54	153,00	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	27	42,64	17,82	37,90	20	45,91	17,58	47,90	>0,05
Estradiol (pg/ml)	12	0,12	0,06	0,12	20	0,17	0,18	0,12	>0,05

Nồng độ hormon cortisol trong nước bọt của người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát là  $3,03 \pm 1,40$  ng/ml cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với mức trung bình là  $1,81 \pm 1,03$  ng/ml, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ . Nồng độ hormon cortison trong nước bọt của người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát là  $14,64 \pm 5,41$  ng/ml cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với mức trung bình là  $10,09 \pm 4,77$  ng/ml, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Không có sự khác biệt giữa nồng độ hormon DHEA, androstenedion và estradiol trong nước bọt của những người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát so với ở Kim Bảng với  $p > 0,05$ .

**3.3.2. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú**

**Bảng 3.13. So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt của những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	58	1,41	1,01	1,10	50	2,48	1,58	1,97	<0,001
Cortison (ng/ml)	58	8,08	3,32	7,74	50	11,89	4,58	10,99	<0,001
DHEA (pg/ml)	58	148,83	67,19	133,75	49	170,30	86,44	154,70	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	58	63,29	31,97	55,45	50	61,75	32,40	55,05	>0,05
Estradiol (pg/ml)	58	0,29	0,30	0,18	50	0,34	0,33	0,22	>0,05
Estron (pg/ml)	58	1,35	1,31	0,85	50	1,55	1,42	1,14	>0,05

Nồng độ trung bình của hormon cortisol trong nước bọt người mẹ ở Phù Cát sau một năm cho con bú là  $2,48 \pm 1,58$  ng/ml cao hơn so với Kim Bảng với mức trung bình là  $1,41 \pm 1,01$  ng/ml. Nồng độ trung bình của cortison trong nước bọt những người mẹ ở Phù Cát là  $11,89 \pm 4,58$  ng/ml cao hơn so với nhóm chứng Kim Bảng. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Nồng độ hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong nước bọt của những người mẹ sau một năm cho con bú ở Phù Cát và Kim Bảng là không có sự khác biệt mang nghĩa thống kê.

**Bảng 3.14. So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực	Kim Bảng				Phù Cát				P
	Hormon	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	
Cortisol (ng/ml)	16	1,41	0,84	1,13	20	2,43	1,44	1,97	<0,05
Cortison (ng/ml)	16	8,36	3,25	8,42	20	12,38	4,11	11,59	<0,01
DHEA (pg/ml)	16	131,51	59,31	115,40	20	188,25	90,34	184,00	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	16	71,62	51,31	52,95	20	65,75	38,01	57,65	>0,05
Estradiol (pg/ml)	16	0,31	0,25	0,27	20	0,40	0,41	0,26	>0,05
Estron (pg/ml)	16	1,56	1,70	0,94	20	1,83	1,92	1,12	>0,05

Nồng độ trung bình của hormon cortisol trong nước bọt ở người mẹ sinh con đầu lòng tại Phù Cát là  $2,43 \pm 1,44$  ng/ml cao hơn những người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng với giá trị trung bình là  $1,41 \pm 0,84$  ng/ml, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Nồng độ hormon cortison trong nước bọt của người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát là  $12,38 \pm 4,11$  ng/ml cao hơn so với nồng độ trung bình là  $8,36 \pm 3,25$  ng/ml ở Kim Bảng, khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Không có sự khác biệt giữa nồng độ hormon DHEA, androstenedion estradiol và estron trong nước bọt của những người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát so với Kim Bảng.

**Bảng 3.15. So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	42	1,41	1,07	1,10	30	2,51	1,69	1,97	<0,01
Cortison (ng/ml)	42	7,97	3,38	7,66	30	11,57	4,92	10,61	<0,01
DHEA (pg/ml)	42	155,42	69,48	140,90	29	157,92	82,96	144,10	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	42	60,12	20,50	55,45	30	59,08	28,44	52,35	>0,05
Estradiol (pg/ml)	42	0,29	0,32	0,15	30	0,29	0,25	0,21	>0,05
Estron (pg/ml)	42	1,27	1,14	0,84	30	1,37	0,95	1,20	>0,05

Sau một năm cho con bú, nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát cao hơn ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Không có sự khác biệt giữa nồng độ hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong nước bọt của những người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát so với ở Kim Bảng.



### 3.3.3. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của trẻ tại thời điểm 3 tuổi

**Bảng 3.16. So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt của trẻ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				p
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	59	3,33	1,94	2,95	51	3,86	2,88	2,86	>0,05
Cortison (ng/ml)	59	0,62	0,76	0,38	51	0,61	0,53	0,45	>0,05
DHEA (pg/ml)	57	83,30	48,83	73,00	50	45,30	28,58	37,50	<0,001

Nồng độ trung bình của hormon DHEA trong nước bọt của trẻ ở Phù Cát là  $45,30 \pm 28,58$  pg/ml thấp hơn so với ở Kim Bảng với nồng độ trung bình là  $83,30 \pm 48,83$  pg/ml. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ ở Phù Cát so với ở Kim Bảng.

**Bảng 3.17. So sánh nồng độ hormon trong nước bọt của trẻ là con đầu lòng, con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				p	
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị		
Con đầu lòng	Cortisol (ng/ml)	19	3,66	2,35	3,10	18	4,11	2,59	4,38	>0,05
	Cortison (ng/ml)	19	0,71	1,03	0,37	18	0,60	0,40	0,52	>0,05
	DHEA (pg/ml)	19	83,21	53,04	64,00	18	47,00	32,12	33,5	<0,01
Con thứ	Cortisol (ng/ml)	40	3,18	1,72	2,90	33	3,73	3,06	2,74	>0,05
	Cortison (ng/ml)	40	0,57	0,60	0,40	33	0,62	0,59	0,42	>0,05
	DHEA (pg/ml)	38	83,34	47,33	76,50	32	44,34	26,89	40,0	<0,001

Nồng độ trung bình của hormon DHEA trong nước bọt của trẻ đầu lòng ở Phù Cát là  $47,0 \pm 32,12$  pg/ml thấp hơn so với ở Kim Bảng. Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của trẻ là con thứ ở Phù Cát là  $44,34 \pm 26,89$  pg/ml, thấp hơn so với trẻ ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Không có sự khác biệt mang ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ ở Phù Cát so với ở Kim Bảng.

**Bảng 3.18. So sánh nồng độ hormon trong nước bọt của trẻ trai, trẻ gái ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon		Kim Bảng				Phù Cát				P
		n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Trẻ trai	Cortisol (ng/ml)	27	3,22	1,84	2,88	28	4,06	3,11	3,09	>0,05
	Cortison (ng/ml)	27	0,54	0,62	0,37	28	0,63	0,57	0,47	>0,05
	DHEA (pg/ml)	27	80,63	53,28	69,00	27	46,96	26,79	39,00	<0,01
Trẻ gái	Cortisol (ng/ml)	32	3,43	2,04	3,15	23	3,63	2,62	2,74	>0,05
	Cortison (ng/ml)	32	0,68	0,86	0,39	23	0,58	0,48	0,39	>0,05
	DHEA (pg/ml)	30	85,70	45,24	75,00	23	43,35	31,05	32,00	<0,001

Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của trẻ trai ở Phù Cát là  $46,96 \pm 26,79$  pg/ml thấp hơn so với trẻ trai ở Kim Bảng là  $80,63 \pm 53,28$  pg/ml với  $p < 0,05$ . Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của những trẻ gái ở Phù Cát là  $43,35 \pm 31,05$  pg/ml thấp hơn so với trẻ gái ở Kim Bảng là  $85,70 \pm 45,24$  pg/ml với  $p < 0,001$ .

Nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ trai và gái không có sự khác biệt giữa 2 khu vực.

### 3.4. Nồng độ hormon steroid trong sữa và huyết thanh của mẹ

#### 3.4.1. Nồng độ hormon steroid trong sữa mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi

**Bảng 3.19. So sánh nồng độ hormon steroid trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực	Kim Bảng				Phù Cát				P
	Hormon	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	
Cortisol (ng/ml)	35	1,92	1,61	1,52	35	3,36	2,24	3,31	<0,01
Cortison (ng/ml)	35	7,52	3,30	7,55	35	8,99	2,44	8,65	<0,05
Androstenedion (pg/ml)	35	246,69	142,36	209,40	34	218,66	133,71	190,50	>0,05
Estradiol (pg/ml)	35	0,12	0,15	0,07	34	0,11	0,16	0,07	>0,05

Nồng độ hormon cortisol trong sữa những người mẹ ở Phù Cát là  $3,36 \pm 2,24$  ng/ml cao hơn so với những người mẹ ở Kim Bảng là  $1,92 \pm 1,61$  ng/ml với  $p < 0,01$ . Nồng độ cortison trong sữa những người mẹ ở Phù Cát là  $8,99 \pm 2,24$  ng/ml cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với  $7,52 \pm 3,30$  ng/ml,  $p < 0,05$ .

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hormon androstenedion và estradiol trong sữa những người mẹ ở Phù Cát so với những người mẹ ở Kim Bảng.

**Bảng 3.20. So sánh nồng độ hormon steroid trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	8	1,78	1,69	1,32	14	3,41	2,78	2,21	>0,05
Cortison (ng/ml)	8	6,41	4,76	6,44	14	8,38	2,53	8,15	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	8	210,6	112,5	237,7	14	172,4	85,81	171,7	>0,05
Estradiol (pg/ml)	8	0,14	0,12	0,09	14	0,09	0,07	0,07	>0,05

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hormon cortisol, cortison, androstenedion và estradiol trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát so với ở Kim Bảng.

**Bảng 3.21. So sánh nồng độ các hormon steroid trong sữa những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				P
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	26	2,01	1,62	1,54	18	3,19	1,86	3,45	<0,05
Cortison (ng/ml)	26	7,95	2,77	7,77	18	9,25	2,34	9,48	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	26	253,08	151,53	207,00	17	256,46	160,27	239,40	>0,05
Estradiol (pg/ml)	26	0,12	0,16	0,04	17	0,13	0,23	0,07	>0,05

Nồng độ hormon cortisol trong sữa những người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát là  $3,19 \pm 1,86$  ng/ml cao hơn so với những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng với mức cortisol trong sữa là  $2,01 \pm 1,62$  ng/ml. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ hormon cortison, androstenedion và estradiol trong sữa những người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát so với ở Kim Bảng.

**3.4.2. Nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú**

**Bảng 3.22. So sánh nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				p
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	58	78,54	37,07	66,25	50	114,28	52,81	96,70	<0,001
Cortison (ng/ml)	58	22,35	6,92	21,95	50	27,57	6,30	27,55	<0,001
DHEA (pg/ml)	58	4805,32	2090,86	4446,35	50	5042,99	2614,83	4504,65	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	58	1799,58	745,46	1649,80	50	1611,81	784,76	1463,65	>0,05
Estradiol (pg/ml)	58	39,78	49,93	21,90	50	34,39	36,05	19,35	>0,05
Estron (pg/ml)	58	39,92	36,72	26,20	50	29,89	25,09	21,55	>0,05

Sau một năm cho con bú, nồng độ hormon cortisol và cortison trong huyết thanh của người mẹ ở Phù Cát cao hơn so với những người mẹ ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Không có sự khác biệt giữa nồng độ các hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong huyết thanh của những người mẹ sau một năm cho con bú ở Phù Cát so với những người mẹ ở Kim Bảng.

**Bảng 3.23. So sánh nồng độ hormon steroid trong huyết thanh người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng			Phù Cát			p		
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình		SD	Trung vị
Cortisol (ng/ml)	16	77,67	37,37	73,45	20	112,77	54,00	96,10	<0,05
Cortison (ng/ml)	16	21,78	5,65	21,95	20	29,93	5,73	29,15	<0,001
DHEA (pg/ml)	16	4670,28	2086,34	4507,10	20	5366,45	2641,46	4832,05	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	16	2011,19	1127,11	1610,00	20	1720,26	845,61	1527,10	>0,05
Estradiol (pg/ml)	16	43,62	38,98	30,15	20	35,76	33,03	21,30	>0,05
Estron (pg/ml)	16	49,75	45,38	27,60	20	28,68	24,31	20,90	>0,05

Những người mẹ sinh con đầu lòng sau một năm cho con bú có nồng độ trung bình của hormon cortisol trong huyết thanh là  $112,77 \pm 54,0$  ng/ml ở Phù Cát cao hơn so với ở Kim Bảng với nồng độ trung bình cortisol là  $77,67 \pm 37,37$  ng/ml. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ .

Nồng độ trung bình của hormon cortison trong huyết thanh của người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát cao hơn so với những người mẹ ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,001$ .

Không có sự khác biệt giữa nồng độ các hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong huyết thanh của người mẹ sinh con đầu lòng ở Phù Cát so với ở Kim Bảng.

**Bảng 3.24. So sánh nồng độ hormon steroid trong huyết thanh những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát**

Khu vực Hormon	Kim Bảng				Phù Cát				p
	n	Trung bình	SD	Trung vị	n	Trung bình	SD	Trung vị	
Cortisol (ng/ml)	42	78,87	37,40	66,25	30	115,28	52,92	96,70	<0,01
Cortison (ng/ml)	42	22,57	7,39	21,40	30	25,99	6,25	25,35	>0,05
DHEA (pg/ml)	42	4856,77	2115,51	4367,85	30	4827,34	2619,37	4259,60	>0,05
Androstenedion (pg/ml)	42	1718,97	532,60	1653,00	30	1539,51	747,38	1361,10	>0,05
Estradiol (pg/ml)	42	38,31	53,87	18,55	30	33,48	38,46	18,65	>0,05
Estron (pg/ml)	42	36,17	32,69	25,90	30	30,70	25,98	22,15	>0,05

Sau một năm cho con bú, những người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát có nồng độ hormon cortisol trung bình trong huyết thanh cao hơn so với những người mẹ ở Kim Bảng. Khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,01$ .

Không có sự khác biệt giữa nồng độ các hormon cortison, DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong huyết thanh của người mẹ sinh con thứ ở Phù Cát so với Kim Bảng.

### 3.5. Tỷ lệ nồng độ hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh của mẹ sau một năm cho con bú

*Bảng 3.25. So sánh tỷ lệ nồng độ các hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh của mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát tại thời điểm sau một năm cho con bú*

Khu vực Hormon	Kim Bảng		Phù Cát		p
	n	Tỷ lệ	n	Tỷ lệ	
Cortisol	58	1,71±0,66	50	2,26±0,94	<0,01
Cortison	58	35,8±10,3	50	45,2±16,8	<0,01
DHEA	58	3,25±1,12	49	4,08±2,84	>0,05
Androstenedion	58	3,48±0,57	50	4,41±2,43	<0,05
Estradiol	58	0,90±0,39	50	1,52±2,13	<0,05
Estron	58	3,66±1,91	50	6,94±6,78	<0,001

Kết quả ở bảng 3.25 cho thấy:

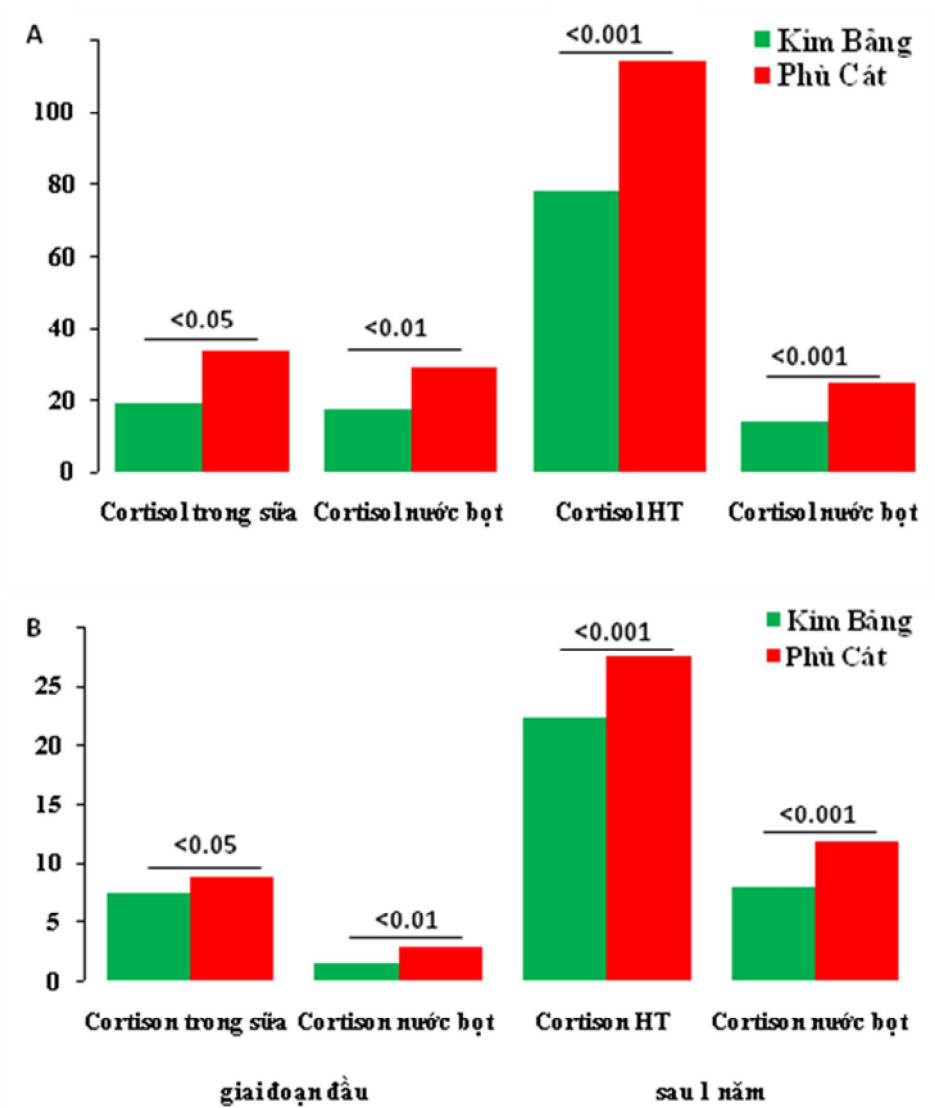
Tỷ lệ nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt và trong huyết thanh của người mẹ ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với  $p < 0,01$ .

Tỷ lệ nồng độ hormon estron trong nước bọt và trong huyết thanh ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với  $p < 0,001$ .

Tỷ lệ nồng độ hormon androstenedion và estradiol trong nước bọt và trong huyết thanh của người mẹ ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với  $p < 0,05$ .

Không có sự khác biệt về tỷ lệ về nồng độ hormon DHEA trong nước bọt và huyết thanh của người mẹ giữa 2 khu vực.





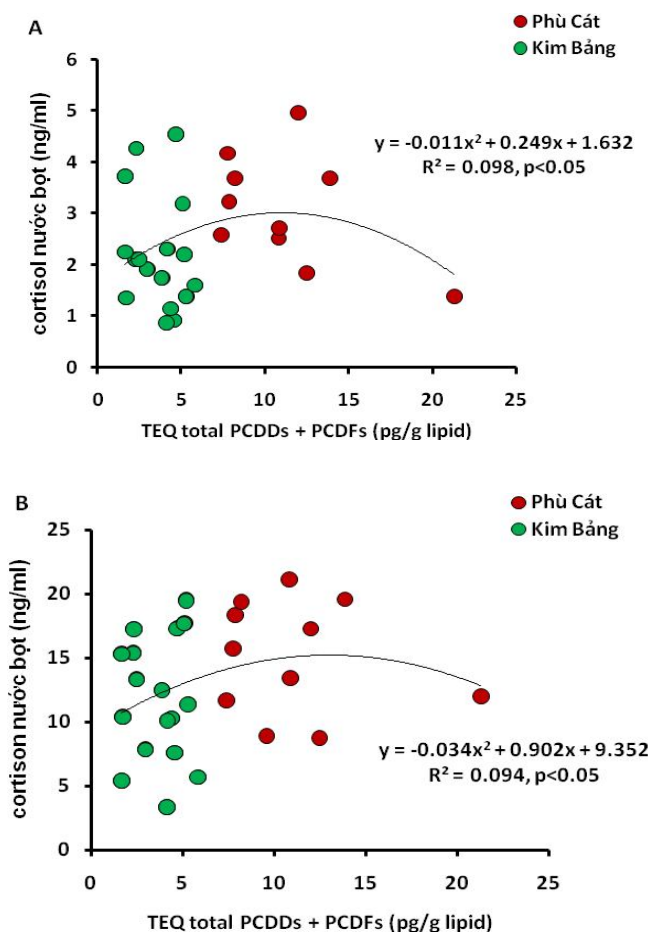
***Biểu đồ 3.3. Nồng độ hormon cortisol (A) và cortison (B) của người mẹ ở Kim Bang và Phù Cát tại các thời điểm***

Qua các kết quả ở biểu đồ 3.3 cho thấy nồng độ hormon cortisol (A) và cortison (B) trong sữa, trong nước bọt và trong huyết thanh của người mẹ ở Phù Cát cao hơn so những người mẹ ở Kim Bang.

### 3.6. Môi trường quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid

#### 3.6.1. Môi trường quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong nước bọt

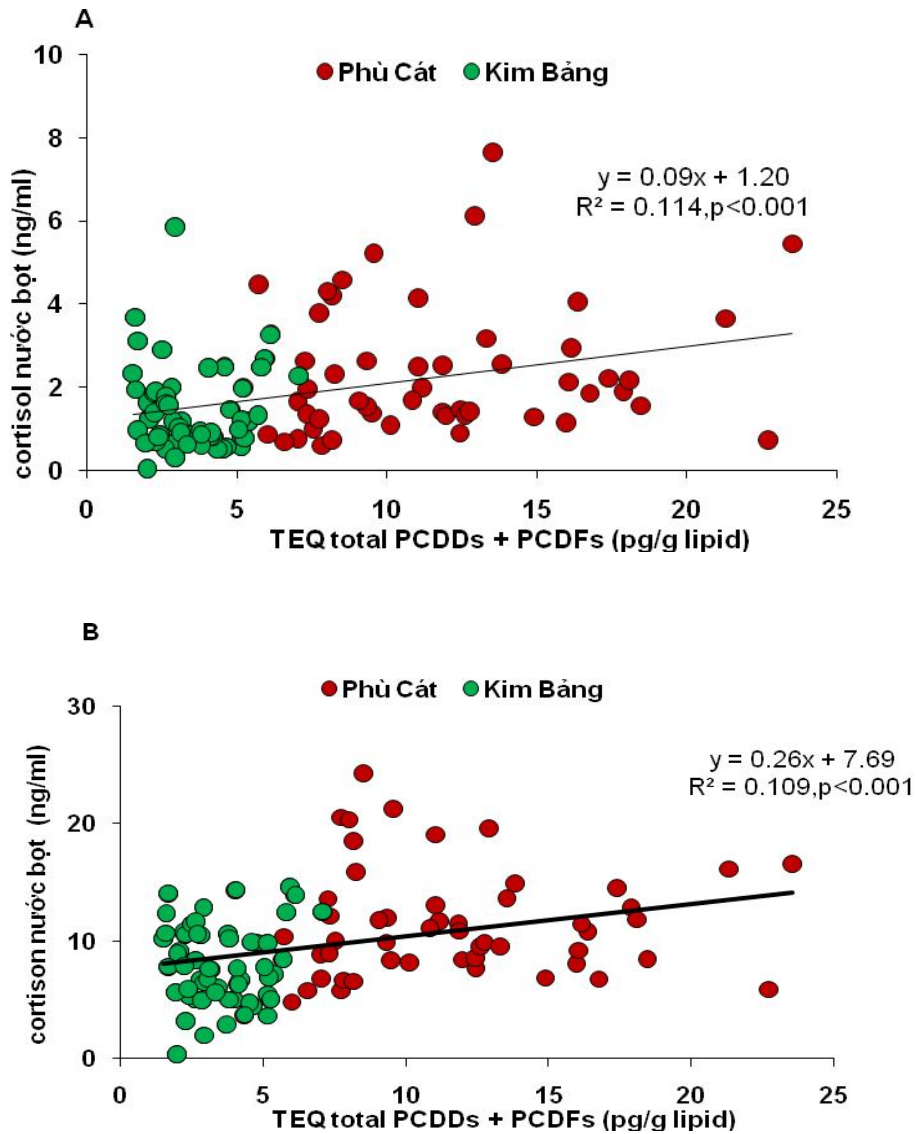
3.6.1.1. Môi trường quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong nước bọt của người mẹ sinh con đầu lòng tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi



**Biểu đồ 3.4. Tương quan giữa tổng đồng phân PCDDs+PCDFs với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong nước bọt của người mẹ sinh con đầu lòng.**

Có mối tương quan phi tuyến dạng hình chuông ( $r^2 = 0,098$  hoặc  $r^2 = 0,094$  và  $p < 0,05$ ) giữa nồng độ hormon cortisol (A) và cortison (B) trong nước bọt với mức độ tổng đương lượng dioxin (PCDDs+PCDFs) trong sữa của những người mẹ sinh con đầu lòng.

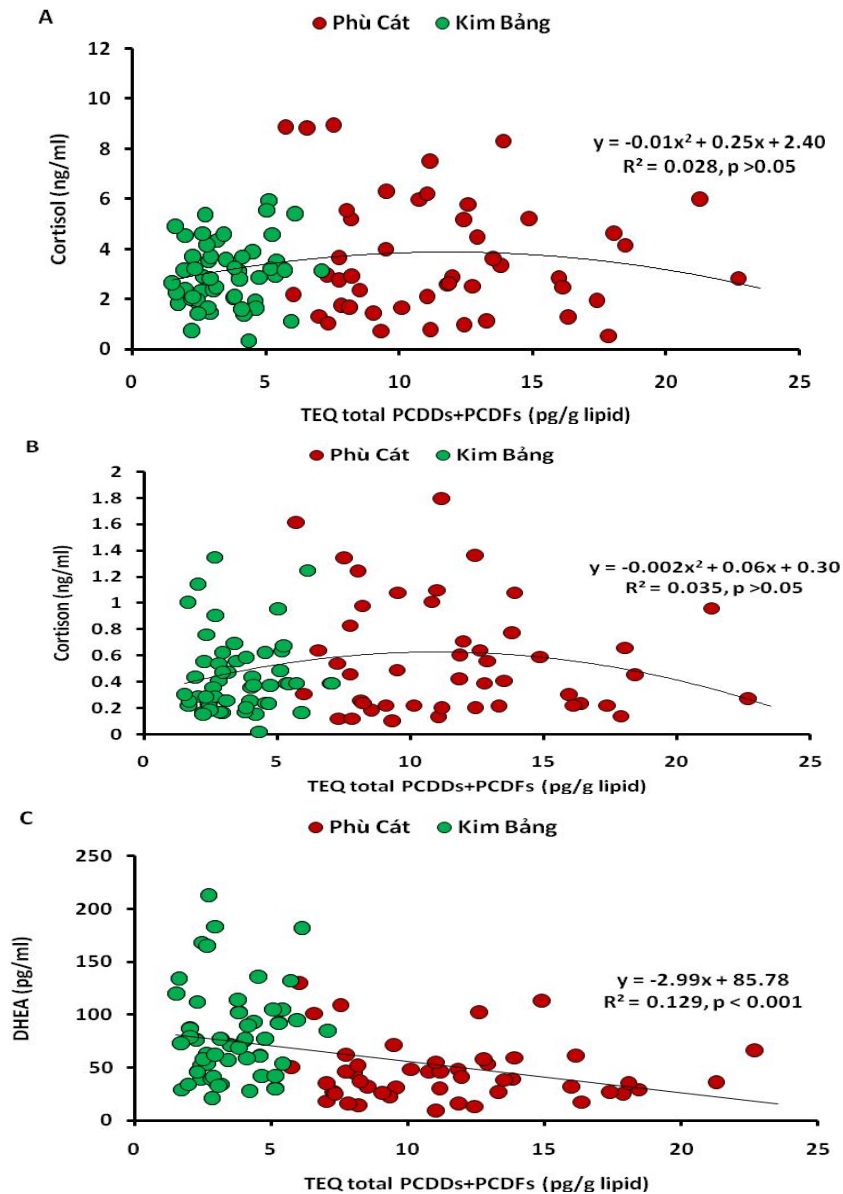
**3.6.2.2. Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú**



**Biểu đồ 3.5. Tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong nước bọt của mẹ.**

Biểu đồ 3.5 cho thấy có mối tương quan thuận giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol (A) với  $r^2 = 0,114$ ;  $p < 0,001$  hoặc cortison (B) với  $r^2 = 0,109$ ;  $p < 0,001$  trong nước bọt của mẹ sau một năm cho con bú.

3.6.3.3. *Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ hormon steroid trong nước bọt của con tại thời điểm 3 tuổi*



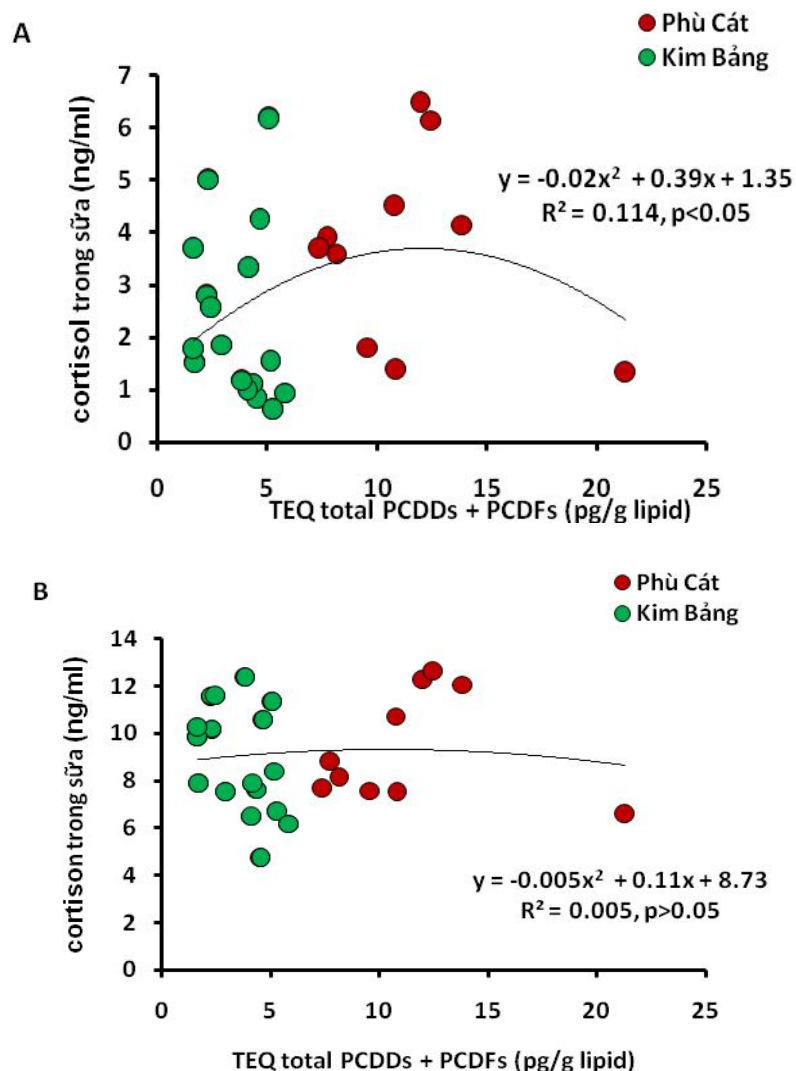
**Biểu đồ 3.6.** *Tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ cortisol (A), cortison (B) và DHEA (C) trong nước bọt của con.*

Có mối tương quan tuyến tính nghịch ( $r^2 = 0,129$  và  $p < 0,001$ ) giữa nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của con với mức độ dioxin (PCDDs+PCDFs) trong sữa mẹ.

Mối tương quan phi tuyến giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ hormon cortisol (A) với  $r^2 = 0,028$ ;  $p > 0,05$  hoặc cortison (B) với  $r^2 = 0,035$ ;  $p > 0,05$  trong nước bọt của trẻ 3 tuổi.

### 3.6.2. Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong sữa và huyết thanh của mẹ

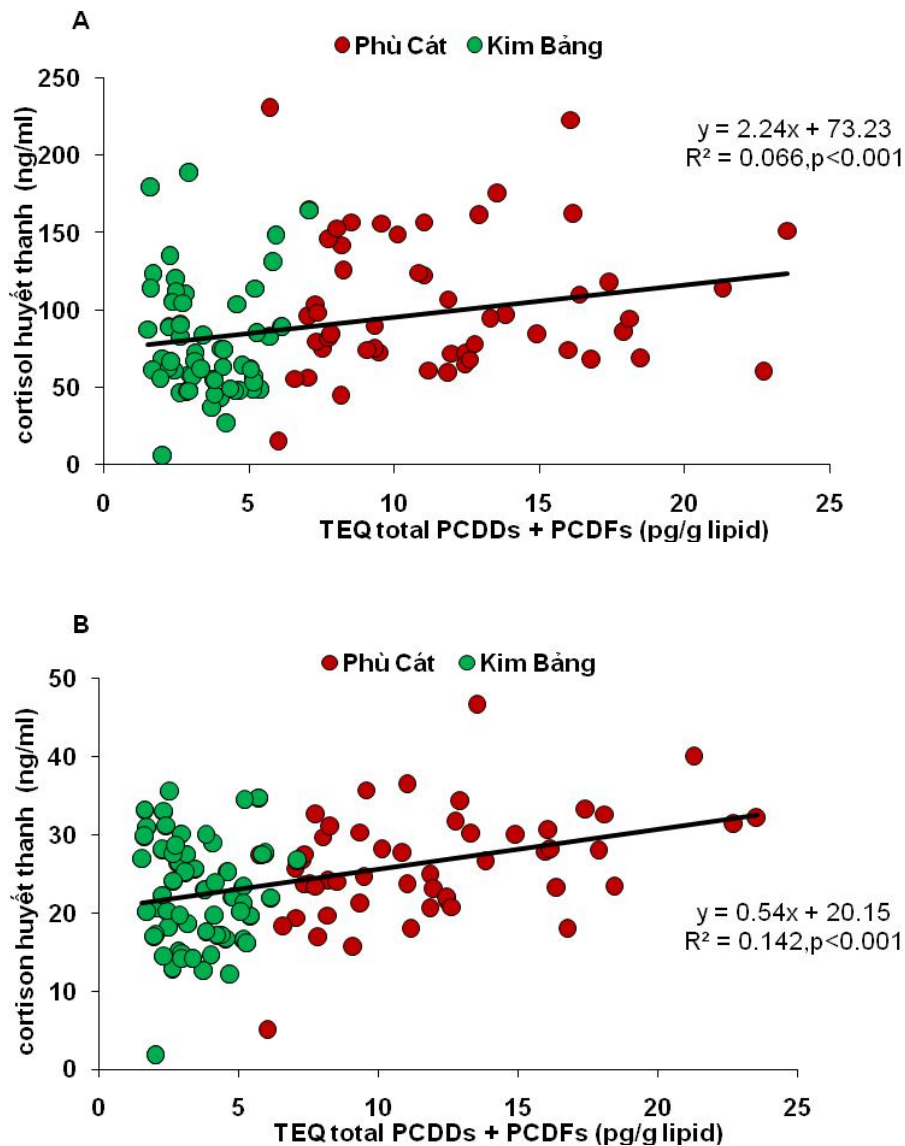
#### 3.6.2.1. Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong sữa mẹ sinh con đầu lòng tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi



**Biểu đồ 3.7. Tương quan giữa tổng đồng phân PCDDs+PCDFs với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong sữa của mẹ.**

Có mối tương quan phi tuyến dạng hình chuông hình chuông ( $r^2 = 0,114$  và  $p < 0,05$ ) giữa nồng độ hormon cortisol (A) trong sữa với mức độ dioxin (PCDDs+PCDFs) trong sữa của những người mẹ sinh con đầu lòng. Không có mối tương quan cortison (B) trong sữa với mức độ dioxin (PCDDs+PCDFs) trong sữa của những người mẹ sinh con đầu lòng.

3.6.2.2. *Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú*

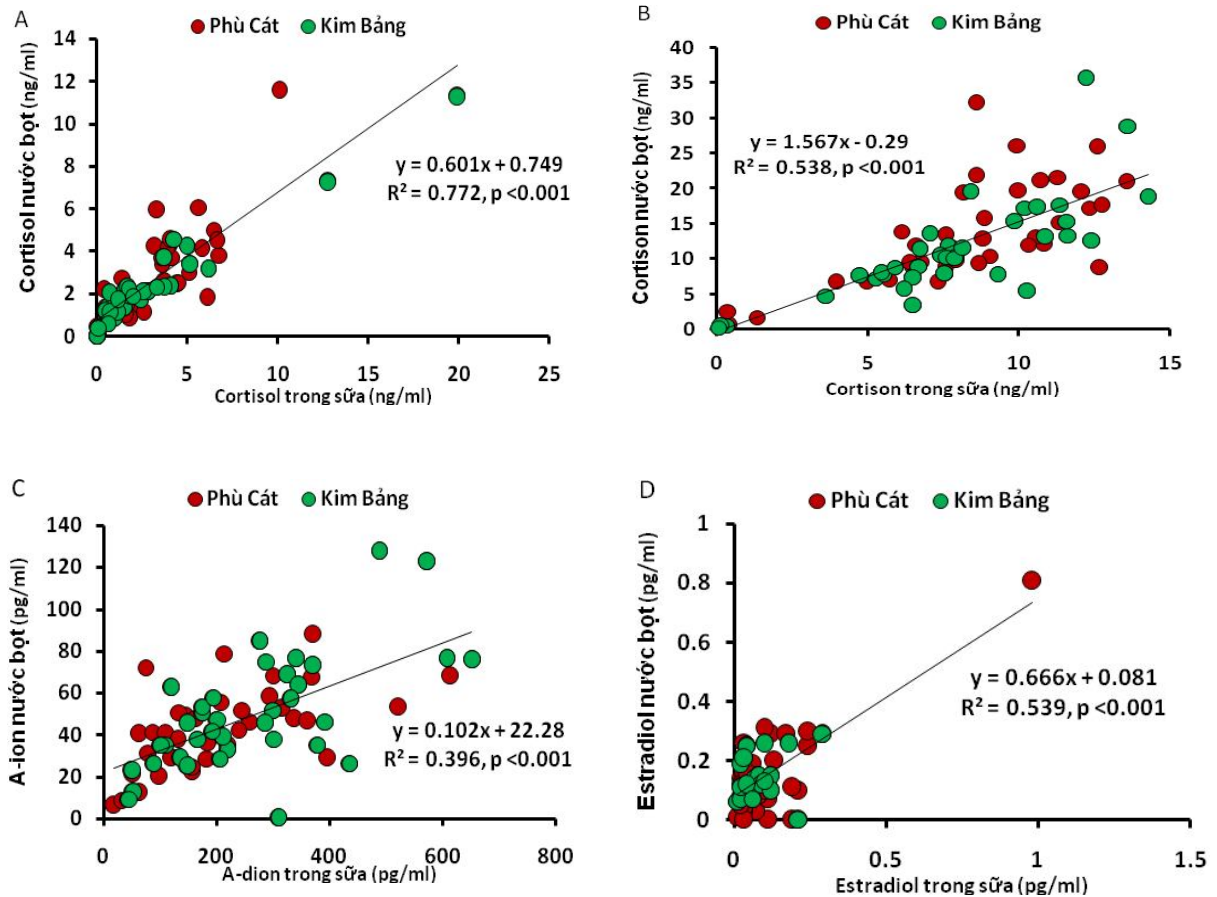


**Biểu đồ 3.8.** *Tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong huyết thanh của mẹ.*

Biểu đồ 3.8 cho thấy có mối tương quan tuyến tính thuận giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol (A) với  $r^2 = 0,066$  và  $p < 0,001$  hoặc cortison (B) với  $r^2 = 0,142$  và  $p < 0,001$  trong huyết thanh của mẹ sau một năm cho con bú.

### 3.7. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt với hormon steroid trong sữa và huyết thanh

#### 3.7.1. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ với hormon steroid trong sữa tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi

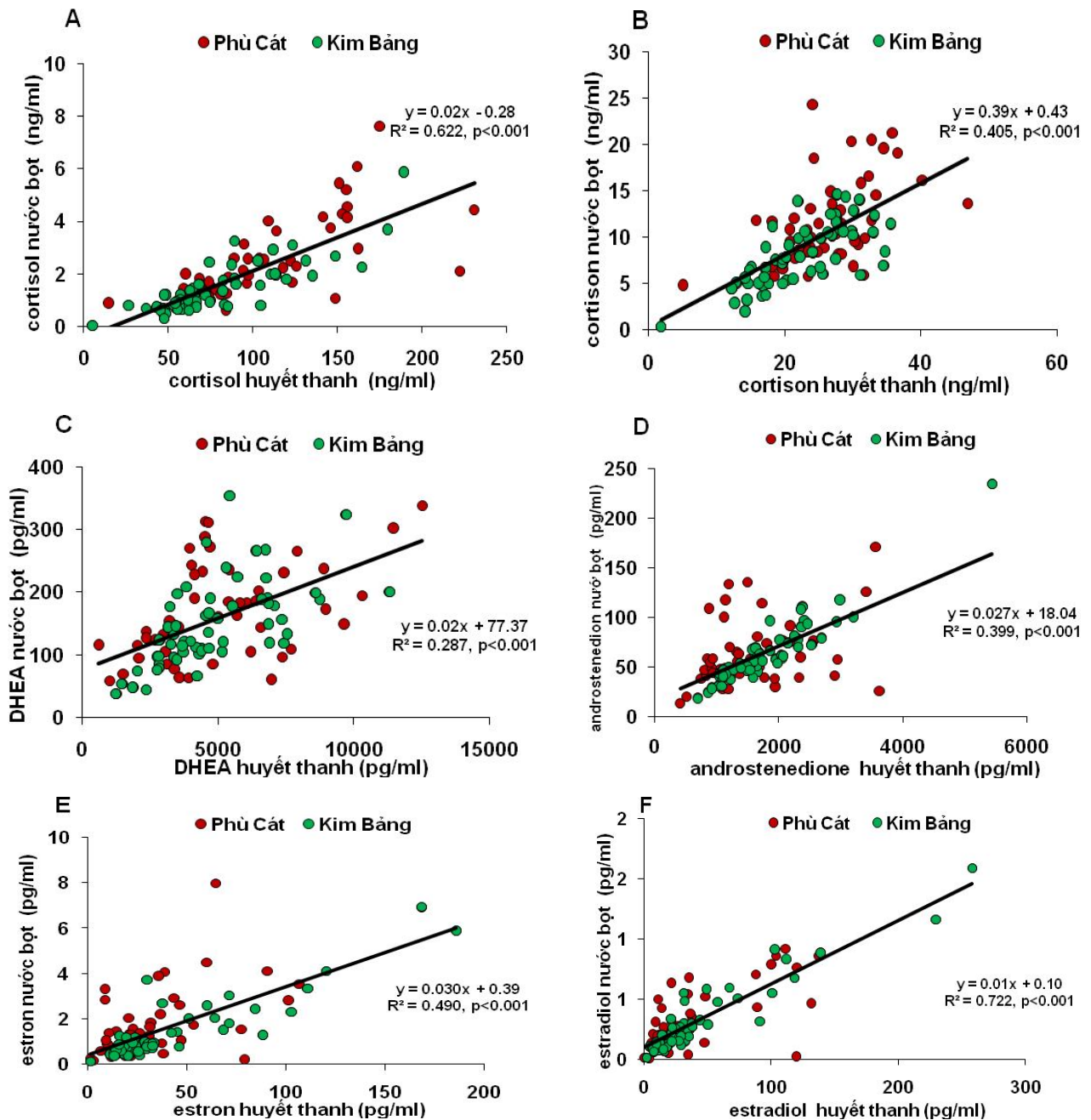


**Biểu đồ 3.9. Mối tương quan giữa nồng độ cortisol (A), cortison (B), androstenedion (C) và estradiol (D) trong sữa và trong nước bọt.**

Có mối tương quan thuận chặt chẽ giữa nồng độ các hormon cortisol, cortison, androstenedion và estradiol trong nước bọt và sữa những người mẹ tại thời điểm 4 đến 16 tuần đầu cho con bú.



**3.7.2. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ với hormon steroid trong huyết thanh tại thời điểm sau một năm cho con bú**



**Biểu đồ 3.10. Mối tương quan giữa nồng độ cortisol (A), cortison (B), DHEA (C), androstenedion (D), estron (E) và estradiol (F) trong huyết thanh và trong nước bọt.**

Có mối tương quan thuận chặt chẽ giữa nồng độ các hormon cortisol, cortison, dehydroepiandrosteron, androstenedion, estron và estradiol trong nước bọt và huyết thanh những người tại thời điểm sau một năm cho con bú.



## CHƯƠNG 4

### BÀN LUẬN

#### 4.1. Đặc điểm chung

##### 4.1.1. Đặc điểm của khu vực nghiên cứu

Trong nghiên cứu của chúng tôi, khu vực chủ cứu là các khu dân cư sống ở xung quanh khu vực sân bay quân sự Phù Cát thuộc tỉnh Bình Định nằm ở miền Trung Nam Bộ, là một trong ba điểm nóng dioxin ở Việt Nam [38]. Thật vậy, trong giai đoạn chiến tranh hóa học từ năm 1961 đến 1972, khu vực sân bay quân sự Phù Cát là nơi tập kết và lưu trữ một lượng lớn các hóa chất diệt cỏ và các chất hóa học khác mà đặc biệt là chất da cam trong đó có tập nhiễm một lượng lớn các thành phần dioxin. Các hóa chất này đã bị đổ tràn và rò rỉ vào môi trường xung quanh, bên cạnh đó là các hoạt động tẩy rửa kho bãi, phun rửa máy bay và các phương tiện khác sau khi đã thực hiện xong các phi vụ phun rải hóa chất.

Theo Dwernychuk và cộng sự thì nồng độ TCDD đã được ghi nhận tại Phù Cát là 194 pg/g trong trầm tích [38],[166]. Đồng thời các báo cáo của Hatfield đã cho thấy ở khu vực này nồng độ TCDD trong đất cao hơn nhiều lần so với tiêu chuẩn quốc tế cho phép là 1000 pg/g TCDD, có những mẫu đất với mức độ tối đa là 236.000 pg/g TCDD đã được tìm thấy từ các vùng lân cận của sân bay Phù Cát [167]. Điều đó là do bản chất của dioxin là một hóa chất khó phân hủy nên tồn tại dai dẳng trong môi trường ô nhiễm từ đất, trầm tích trong các ao hồ [168].

Khu vực đối chứng là các xã thuộc huyện Kim Bảng, tỉnh Hà Nam, đây là một tỉnh ở miền Bắc Bộ Việt Nam. Khu vực đối chứng là một địa bàn thuần nông, dân cư ổn định, không có các khu công nghiệp hóa học để có thể gây ô nhiễm môi trường tại khu vực này. Đặc biệt đây là khu vực hoàn toàn không

bị phun rải, lưu trữ hay có những hoạt động tẩy rửa chất diệt cỏ trong thời kỳ chiến tranh.

Những đặc điểm nổi bật trên của từng khu vực, đó là lý do chúng tôi lựa chọn các khu vực này để thực hiện nghiên cứu.

#### ***4.1.2. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu***

##### *4.1.2.1. Đặc điểm của mẹ*

Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là những người mẹ đang cho con bú có con trong độ tuổi từ 4 đến 16 tuần và những trẻ là con đẻ của những người mẹ này.

Độ tuổi trung bình của những người mẹ ở khu vực Phù Cát là  $27,3 \pm 3,8$  tuổi cao hơn tuổi trung bình của những người mẹ ở Kim Bảng với  $25,8 \pm 2,9$  tuổi. Tuy có sự khác nhau về độ tuổi nhưng những người mẹ ở cả hai khu vực nghiên cứu đều ở độ tuổi thuận lợi cho việc sinh con và nuôi con bằng sữa mẹ [169].

Không có sự khác biệt giữa các chỉ số về chiều cao, cân nặng và BMI của những người mẹ ở hai khu vực nghiên cứu.

Thời gian cư trú tại khu vực nghiên cứu của những người mẹ ở Phù Cát là  $22,7 \pm 4,1$  năm và những người mẹ ở khu vực Kim Bảng là  $21,6 \pm 5,6$  năm. Không có sự khác biệt về thời gian cư trú tại khu vực nghiên cứu của những người mẹ ở hai khu vực. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thời gian cư trú của những người mẹ tại các khu vực nghiên cứu đều trên 20 năm. Đây là thời gian hoàn toàn thuận lợi cho việc đánh giá sự phơi nhiễm của dioxin trong môi trường sống đối với những người đang sinh sống tại khu vực. Theo tác giả Schechter và cộng sự với thời gian trên 5 năm là có thể đánh giá được nguy cơ phơi nhiễm với dioxin có trong thực phẩm và môi trường đối với những người phơi nhiễm. Theo như nghiên cứu này thì đối với trẻ em từ 1-11 năm ước tính hàng ngày hấp thụ một lượng TEQ dioxin là  $6,2 \text{ pg/kg}$  trọng lượng cơ thể, đối

với người lớn lượng dioxin hấp thụ hàng ngày khoảng 42% dioxin, 30% dibenzofurans và 28% PCBs có trong chế độ ăn uống [165].

#### 4.1.2.2. Đặc điểm của con

Các chỉ số về chiều cao, chỉ số cân nặng, chu vi vòng đầu và chu vi vòng ngực của trẻ ở các khu vực nghiên cứu không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Trong khi mức độ dioxin hấp thụ hàng ngày qua sữa mẹ của trẻ ở Phù Cát cao hơn gấp 3 lần so với trẻ ở khu vực Kim Bảng. Cụ thể là đối với những trẻ ở nhóm dưới 3 tháng tuổi ước tính mức độ tiêu thụ dioxin hàng ngày của trẻ ở Phù Cát là  $27,6 \pm 13,4$  TEQ pg/dl/ngày và của trẻ ở Kim Bảng là  $9,4 \pm 4,6$  TEQ pg/dl/ngày; những trẻ ở nhóm từ 3 đến 4 tháng tuổi ước tính mức độ tiêu thụ dioxin hàng ngày của trẻ ở Phù Cát là  $25,1 \pm 14,6$  TEQ pg/dl/ngày và của trẻ ở Kim Bảng là  $7,5 \pm 3,1$  TEQ pg/dl/ngày (bảng 3.2). Những kết quả này của chúng tôi cũng phù hợp với tác giả Huệ N.T và cộng sự khi nghiên cứu về những ảnh hưởng của dioxin đối với trẻ em ở khu vực Đà Nẵng [170]. Theo các tác giả Lorber và cộng sự thì những tác động bất lợi của dioxin lên cân nặng của trẻ sau khi sinh đôi khi không được thể hiện rõ ràng nhưng nó có thể làm thay đổi lập trình của dioxin qua trung gian đối với các cơ quan phát triển và dẫn đến khởi phát nhiều tình trạng bệnh lý sau này [171].

Căn cứ vào kết quả ở bảng 3.3 cho thấy cân nặng trung bình lúc sinh của trẻ ở Phù Cát là  $3131 \pm 502$ g, trong khi cân nặng của trẻ ở Kim Bảng là cao hơn với  $3257 \pm 406$ g. Điều đó càng thể hiện rõ thông qua tỷ lệ trẻ sơ sinh có cân nặng thấp dưới 2500g ở Phù Cát là 11,8% cao hơn gấp 3 lần so với trẻ ở Kim Bảng (3,4%). Ngược lại, tỷ lệ trẻ sơ sinh có cân nặng trên 2800g ở Phù Cát là 78,4% thấp hơn tỷ lệ này ở Kim Bảng với 89,9%.

Nhìn chung, kết quả này của chúng tôi cũng phù hợp với nhiều nghiên cứu khác về ảnh hưởng của dioxin và một số yếu tố nguy cơ đến sự phát triển của bào thai và trẻ sơ sinh có cân nặng thấp như Taylor và cộng sự [172].

Ngoài ra tác giả này cũng chỉ ra rằng có tình trạng tăng tỷ lệ trẻ sơ sinh cân nặng thấp tại thời điểm sinh ở phụ nữ có tiếp xúc với dioxin hoặc PCBs, bên cạnh đó còn có xu hướng rút ngắn thời gian mang thai ở những người mẹ này so với những người không tiếp xúc với dioxin [173].

#### **4.2. Nồng độ dioxin trong sữa mẹ**

Dioxin là sản phẩm phụ không mong muốn của một số ngành công nghiệp và đốt cháy các sản phẩm hữu cơ, đặc biệt là ngành công nghiệp hóa chất. Là nhóm các hợp chất hóa học độc hại tồn tại bền vững trong môi trường cũng như trong cơ thể con người, nó tồn lưu kéo dài nhiều thập kỷ do không tan trong nước và không thoái hóa dễ dàng. Khi xâm nhập vào cơ thể con người, với đặc tính ưa lipid của dioxin nên nó chủ yếu tích lũy ở các mô mỡ trong cơ thể và đào thải rất chậm.

Trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, sau hơn 40 năm kể từ khi cuộc chiến tranh hóa học ở Việt Nam kết thúc thì mức độ dioxin ở người mẹ sống ở khu vực xung quanh sân bay Phù Cát vẫn còn cao hơn so với khu vực đối chứng Kim Bảng nhiều lần. Cụ thể là, nồng độ trung bình của hầu hết các đồng phân dioxin trong sữa của những người mẹ ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng. Nồng độ trung bình của tổng đương lượng dioxin TEQ PCDDs+PCDFs trong sữa người mẹ ở Phù Cát là 11,558 pg/g lipid cao gấp 3,5 lần những người mẹ ở Kim Bảng với 3,505 pg/g lipid.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với một số nghiên cứu khác. Mặc dù nghiên cứu của chúng tôi tiến hành sau thời gian dài hơn nhưng mức độ dioxin trong sữa mẹ ở khu vực phơi nhiễm dioxin vẫn cao hơn khu vực đối chứng 3,5 lần. Theo một nghiên cứu tương tự ở Seveso sau 30 năm kể từ khi vụ tai nạn nhà máy hóa chất xảy ra làm phát tán một lượng dioxin vào khu vực dân cư xung quanh. Nghiên cứu này chỉ ra nồng độ dioxin trong

huyết thanh của những phụ nữ trong khu vực bị phơi nhiễm dioxin cao gấp 5 lần so với một khu vực đối chứng [174].

Những nghiên cứu về mức độ dioxin tại khu vực điểm nóng Đà Nẵng cũng cho thấy gánh nặng dioxin vẫn tiếp tục tồn tại trong cơ thể những người dân sống ở khu vực này sau một thời gian dài tiếp xúc với môi trường ô nhiễm. Đó là các nghiên cứu của Nguyễn Thị Huệ hay Phạm Thế Tài và cộng sự, những nghiên cứu này cũng cho thấy mức độ dioxin ở khu vực phơi nhiễm vẫn cao hơn khu vực đối chứng nhiều lần [170],[152]. Bên cạnh đó, tại khu vực điểm nóng Biên Hòa thì nghiên cứu của Schechter và cộng sự cũng cho thấy mức độ dioxin ở khu vực này cũng khá cao, tuy nhiên một số thành phần PCDD và PCDF là thấp hơn so với các điểm nóng dioxin khác [175]. Đó là do mức độ các nguồn chất hóa học và thuốc diệt cỏ khác nhau mà tạp nhiễm dioxin như chất màu da cam, chất màu trắng, chất màu tím hay chất màu xanh đã được sử dụng phổ biến tại các khu vực này trong thời kỳ chiến tranh [3].

Ngoài những nghiên cứu cho thấy mức độ dioxin ở những điểm nóng dioxin khác như khu vực sân bay Biên Hòa, sân bay Đà Nẵng đều cao hơn các khu vực không phơi nhiễm, thì một nghiên cứu gần đây cho thấy mức độ dioxin trong huyết thanh của những đàn ông ở khu vực điểm nóng dioxin Phù Cát càng tăng cao khi sống càng gần khu vực sân bay Phù Cát [176].

Nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra rằng nồng độ dioxin trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng là cao hơn những người mẹ sinh con thứ hai hoặc thứ ba (biểu đồ 3.2). Điều đó là do đặc tính ưa lipid của dioxin nên ở các bà mẹ cho con bú thì nồng độ dioxin và các đồng phân của nó chủ yếu tập trung vào sữa mẹ. Như vậy, sữa mẹ có thể coi là một con đường thải trừ dioxin chủ yếu thông qua việc cho con bú. Nồng độ dioxin trong sữa mẹ phụ thuộc vào mức độ tiếp xúc và loại đồng phân dioxin.

Kết quả này của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu của tác giả Beck hay Furst và cộng sự khi nghiên cứu ở người mẹ cho con bú bao gồm cả người mẹ sinh con đầu lòng hoặc thứ hai, thứ ba. Các tác giả này đã chứng minh rằng mức độ dioxin trong sữa mẹ giảm trung bình là 22% ở những người mẹ sinh con lần thứ 2 và giảm 43% đối với những người mẹ sinh con lần thứ 3 so với nồng độ dioxin trong sữa tại thời điểm sinh con lần đầu. Đồng thời cũng sụt giảm khoảng 72% mức độ dioxin ở những người mẹ sau một năm cho con bú sữa mẹ hoàn toàn [177],[178]. Với những kết quả như vậy thì vấn đề khuyến cáo những người mẹ ở khu vực phơi nhiễm dioxin không nuôi con bằng sữa mẹ cũng được đặt ra, nhằm hạn chế những tác động bất lợi của dioxin đối với sự phát triển của trẻ. Tuy nhiên điều này hoàn toàn phụ thuộc vào điều kiện kinh tế, xã hội và đặc biệt là chế độ dinh dưỡng của trẻ từ khi ăn dặm cũng như môi trường sống sau này.

### **4.3. Mô hình đáp ứng liều giữa dioxin và hormon steroid**

Tuyến vỏ thượng thận là nơi tích lũy một lượng lớn dioxin và polychlorinate biphenyl do đặc tính ưa lipid của dioxin trong cơ thể và gây ảnh hưởng đến quá trình tổng hợp hormon vỏ thượng thận, dẫn đến làm thay đổi nồng độ hormon steroid [179],[180]. Sự thay đổi nồng độ hormon steroid bởi dioxin đã được chứng minh là theo mô hình liều phản ứng, đó là thể hiện sự ức chế hay kích thích giữa dioxin và quá trình tổng hợp hormon steroid phụ thuộc vào mức độ dioxin trong cơ thể.

#### **4.3.1. Đáp ứng liều giữa dioxin với hormon glucocorticoid vỏ thượng thận**

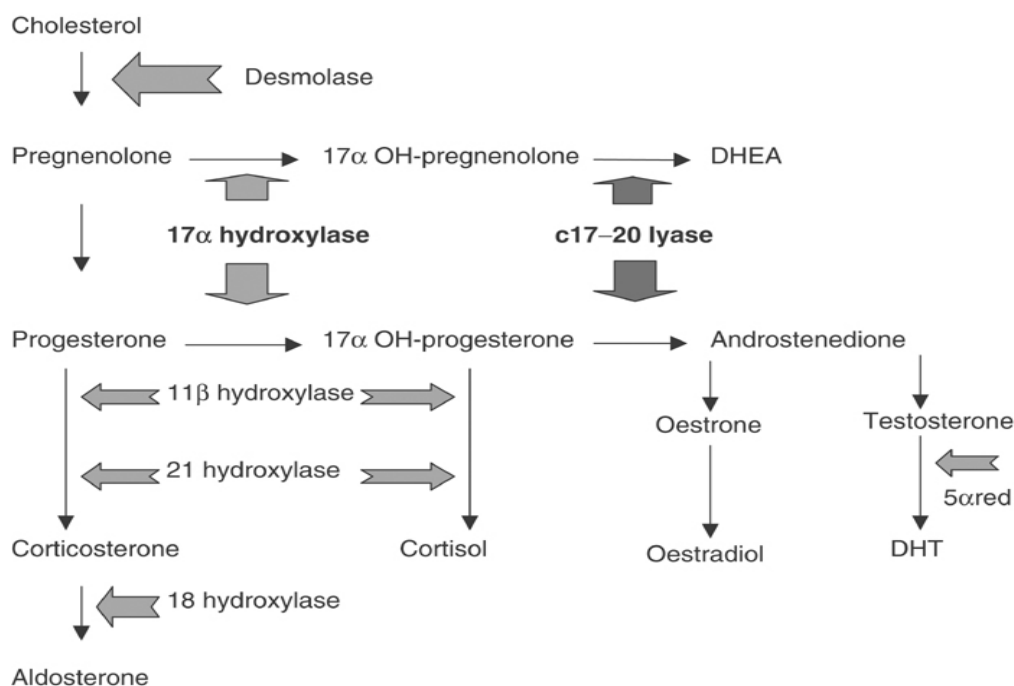
Nghiên cứu thực nghiệm của tác giả Bestervelt và cộng sự đã chỉ ra rằng TCDD ở các nồng độ tương ứng là  $10^{-19}M$ ,  $10^{-17}M$ ,  $10^{-15}M$ ,  $10^{-13}M$ ,  $10^{-11}M$ ,  $10^{-10}M$  và  $10^{-9}M$  có thể làm tăng nồng độ ACTH bằng cách tăng tốc độ sao chép của gen pro-opiomelanocortin ở tuyến yên của chuột. Sự bài tiết tối đa mức độ ACTH xảy ra tại liều TCDD từ  $10^{-13}M$ ,  $10^{-11}M$  và  $10^{-10}M$ , trong

khi đó mức độ ACTH sẽ bị giảm bài tiết khi TCDD ở liều thử nghiệm cao hơn  $10^{-9}$ M [181]. Như vậy là đáp ứng giữa TCDD và hormon ACTH là mô hình đáp ứng liều dạng đường cong hình kiểu chuông hay một hình chữ U ngược, điều đó dẫn đến kích thích hay ức chế bài tiết hormon vỏ thượng thận bởi nồng độ ACTH. Theo một số nghiên cứu khác của các tác giả Weber và DiBartolomeis cho thấy rằng, khi mức độ dioxin trong cơ thể càng cao, lúc này ở liều dioxin cao sẽ tác động đến tuyến thượng thận bằng cách gây ức chế bài tiết ACTH và gây giảm bài tiết hormon vỏ thượng thận; trong khi đó ở mức độ dioxin thấp hơn thì nó lại gây tăng bài tiết ACTH dẫn đến kích thích tuyến vỏ thượng thận tăng tổng hợp hormon steroid vỏ thượng thận [179],[180]. Hơn nữa, mức độ biểu hiện của thụ thể ACTH trên bề mặt tế bào vỏ thượng thận là một yếu tố quyết định cho đáp ứng của ACTH với sự tổng hợp hormon steroid vỏ thượng thận [182]. Mặt khác, nghiên cứu thực nghiệm của tác giả Li và Wang đã chứng minh rằng dioxin giống như polychlorinate biphenyl 126 (PCB126) làm ảnh hưởng đến sự tổng hợp hormon steroid bằng cách tác động vào sự biểu hiện của những thụ thể ACTH ở trên bề mặt tế bào vỏ thượng thận [157]. Nghiên cứu này cũng khẳng định, PCB126 có tác động đến sự tổng hợp của cả ba loại steroid thượng thận bao gồm glucocorticoid, androgen và aldosteron. Tuy nhiên sự tác động này lại phụ thuộc vào liều lượng và thời gian tiếp xúc với dioxin hay PCB126, những tác động này có liên quan chặt chẽ giữa sự điều tiết của dioxin hay PCB126 trên mRNA và hoạt động của các enzym trong từng con đường cụ thể.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, mô hình liều phản ứng giữa mức độ dioxin và hormon glucocorticoid vỏ thượng thận được thể hiện rõ hơn thông qua mối tương quan hình chuông giữa dioxin và hormon cortisol (biểu đồ 3.4A) hay cortison (biểu đồ 3.4B) ở những người mẹ sinh con đầu lòng ở giai đoạn đầu cho con bú. Sự tăng lên của các hormon cortisol và cortison ở những người mẹ ở Phù

Cát là do một lượng dioxin tích lũy trong tuyến vỏ thượng thận đã kích thích lớp bó tăng tổng hợp hormon glucocorticoid, còn ở những người mẹ có mức độ dioxin tích lũy cao quá ngưỡng kích thích thì lại gây ức chế tổng hợp.

Các hormon cortisol và cortison được tổng hợp ở lớp bó của tuyến vỏ thượng thận, mức độ và tỷ lệ của chúng được quy định bởi nồng độ hormon kích vỏ thượng thận ACTH. Quá trình tổng hợp các hormon này bắt nguồn từ cholesterol thông qua trung gian là pregnenolon với sự tham gia của các enzym  $17\alpha$ -hydroxypregnenolon,  $17\alpha$ -hydroxyprogesteron và 11-deoxycortisol [181].



**Hình 4.1. Sơ đồ tổng hợp steroid hormon [183]**

Chúng tôi cũng giả thuyết rằng dioxin có thể trực tiếp ảnh hưởng đến tuyến thượng thận bằng cách tăng cường sự hoạt động của các enzym chuyển từ pregnenolon vào cortisol hoặc cortison. Do đó, dẫn đến mức độ cao hơn của cả hai hormon cortisol và cortison được tổng hợp trong khi mức độ hormon khác không thay đổi. Giả thuyết này cũng được hỗ trợ bởi các kết quả thí nghiệm ở cấp độ phân tử của tác giả Li và Wang [157]. Nghiên cứu này đã chứng minh



rằng dioxin giống như Polychlorinate biphenyl 126 (PCB126) có tác dụng kích thích tổng hợp cortisol bằng cách gây hoạt hóa nhóm enzym  $11\beta$ -hydroxylase, 21-hydroxylase và  $17\alpha$ -hydroxylase hoạt động, mà cụ thể là dựa trên các enzym CYP11B1, CYP21B và CYP17 là những enzym cần thiết cho quá trình tổng hợp hormon cortisol và cortison tương ứng. Ngược lại, mức độ dioxin dường như không ảnh hưởng đến hoạt của enzym CYP17.

#### **4.3.2. Đáp ứng liều giữa dioxin với hormon androgen và estrogen**

Nồng độ các hormon androgen và estrogen dường như cũng mang tính đa dạng và phức tạp theo mô hình đáp ứng liều với dioxin. Thật vậy, một số nghiên cứu khác cũng cho thấy dioxin ảnh hưởng đến bài tiết các androgen vô thượng thận bằng cách tác động vào các thụ thể ACTH [157], hay tác động đến sự tổng hợp hormon estradiol bằng cách giảm tiền thân androstenedion trong tế bào hLGCs và phụ thuộc vào liều tác dụng cũng như thời gian tác động [184]. Tác giả Heimler và cộng sự cũng cho thấy dioxin gây rối loạn bài tiết estradiol do làm cạn kiệt các tiền thân androstenedion trong các tế bào hoàng thể theo mức độ và thời gian ảnh hưởng với dioxin. Thật vậy, theo nghiên cứu thực nghiệm này cho thấy tại thời điểm 36 giờ và 48 giờ đã quan sát thấy mô hình phản ứng liều hình chữ U, trong đó nồng độ hormon estradiol giảm khi nồng độ TCDD ở mức từ 0 đến 3,1 nM và sau đó tăng lên khi nồng độ TCDD ở mức từ 3,1 nM TCDD đến 3,15  $\mu$ M.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng chỉ ra sự thay đổi nồng độ hormon DHEA ở những người mẹ ở giai đoạn đầu cho con bú và ở trẻ em 3 tuổi. Tuy nhiên, sự thay đổi này cũng hoàn tác khác nhau giữa những người mẹ ở các thời điểm khác nhau, cũng như ở trẻ em. Đây cũng phản ánh đúng sự ảnh hưởng phức tạp của dioxin đối với sự tổng hợp hormon vô thượng thận [157].

Bên cạnh đó, nghiên cứu của chúng tôi không cho thấy sự thay đổi nồng độ một số hormon estrogen ở những người mẹ. Tuy vậy, sự phức tạp này đã được tác giả Moran và cộng sự chứng minh trong một nghiên cứu về quá trình sinh tổng hợp của hormon estrogen bằng cách sử dụng các tế bào granulosa của con người (hLGCs) [185],[186]. Một sự đáp ứng tương tự như liều phản ứng giữa dioxin và estrogen mà đại diện là estradiol đã được quan sát trong nghiên cứu này. Mặc dù các vị trí tổng hợp estrogen chủ yếu là ở buồng trứng bao gồm sự hoạt động của các tế bào hLGCs, các tế bào mô đệm và hoàng thể, nhưng chúng đều có chung một hệ thống enzym cần thiết để tổng hợp. Để đáp ứng với kích thích bởi hormon kích thích nang trứng (FSH) từ tuyến yên và thông qua xúc tác sự hoạt động của enzym P<sub>450</sub>-aromatase. Các tế bào hLGCs buồng trứng chuyển đổi testosterone thành estradiol, đây là những hormon estrogen chủ yếu và có hoạt tính mạnh của estrogen buồng trứng [186]. Nghiên cứu này đã chỉ ra rằng TCDD làm giảm nồng độ hormon estradiol trong tế bào hLGCs bằng cách ức chế sự biểu hiện của enzym cytochrom P<sub>450</sub>C17 mạnh hơn so với ức chế enzym cytochrom P<sub>450</sub>-aromatase, điều đó làm giảm quá trình tổng hợp estradiol.

Trong nghiên cứu của chúng tôi không thể hiện rõ điều này có thể là do sau nhiều năm phơi nhiễm với những tác động của khí hậu nhiệt đới và nước mưa đã rửa trôi làm giảm mức độ dioxin tại khu vực nên mức độ dioxin phơi nhiễm cũng dần dần thấp hơn và thời gian ảnh hưởng kéo dài hơn so với các liều nghiên cứu trên thực nghiệm của một số tác giả khác [184].

#### **4.4. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt**

##### ***4.4.1. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ***

Xét nghiệm hormon trong nước bọt được coi như là phương tiện hữu ích để đánh giá một số chức năng nội tiết của cơ thể. Do có khả năng hòa tan

trong lipid, nên các hormon steroid có thể phát hiện được trong nước bọt. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt tỷ lệ thuận với nồng độ hormon steroid trong huyết thanh và không bị ảnh hưởng bởi giới tính nam hay nữ, đồng thời phản ánh mức độ lưu hành ở dạng tự do của chúng trong cơ thể [187]. Hơn nữa, ưu điểm chính của định lượng nồng độ hormon steroid trong nước bọt là một phương pháp lấy mẫu không xâm lấn, tránh được tình trạng lo lắng cho đối tượng tham gia và có thể thực hiện lấy mẫu lặp lại nhiều lần ở những đối tượng khó khăn trong việc lấy máu, đặc biệt là ở trẻ em.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi chỉ ra rằng, nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của những người mẹ ở khu vực Phù Cát là cao hơn so với những người mẹ ở khu vực Kim Bảng tại thời điểm từ 4 đến 16 tuần hay sau một năm cho con bú (bảng 3.10 và bảng 3.13). Tuy nhiên, ở những người mẹ sinh con đầu lòng tại thời điểm từ 4 đến 16 tuần cho con bú thì nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt lại không có sự khác nhau giữa hai khu vực nghiên cứu (bảng 3.11). Trong khi đó, cũng ở những người mẹ này tại thời điểm sau một năm cho con bú thì nồng độ các hormon cortisol và cortison trong nước bọt của những người mẹ ở Phù Cát lại cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng (bảng 3.14). Một nghiên cứu khác trên một số ít các bà mẹ sinh con đầu lòng ở giai đoạn đầu cho con bú của tác giả Nhu và cộng sự lại cho thấy mức độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt ở những người mẹ phơi nhiễm dioxin là cao hơn so với khu vực không phơi nhiễm [188].

Ở những người mẹ sinh con thứ thì nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt những người mẹ ở Phù Cát là cao hơn so với những người mẹ ở Kim Bảng ở cả hai thời điểm là giai đoạn từ 4 đến 16 tuần đầu cho con bú và sau một năm (bảng 3.12 và bảng 3.15).

Từ những kết quả này cho thấy dioxin có tác động phức tạp đến quá trình tổng hợp hormon cortisol và cortison ở vỏ thượng thận. Điều này thể

hiện thông qua sự thay đổi nồng độ các hormon này dưới dạng tự do trong nước bọt là hoàn toàn phù hợp với những lý giải về mô hình liều phản ứng giữa dioxin và hormon vỏ thượng thận. Cụ thể là, ở những người mẹ sinh con đầu lòng ở giai đoạn giai đoạn đầu cho con bú, khi mức độ dioxin trong cơ thể người mẹ còn khá cao, lúc này ở liều cao dioxin sẽ tác động đến tuyến thượng thận bằng cách gây ức chế bài tiết ACTH, tác động đến sự đáp ứng của thụ thể ACTH ở vỏ thượng thận và gây giảm bài tiết hormon [157]. Trong khi đó, ở những người mẹ sinh con thứ hoặc sau một năm cho con bú với mức độ dioxin thấp hơn thì nó lại gây tăng bài tiết ACTH dẫn đến tăng nồng độ hormon cortisol và cortison [179],[180].

Bên cạnh đó, nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát cao hơn so với người mẹ ở Kim Bảng. Cụ thể là, mức độ DHEA trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát trong giai đoạn đầu cho con bú (bảng 3.10), đặc biệt là ở những người mẹ sinh con đầu lòng (bảng 3.11) cao hơn so với người mẹ ở Kim Bảng. Điều đó chứng tỏ ở mức độ cao dioxin sẽ kích thích lớp lưới của vỏ thượng thận tăng bài tiết hormon DHEA. Do tuyến thượng thận là nơi tích lũy một lượng lớn dioxin và PCBs do đặc tính ưa lipid của dioxin trong cơ thể nên mức độ và tỷ lệ của hormon DHEA tổng hợp trong tuyến thượng thận được quy định bởi nồng độ hormon kích vỏ thượng thận ACTH do tác động của dioxin [189].

Ở những người mẹ sinh con thứ tại thời điểm 4 đến 16 tuần (bảng 3.12), cũng như ở những người mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú (bảng 3.13, bảng 3.14 và bảng 3.15), thì mức độ dioxin trong cơ thể mẹ giảm đáng kể thông qua việc cho con bú nên mức độ hormon DHEA thay đổi ít hơn giữa những người mẹ ở hai khu vực. Do đó ở những người mẹ này và tại những thời điểm đó thì mức độ hormon DHEA trong nước bọt của mẹ là không có sự khác nhau giữa hai khu vực Phù Cát và Kim Bảng ( $p > 0,05$ ).

Trong khi đó, không có sự khác nhau giữa nồng độ hormon androstenedion hay estradiol và estron trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát so với những người mẹ ở Kim Bảng. Nhóm các hormon này ở người trưởng thành chủ yếu được tổng hợp ở buồng trứng đối với nữ giới và ở tinh hoàn đối với nam giới, còn lại một phần được tổng hợp ở vỏ thượng thận. Một nghiên cứu gần đây về ảnh hưởng của dioxin đối với nồng độ hormon androgen và estrogen trong nước bọt cũng cho một kết quả tương tự [159].

Một vài nghiên cứu trên thực nghiệm cũng chỉ ra nồng độ các hormon androgen và estrogen cũng bị thay đổi và phụ thuộc vào liều tác dụng cũng như thời gian tác động của dioxin. Nghiên cứu Heimler và cộng sự cho thấy TCDD gây rối loạn bài tiết estradiol theo mô hình phản ứng liều hình chữ U, nồng độ hormon estradiol giảm khi mức độ TCDD từ 0 đến 3,1 nM và sau đó tăng lên khi TCDD ở mức từ 3,1 nM TCDD đến 3,15  $\mu$ M [184]. Nghiên cứu của Moran và cộng sự còn chỉ ra rằng TCDD ức chế sự biểu hiện của enzym cytochrom P<sub>450</sub>C17 mạnh hơn so với ức chế enzym cytochrom P<sub>450</sub>-aromatase, điều đó làm giảm tổng hợp estradiol [186].

Từ những kết quả trên đây cho thấy sự thay đổi nồng độ các hormon steroid chính là sự phản ánh những tác động phức tạp của dioxin đối với những cơ quan tổng hợp, đối với hệ thống enzym tổng hợp hormon steroid. Các kết quả khác nhau này đã làm nổi bật sự phức tạp bởi các hiệu ứng của dioxin đối với hệ thống nội tiết, đặc biệt là khi hiệu ứng tác động này lại phụ thuộc vào mức độ dioxin và thời gian tác động.

#### ***4.4.2. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của con***

Như chúng ta đã biết nồng độ các hormon cortisol và cortison trong nước bọt là phản ánh lượng hormon tự do lưu hành trong cơ thể. Nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát là cao

hơn những người mẹ ở Kim Bảng. Căn cứ vào mô hình liều phản ứng giữa dioxin với hormon vỏ thượng thận ở người mẹ sinh con đầu lòng giai đầu cho con bú và mức độ hấp thụ dioxin hàng ngày của trẻ có thể giả thiết rằng mức độ dioxin trong cơ thể trẻ ở Phù Cát là một liều khá lớn so với kích thước và khối lượng tuyến vỏ thượng thận. Lúc này, tại thời điểm trẻ 3 tuổi thì gánh nặng dioxin trong cơ thể trẻ ở Phù Cát lớn hơn nhiều lần so với trẻ ở Kim Bảng do việc tiếp nhận một lượng dioxin trong sữa mẹ cao gấp 3 lần ước tính tại thời điểm 3 đến 4 tháng đầu, ngoài ra trẻ còn liên tục tiếp nhận một lượng dioxin có trong môi trường sống và chế độ ăn hàng ngày. Như vậy với mức độ cao của nồng độ dioxin trong cơ thể trẻ sẽ tác động đối với tuyến vỏ thượng thận bài tiết hormon cortisol và cortison như một đáp ứng liều hình chữ U ngược. Do vậy đã không thể hiện rõ sự khác nhau về nồng độ trung bình của hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ ở Phù Cát so với ở Kim Bảng (bảng 3.16). Ngay cả những trẻ là con đầu lòng hay con thứ, trẻ trai và trẻ gái đều không có sự khác nhau về mức độ các hormon này giữa khu vực Phù Cát và Kim Bảng (bảng 3.17 và bảng 3.18).

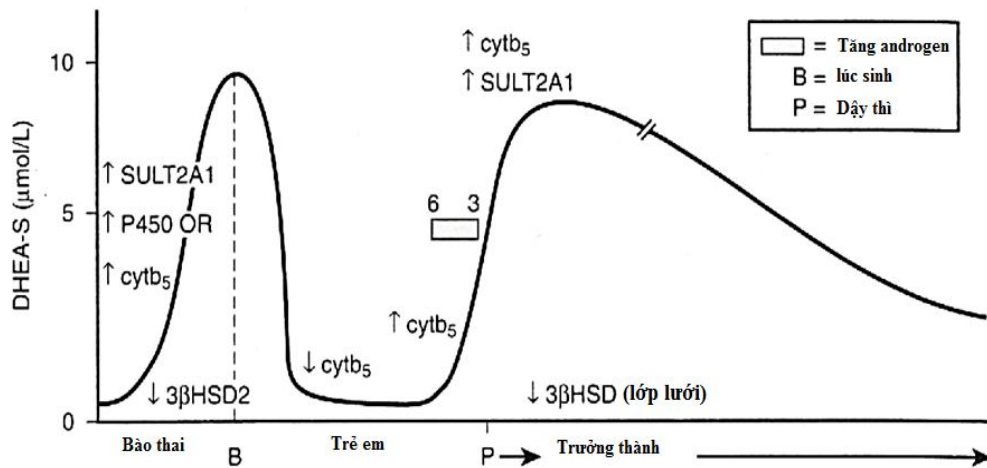
Giả thiết về mô hình đáp ứng liều giữa dioxin với hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ còn được thể hiện ở biểu đồ 3.6A và 3.6B. Các kết quả thể hiện trên biểu đồ cho thấy nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt ở trẻ tăng lên khi mức độ TEQ PCDDs+PCDFs trong sữa mẹ ở mức dưới 15 pg/g lipid, khi mức độ TEQ PCDDs+PCDFs tăng lên trên 15 pg/g lipid trên thì nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ giảm dần.

Ngược lại với nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ thì nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của trẻ là con đầu lòng hay con thứ, trẻ trai hay trẻ gái ở khu vực Phù Cát lại thấp hơn khu vực Kim Bảng. Hơn nữa, có tồn tại mối tương quan tuyến tính nghịch với  $r^2 = 0,129$  và

$p < 0,001$  giữa nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của con với mức độ dioxin (PCDDs+PCDFs) trong sữa mẹ (biểu đồ 3.6C). Điều này thể hiện sự ức chế của dioxin đối với sự bài tiết hormon DHEA của vỏ thượng thận, đó là do mức độ dioxin tích lũy và tác động đến lớp lưới của vỏ thượng thận rất lớn và vượt qua giới hạn kích thích.

Những lý giải trên càng được củng cố bởi những cơ sở lý luận như: hormon ACTH và các yếu tố tuyến yên khác điều khiển tuyến vỏ thượng thận bài tiết DHEA; tuyến vỏ thượng thận tổng hợp khoảng 75-90% DHEA trong cơ thể từ cholesterol, phần còn lại được sản xuất bởi tinh hoàn và buồng trứng [190],[191].

Bên cạnh đó, ở dạng sunfat hóa của DHEA (DHEA-S) là sterol lưu hành phổ biến nhất ở người. Trong quá trình phát triển bào thai, nồng độ DHEA-S ở mức 100-200 mg/dL (3-7 mM), nhưng giảm xuống nhanh chóng sau khi sinh và vẫn ở mức thấp cho đến giai đoạn trước khi dậy thì và trưởng thành, đó là do lúc này tuyến sinh dục như tinh hoàn ở trẻ trai và buồng trứng ở trẻ gái chưa phát triển nên nguồn DHEA chủ yếu được tổng hợp ở vỏ thượng thận. Sau đó tăng lên ở giai đoạn dậy thì và trưởng thành sinh dục, đạt đỉnh điểm vào khoảng 300 mg/dL (10 mM) trong độ tuổi 20 đến 30, tiếp theo là một sự suy giảm mức độ hormon này phụ thuộc vào sự lão hóa của các tuyến sinh dục. Ngoài ra, có sự khác biệt rõ ràng về mức độ DHEA-S lưu hành theo giới tính, với mức độ DHEA-S lưu hành cao hơn ở nam giới so với nữ giới, như mô tả của Rainey với mức đỉnh của DHEA lưu hành khoảng 25-30 tuổi khoảng 10 mM cho nam giới và 5 mM cho nữ giới (hình 4.2) [192].



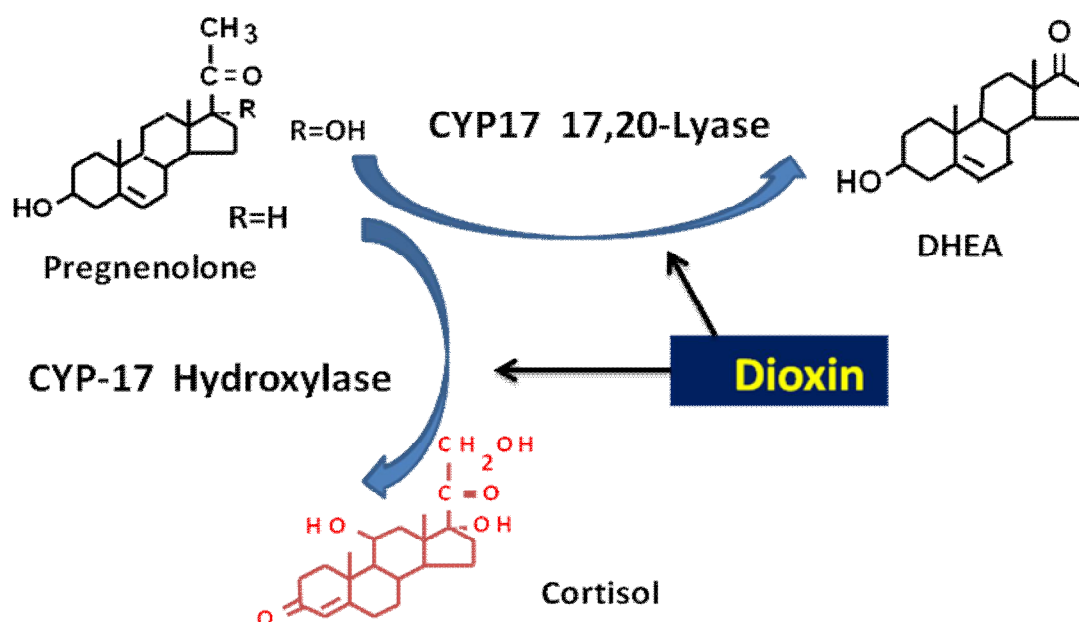
**Hình 4.2. Mức độ lưu hành DHEA trong cơ thể [192]**

Mặc dù có sự khác nhau về chức năng, nhưng tất cả hormon steroid đều được tổng hợp từ cholesterol thông qua một chuỗi các phản ứng và được xúc tác bởi cùng một nhóm enzym tổng hợp. Tuy nhiên, ngoại trừ quá trình hình thành androgen như DHEA và A-dion đòi hỏi phải cần cả hai hoạt động  $17\alpha$ -hydroxylase và  $17,20$ -lyase của CYP17, trong khi tổng hợp cortisol chỉ liên quan đến các hoạt động  $17\alpha$ -hydroxylase [193]. Hơn thế nữa, DHEA sau khi tổng hợp sẽ được chuyển thành androstenedion bởi enzym HSD3B. Sự hình thành androgen trong tuyến thượng thận được giới hạn bởi DHEA và androstenedion, trong khi đó ở tinh hoàn có sự hiện diện của HSD17B (Hydroxysteroid (17-beta) dehydrogenase) trong các tế bào Leydig để đảm bảo sự hình thành của testosterone.

Những kết quả này đưa đến bằng chứng gián tiếp rằng ở liều cao dioxin sẽ gây ức chế hoạt động của enzym CYP17 lyase trên cả 2 chức năng hydroxyl hóa ( $17$  lyase) và phân cắt ( $20$  lyase), ở liều thấp hơn lại gây kích thích sự hoạt động của những enzym này trong quá trình tổng hợp androgen vô thượng thận (hình 4.1). Do những đặc điểm như vậy dẫn đến làm giảm



nồng độ hormon DHEA ở trẻ em, trong khi đó ở những người mẹ tại thời điểm 4 đến 16 sau tuần đầu sau khi sinh thì nồng độ hormon này của những người mẹ ở Phù Cát lại cao hơn ở Kim Bảng. Hơn nữa, hormon DHEA ở trẻ chỉ được tổng hợp tại lớp lưới của vỏ thượng thận trong khi ở những người mẹ thì hormon này còn được tổng hợp ở buồng trứng. Điều này càng khẳng định sự ức chế của dioxin đối với sự tổng hợp hormon DHEA vỏ thượng thận ở trẻ.



**Hình 4.3. Ảnh hưởng của dioxin đối với enzym CYP17**

Ngoài ra, chúng tôi chưa tìm thấy bất kỳ một nghiên cứu nào về nồng độ hormon steroid trong nước bọt của trẻ đối với sự phơi nhiễm dioxin. Nghiên cứu của chúng tôi có thể là nền tảng cơ sở cho các nghiên cứu chi tiết hơn về sự tác động này của dioxin đối với hormon vỏ thượng thận của trẻ.

#### **4.4. Nồng độ hormon steroid trong sữa và huyết thanh của mẹ**

##### ***4.4.1. Nồng độ hormon steroid trong sữa mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi***

Nồng độ hormon steroid trong sữa của những người mẹ đã được xác định tại thời điểm từ 4 đến 16 tuần cho con bú. Tại thời điểm này, nồng độ trung bình của hormon cortisol trong sữa những người mẹ ở Phù Cát cao hơn ở Kim Bảng, những người mẹ này bao gồm cả những người sinh con đầu lòng và sinh con thứ (bảng 3.19) hoặc nhóm chỉ gồm những người mẹ sinh con thứ (bảng 3.21). Trong khi đó, lại không có sự khác biệt giữa nồng độ hormon cortisol trong sữa ở nhóm những người mẹ sinh con đầu lòng (bảng 3.20) giữa 2 khu vực, mặc dù mức độ trung bình của dioxin trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn người mẹ sinh con thứ (biểu đồ 3.2).

Bên cạnh đó, nồng độ hormon cortison trong sữa những người mẹ ở Phù Cát và những người mẹ ở Kim Bảng là không có sự khác biệt, trong khi nồng độ hormon cortison trong nước bọt của những người mẹ ở Phù Cát là cao hơn so với khu vực Kim Bảng.

Không có sự khác biệt về nồng độ các hormon androstenedion và estradiol trong sữa những người mẹ ở Phù Cát so với những người mẹ ở Kim Bảng. Những kết quả này cũng phù hợp với sự biểu hiện của nồng độ hormon androstenedion và estradiol trong nước bọt.

Thông qua việc đánh giá song song nồng độ hormon steroid trong sữa và trong nước bọt, cũng như nồng độ dioxin trên cùng một đối tượng và tại cùng một thời điểm. Kết quả về nồng độ hormon steroid trong nước bọt cho những lý giải hoàn toàn phù hợp với sự tác động theo mô hình phản ứng liều của dioxin đối với hormon steroid đã được chứng minh bằng các nghiên cứu trước đó [181],[157]. Trong khi đó, nồng độ hormon steroid trong sữa như hormon cortisol, cortison, androstenedion và estradiol lại không đưa ra được những lý

giải chặt chẽ và phù hợp về sự đáp ứng liều của dioxin và hormon steroid. Hơn nữa, việc lấy mẫu sữa để xác định nồng độ hormon là khó khăn hơn so với lấy mẫu nước bọt và chỉ lấy mẫu sữa được trong thời điểm đặc biệt cụ thể.

Qua đây, cho ta thấy việc sử dụng nước bọt để định lượng hormon steroid có những ưu điểm vượt trội so với sử dụng mẫu sữa.

#### ***4.4.2. Nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú***

Do đặc tính ưa lipid của dioxin, nên một lượng lớn dioxin sẽ tập trung trong sữa và được đào thải ra khỏi cơ thể mẹ khi cho con bú. Tại thời điểm sau một năm cho con bú, lúc này một lượng đáng kể dioxin đã được đào thải khỏi cơ thể người mẹ, dẫn đến giảm bớt gánh nặng của dioxin đối với tuyến vỏ thượng thận và khi đó ở mức độ dioxin thấp hơn sẽ kích thích tuyến vỏ thượng thận tăng bài tiết hormon cortisol và cortison.

Tại thời điểm sau một năm cho con bú nồng độ hormon cortisol và cortison trong huyết thanh những người mẹ ở Phù Cát cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng đối với nhóm gồm tổng số những người mẹ tham gia nghiên cứu (bảng 3.22) và nhóm chỉ gồm những người mẹ sinh con đầu lòng (bảng 3.23). Trong khi đó ở nhóm những người mẹ sinh con thứ (bảng 3.24) lại không có sự khác biệt giữa nồng độ hormon cortison trong huyết thanh của người mẹ giữa 2 khu vực.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng được đối chiếu và cũng phù hợp với một số nghiên cứu khác, như nghiên cứu thực nghiệm của tác giả DiBartolomeis và cộng sự cho thấy nồng độ corticosteron huyết thanh ở chuột giảm thấp hoặc tăng cao khi tiếp xúc với dioxin ở các liều khác nhau [75], một nghiên cứu gần đây nhất của tác giả Sun X.L và cộng sự cũng cho thấy mức độ hormon steroid trong huyết thanh của những người đàn ông ở khu vực điểm nóng dioxin Phù Cát là cao hơn khu vực không phơi nhiễm [194].

Cũng giống như nồng độ các hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong nước bọt sau một năm cho con bú, các hormon này trong huyết thanh của những người mẹ ở Phù Cát không có sự khác biệt so với những người mẹ ở kim Bảng. Qua đây cũng cho thấy nồng độ hormon steroid trong nước bọt phản ánh chính xác và phù hợp giống như nồng độ hormon trong huyết thanh về sự đáp ứng liều của hormon steroid của cơ thể người mẹ đối với sự tác động của dioxin.

#### **4.5. Tỷ lệ nồng độ hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh của người mẹ sau một năm cho con bú**

Hormon steroid quy định hàng loạt các hoạt tính sinh học của cơ thể, do vậy khi thay đổi mức độ hormon này sẽ gây ra những thay đổi về sinh lý chức năng trong cơ thể. Các hormon steroid trong máu được tồn tại dưới các dạng khác nhau do chúng ở dạng tự do hay kết hợp với protein và được phân loại thành 3 dạng khác nhau. Cụ thể, nhóm thứ nhất là dạng tự do chiếm tỷ lệ từ 1-3% và nó đại diện cho hình thức không liên kết với protein; nhóm thứ 2 chiếm tỷ lệ từ 30-40% là nhóm có hoạt tính sinh học và nó đại diện cho lượng hormon liên kết ái lực thấp với protein cụ thể là albumin; nhóm thứ 3 chiếm tỷ lệ khoảng 50%, đây là dạng không hoạt động và nó đại diện cho nhóm liên kết ái lực cao với các protein như Corticosteroid Binding Globulin (CBG) và hormon giới tính liên kết globulin (SHBG).

Trong khi đó, sự hiện diện của các hormon steroid trong nước bọt chỉ là tồn tại ở các dạng tự do. Hơn thế nữa, nồng độ hormon steroid trong nước bọt đã được tác giả Becker và cộng sự chứng minh là có mối tương quan chặt chẽ với nồng độ hormon steroid huyết thanh. Tỷ lệ nồng độ hormon cortisol và cortison toàn phần trong huyết thanh có tỷ lệ xấp xỉ là 3:1, trong khi tỷ lệ này ở nước bọt là khoảng 1:6 [195].

Sự khác biệt đáng kể trong tỷ lệ hormon cortisol và cortison giữa huyết thanh và nước bọt là do hai nguyên nhân chính. Thứ nhất là do màng tuyến nước bọt có chứa các enzym  $11\beta$ -HSD 2, enzym này không thể chuyển đổi ngược lại từ cortisol thành cortison khi mà hormon cortisol đã đi qua màng tuyến nước bọt. Thứ hai, trong cơ thể người có tới hơn 90% lượng hormon steroid lưu hành trong huyết thanh là dạng liên kết với protein bao gồm liên kết ràng buộc với globulin và albumin. Khi hormon cortison liên kết ràng buộc với globulin trong huyết thanh sẽ tạo thành phức hợp có mức độ ái lực thấp hơn khoảng 10 lần so với cortisol. Do đó, tỷ lệ cortison tự do trong huyết thanh cao hơn nhiều lần so với cortisol nên sẽ di chuyển qua màng tuyến nước bọt nhiều hơn và dễ dàng hơn. Những đặc tính này đã giải thích cho sự chênh lệch tỷ lệ các nồng độ hormon steroid trong huyết thanh và nước bọt [8],[195].

Trong nghiên cứu chúng tôi cũng xác định tỷ lệ hormon steroid tự do trong nước bọt và nồng độ hormon trong huyết thanh. Tỷ lệ của mỗi loại hormon steroid trong nước bọt và trong huyết thanh được thể hiện trong bảng 3.25. Đối với những người mẹ ở khu vực điểm nóng dioxin Phù Cát đều có tỷ lệ hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh cao hơn so với những người mẹ ở khu vực đối chứng Kim Bảng. Những tỷ lệ này cao hơn có thể liên quan đến bất kỳ một trong những tác động phức tạp của phơi nhiễm dioxin về sự gián đoạn nội tiết. Nói cách khác, dioxin có thể có ảnh hưởng đến liên kết của protein với các steroid, có thể ảnh hưởng đến các protein liên kết ái lực cao như corticoid binding globulin (CBG) và hormon giới tính ràng buộc globulin (SHBG) và cũng có thể ảnh hưởng đến sự cân bằng tự nhiên của sự lưu thông hormon.

#### **4.6. Mối liên quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid**

Mối liên quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ hormon steroid trong sữa, trong nước bọt và huyết thanh của mẹ cũng như trong nước bọt của con phản ánh sự tác động phức tạp của mô hình đáp ứng liều giữa dioxin đối với hormon steroid.

Đặc biệt là sự tác động của dioxin đối với hormon cortisol và cortison của người mẹ ở các thời điểm giai đoạn đầu cho con bú hay sau một năm cho con bú (biểu đồ 3.3). Nhìn chung mức độ hormon cortisol và cortison của người mẹ ở Phù Cát đều cao so với những người mẹ ở Kim Bảng.

Ở những người mẹ sinh con đầu lòng trong giai đoạn đầu cho con bú, có mối tương quan hình chuông giữa mức độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt (biểu đồ 3.4A và 3.4B). Ở phía bên trái của đường cong thể hiện sự tăng dần của nồng độ hormon cortisol và cortison theo mức độ tăng dần của hàm lượng dioxin. Ngược lại ở phía bên phải của đường cong thể hiện sự giảm dần của nồng độ hormon cortisol và cortison khi mức độ dioxin tiếp tục tăng cao.

Tại thời điểm sau một năm cho con bú, đã cho thấy có mối tương quan tuyến tính thuận giữa mức độ dioxin trong sữa với hormon cortisol với  $r^2 = 0,114$ ,  $p < 0,001$  (biểu đồ 3.5A) và hormon cortison trong nước bọt  $r^2 = 0,109$ ,  $p < 0,001$  (biểu đồ 3.5B). Lúc này sự tương quan là dạng đường thẳng tuyến tính mang ý nghĩa thống kê với  $r > 0,36$ ;  $p < 0,001$  ở tất cả những người mẹ bao gồm cả những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ.

Sự tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của mẹ đã phản ánh một mô hình liều phản ứng giữa dioxin và hormon vỏ thượng thận. Liều phản ứng thể hiện sự kích thích giữa mức độ dioxin và hormon glucocorticoid, cụ thể là ở mức TEQ PCDDs+PCDFs dưới 15 pg/g lipid thì nồng độ cortisol và cortison tăng dần,

trong khi ở mức TEQ PCDDs+PCDFs tăng trên 15 pg/g lipid thì nồng độ cortisol và cortison giảm dần do sự ức chế của dioxin đối với sự bài tiết ACTH. Sự đáp ứng này tạo nên một mối tương quan hình chuông giữa dioxin và hormon cortisol (biểu đồ 3.4A) hay giữa dioxin và hormon cortison (biểu đồ 3.4B) ở những người mẹ sinh con đầu lòng tại thời điểm từ 4 đến 16 tuần cho con bú. Theo tác giả Beck và cộng sự thì sau một năm cho con bú thì mức độ dioxin trong cơ thể mẹ giảm khoảng 72% so với giai đoạn đầu cho con bú [178]. Lúc này gánh nặng dioxin đối với người mẹ giảm xuống, điều này đồng nghĩa với việc dioxin chuyển từ trạng thái ức chế tuyến thượng thận sang trạng thái kích thích, điều đó thể hiện thông qua sự tương quan giữa mức độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt (biểu đồ 3.5A và 3.5B) hay với nồng độ cortisol và cortison trong huyết thanh (biểu đồ 3.8A và 3.8B) [180].

Sự đáp ứng này là hoàn toàn phù hợp với mô hình đáp ứng liều của dioxin đối với hormon steroid vỏ thượng thận mà các tác giả Weber và DiBartolomeis đã chứng minh. Cụ thể, khi mức độ dioxin trong cơ thể người mẹ còn khá cao, lúc này ở liều cao dioxin sẽ tác động đến tuyến thượng thận gây ức chế bài tiết ACTH và làm giảm sự nhạy cảm của các thụ thể ACTH trên bề mặt tế bào vỏ thượng thận làm gây giảm bài tiết hormon, ở mức độ dioxin thấp hơn thì nó lại gây tăng bài tiết ACTH dẫn đến tăng nồng độ hormon cortisol và cortison [179],[180], [182].

Đối với trẻ em 3 tuổi là con của những người mẹ này cũng thể hiện mô hình đáp ứng liều giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ hormon cortisol (biểu đồ 3.6A) và hormon cortison (biểu đồ 3.6B) trong nước bọt của trẻ. Đó là tồn tại một đường cong phi tuyến liên quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ hormon cortisol trong nước bọt của trẻ 3 tuổi được thể hiện ở biểu đồ 3.6A với  $r^2 = 0,028$  hoặc sự liên quan phi tuyến giữa nồng độ dioxin trong

sữa mẹ với nồng độ hormon cortison trong nước bọt của trẻ 3 tuổi được thể hiện ở biểu đồ 3.6B với  $r^2 = 0,035$ . Sự tương quan này cũng phản ánh một mô hình liều phản ứng giữa dioxin và hormon tương ứng với sự đáp ứng ở những người mẹ sinh con đầu lòng giai đoạn đầu cho con bú.

Biểu đồ 3.7A thể hiện sự tương quan phi tuyến giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol trong sữa mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi với  $r^2 = 0,114$ . Cũng tương tự như sự tương quan giữa mức độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt ở những người mẹ này. Cụ thể là ở phía bên trái của biểu đồ thì nồng độ hormon cortisol trong sữa tăng theo sự tăng dần của mức độ TEQ PCDDS+PCDFs. Trong khi đó ở phía phải của biểu đồ thì ngược lại, nồng độ hormon cortisol giảm dần khi mức độ mức độ TEQ PCDDS+PCDFs tiếp tục tăng cao.

Đối với hormon cortison trong sữa thì không có mối liên quan đối với mức độ dioxin trong sữa của những người mẹ sinh con đầu lòng.

Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của con có mối tương quan tuyến tính nghịch với mức độ dioxin (PCDDs+PCDFs) trong sữa mẹ  $r^2 = 0,129$  (biểu đồ 3.6C). Ở người trưởng thành tuyến vỏ thượng thận tổng hợp khoảng 75-90% DHEA, ở trẻ 3 tuổi thì hormon DHEA chủ yếu do lớp lưới của vỏ thượng thận bài tiết do các cơ quan sinh dục là buồng trứng hoặc tinh hoàn chưa phát triển. Nồng độ hormon DHEA ở trẻ phản ánh mức độ ảnh hưởng của dioxin nên sự tổng hợp DHEA của vỏ thượng thận do dioxin động trực tiếp đến tuyến thượng thận làm giảm mức độ đáp ứng của các thụ thể ACTH trên bề mặt tế bào vỏ thượng thận của trẻ, đồng thời tác động gây ức chế bài tiết ACTH và gây giảm bài tiết DHEA [157], [180],[181], [182]. Điều này thể hiện gián tiếp qua mối tương quan giữa DHEA trong nước bọt của trẻ với mức độ dioxin trong sữa của mẹ.



Tương tự như mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol và cortison trong nước bọt của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú, cũng tồn tại một mối tương quan tuyến tính thuận giữa mức độ dioxin trong sữa với hormon cortisol (biểu đồ 3.8A) và hormon cortison trong huyết thanh (biểu đồ 3.8B). Tuy nhiên sự tương quan của dioxin trong sữa với hormon trong huyết thanh là yếu hơn so với sự tương quan với hormon trong nước bọt.

Sự tăng dần của nồng độ hormon cortisol và cortison trong huyết thanh theo sự tăng dần của nồng độ dioxin trong sữa theo phương trình đường thẳng dạng  $y = Ax + B$  thể hiện sự đáp ứng kích thích của dioxin với hormon glucocorticoid vô thượng thận. Kết quả này cũng phù hợp với việc giải thích của tác giả Weber và DiBartolomeis về mô hình đáp ứng liều của dioxin đối với hormon vô thượng thận khi mức độ dioxin trong cơ thể người mẹ ở mức kích thích tuyến thượng thận gây tăng bài tiết ACTH dẫn đến tăng nồng độ hormon cortisol và cortison.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã không tìm thấy mối liên quan nào giữa mức độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ các hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong nước bọt của mẹ ở thời các thời điểm nghiên cứu, cũng như trong huyết thanh và sữa tại các thời điểm nghiên cứu.

#### **4.7. Mối liên quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với chỉ số cơ thể trẻ**

Hiện nay, sau nhiều năm từ khi kết thúc cuộc chiến tranh hóa học tại Việt Nam, trẻ em ở khu vực điểm nóng dioxin hàng ngày vẫn còn tiếp xúc với một lượng lớn dioxin chủ yếu thông qua con đường ăn uống như bú sữa mẹ có nồng độ dioxin cao. Trong nghiên cứu này cho thấy, mức độ dioxin trong sữa của những người mẹ ở Phù Cát cao hơn khoảng từ 3 đến 4 lần so với khu vực đối chứng Kim Bảng. Cần nhận thấy rằng những đứa trẻ ở độ tuổi dưới 3 tháng tuổi tại khu vực điểm nóng dioxin Phù Cát tiếp nhận lượng dioxin trung

bình hàng ngày (DDI) qua sữa mẹ cao hơn khoảng 3 lần so với khu vực đối chứng Kim Bảng và mức độ DDI này cũng giữ ở mức khoảng 3,3 lần ở thời điểm từ 3 đến 4 tháng tuổi (bảng 3.2). Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với tác giả Huệ N.T và cộng sự ở khu vực Đà Nẵng cũng cho thấy mức độ tiếp nhận lượng dioxin trung bình hàng ngày của trẻ ở khu vực này cao hơn so với khu vực đối chứng [170]. Đó là do bản chất ưa lipid của dioxin, do vậy dioxin được tích lũy đáng kể trong mô mỡ và các dịch có hàm lượng chất béo cao [154]. Với đặc tính như vậy, nên trong sữa mẹ sẽ chứa một hàm lượng lớn dioxin, nồng độ dioxin này sẽ giảm dần theo thời gian cho con bú với số tần suất thai sản và số lượng trẻ em được sinh ra từ những người mẹ, do đó dioxin được thải trừ chủ yếu bằng con đường sữa mẹ [178]. Chúng tôi cũng chỉ ra rằng mức độ đồng phân dioxin ở những người mẹ sinh con đầu lòng cao hơn những người mẹ sinh con thứ 2 hoặc thứ 3. Sự khác biệt đó được thể hiện thông qua những kết quả ở biểu đồ 3.2.

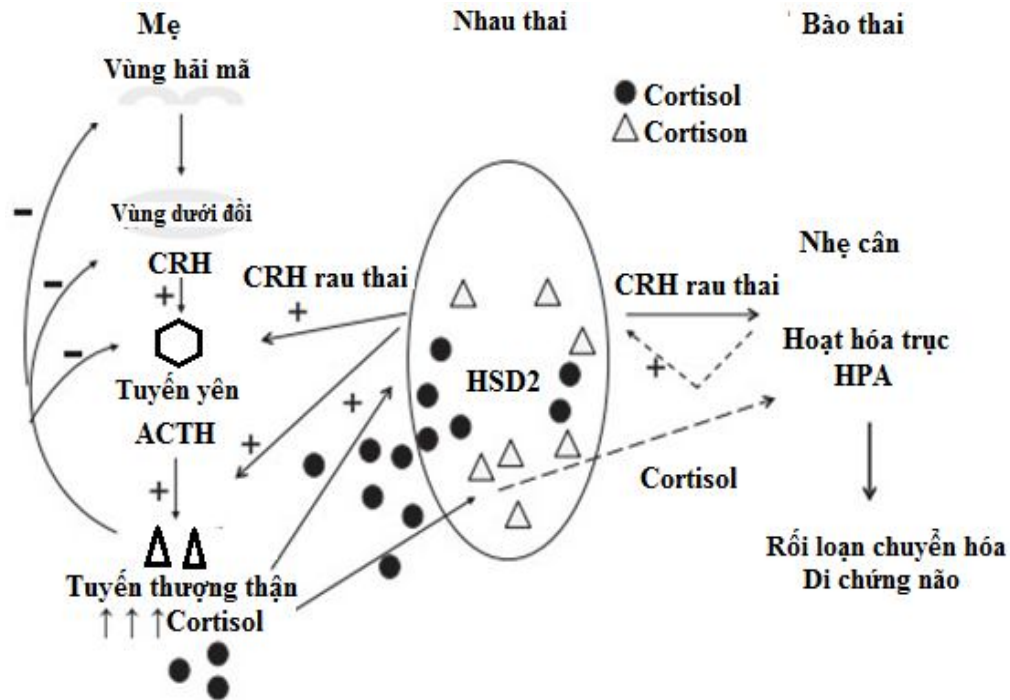
Cũng có nhiều nghiên cứu về tác động tiêu cực của dioxin và đối với sức khỏe con người và hệ sinh thái, đặc biệt giai đoạn bào thai và giai đoạn chu sinh. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tỷ lệ phần trăm trẻ sơ sinh có cân nặng lúc sinh thấp (<2500g) ở Phù Cát là cao hơn khoảng 3 lần (11,8%) so với khu vực đối chứng (3,4%) (Bảng 3.3). Mặc dù kết quả này không mang ý nghĩa thống kê. Nhưng nhìn chung, kết quả này không mâu thuẫn những nghiên cứu khác như với báo cáo của Taylor và cộng sự về một số yếu tố nguy cơ trẻ sinh ra có cân nặng khi sinh thấp [29]. Taylor và cộng sự cũng chỉ ra rằng có sự tăng tỷ lệ trẻ sơ sinh cân nặng thấp và tuổi thai ngắn hơn ở những phụ nữ tiếp xúc nghề nghiệp với PCBs [173]. Tuy nhiên, có rất ít các nghiên cứu xác định rõ đồng phân dioxin nào đã gây nên tình trạng thai nhi nhẹ cân.

Cơ chế mà dioxin gây ra tình trạng nhẹ cân trong thai kỳ vẫn chưa được biết rõ. Chúng tôi đề xuất một cơ chế để giải thích làm thế nào để các đồng phân dioxin gây ra tình trạng này như sau: Đây dường như là một trong những giả thuyết do sự tiếp xúc với lượng lớn glucocorticoid dư thừa dẫn đến ức chế sự phát triển của thai nhi. Cụ thể là một lượng lớn nồng độ hormon cortisol và cortison trong cơ thể mẹ có thể ảnh hưởng đến cân nặng khi sinh của trẻ và kích thước cơ thể của trẻ từ sơ sinh đến giai đoạn dưới 3 tháng. Thật vậy, mức độ glucocorticoid cụ thể là cortisol và cortison của những người mẹ cho con bú ở Phù Cát là cao hơn những người mẹ trong khu vực đối chứng và đã có một sự tương quan chặt chẽ giữa hai glucocorticoid với tổng đương lượng dioxin là TEQ PCDDs và TEQ PCDFs trong sữa mẹ. Kết quả này của chúng tôi là hoàn toàn phù hợp với những kết quả nghiên cứu thực nghiệm hay một số nghiên cứu điều tra khác, các nghiên cứu này cũng cho thấy rằng sự tăng trưởng của thai nhi cũng như giai đoạn đầu sau sinh sẽ bị chậm bởi ảnh hưởng của nồng độ cao glucocorticoid và sự chậm phát triển này sẽ cân bằng trở lại trong khoảng thời gian 3 tháng sau sinh [196],[197],[198].

Tuy nhiên, rất ít nghiên cứu chỉ ra được sự ảnh hưởng của mức độ cao cortisol có thể ảnh hưởng đến sự phát triển của bào thai và sau khi sinh như thế nào. Đây chính là cơ chế để bảo vệ thai nhi với mức độ cao cortisol từ người mẹ, thông qua vai trò của một loại enzym là  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase có trong nhau thai sẽ điều chỉnh mức độ cortisol vào trong bào thai [199]. Enzym  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase ( $11\beta$ HSD) được biết đến bởi hai hình thức hoạt động là  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase typ 1 và typ 2. Vai trò của  $11\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase typ 1 ( $11\beta$ HSD2) là oxi hóa cortisol có hoạt tính sinh học thành cortison không hoạt động [200]. Trong cơ thể người, sự hoạt động của enzym  $11\beta$ -HSD2 ở nhau thai đã được chứng minh là có hoạt tính thấp hơn và tương quan với tình trạng cân nặng sơ

sinh thấp cụ thể là trong nghiên cứu ở những trẻ sơ sinh bị đột biến dạng đồng hợp tử có hại của gen tổng hợp enzym  $11\beta$ -HSD2 là có cân nặng khi sinh thấp hơn so với những trường hợp khác [201].

Một số nghiên cứu khác cũng khuyến cáo rằng việc tiếp xúc quá mức của thai nhi ở giai đoạn phát triển với mức độ cao cortisol sẽ dẫn đến kích ứng trực tuyến dưới đồi – tuyến yên – tuyến thượng thận (HPA). Tình trạng đó không chỉ liên quan hiện tượng giảm cân nặng của trẻ trong giai đoạn bào thai và giai đoạn đầu sau khi sinh mà về lâu dài còn kết hợp với tình trạng rối loạn các quá trình trao đổi chất và chậm phát triển nhận thức [202],[203].



**Hình 4.4. Vai trò của enzym 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase typ 1 của nhau thai [203].**

#### **4.8. Môi trường quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt với hormon steroid trong sữa và huyết thanh**

Định lượng các hormon steroid trong nước bọt là một bước tiến mới trong kỹ thuật và phương pháp phân tích gần đây và đang được sử dụng rộng rãi ở các nước phát triển. Mặc dù kỹ thuật định lượng hormon trong nước bọt phát triển sau nhưng đã cung cấp một số lợi thế quan trọng. Đặc biệt, hầu hết việc định lượng nồng độ hormon steroid trong huyết thanh là đo tổng lượng hormon trong máu, trong khi xét nghiệm nước bọt là đo dạng tự do của hormon steroid [204]. Điều này xuất phát từ thực tế là các peptide lớn không thể khuếch tán từ máu vào nước bọt, vì vậy steroid liên kết với globulin ràng buộc là không tồn tại trong nước bọt. Hơn nữa, nước bọt là một dịch sinh học hữu ích được sử dụng rộng rãi trong các kỹ thuật mới với độ nhạy cao để sàng lọc, chẩn đoán và quản lý một số tình trạng bệnh lý. Ngoài ra, nước bọt là một dạng mẫu xét nghiệm dễ dàng thu thập, lưu trữ và lý tưởng cho việc phát hiện sớm một số bệnh do có chứa các dấu ấn sinh học cụ thể cho nhiều tình trạng bệnh lý. Chẩn đoán nước bọt đã phát triển thành một lĩnh vực khoa học phức tạp và cũng đã được công nhận như kỹ thuật trung tâm trong một loạt các lĩnh vực cơ bản và lâm sàng y sinh.

Theo một số tác giả cho thấy sử dụng mẫu nước bọt định lượng nồng độ các hormon steroid như cortisol, cortison, estriol, estrogen và androgen luôn cung cấp các giá trị phát hiện chính xác của các hormon và có mối tương quan thuận chặt chẽ với nồng độ của hormon đó trong huyết thanh [205],[206],[207].

Bên cạnh đó, các tình trạng rối loạn hormon steroid vô thương thận thường được chú ý ở đối tượng trẻ em. Ở đối tượng này có rất nhiều thách thức đối với các phòng thí nghiệm từ việc lấy mẫu máu để xét nghiệm cho đến kỹ thuật áp dụng để đưa đến giá trị có độ tin cậy cao nhất. Phương pháp

phân tích bằng sắc ký lỏng khối phổ kép đã cho phép tách từng thành phần từ một hỗn hợp ban đầu và phát hiện từng ion cụ thể để xác định thành phần từng chất với độ chính xác và đặc hiệu cao [208]. Phương pháp này đã thật sự cải thiện chất lượng của các thử nghiệm trong thực hành lâm sàng.

Trong nghiên cứu của chúng tôi đã sử dụng kỹ thuật sắc ký lỏng khối phổ kép để định lượng các hormon steroid trong mẫu nước bọt, mẫu sữa và huyết thanh. Với những kết quả thu được đồng thời cũng đánh giá mối tương quan của nồng độ các hormon steroid này trong nước bọt với trong sữa hay huyết thanh. Qua đó đã tìm thấy một mối tương quan chặt chẽ giữa các hormon steroid trong nước bọt với hormon trong sữa, cũng như là mối tương quan giữa những hormon này trong nước bọt với huyết thanh với  $r > 6,3$  và  $p < 0,001$  (biểu đồ 3.9).

Phương pháp sắc ký lỏng khối phổ kép đã được sử dụng rộng rãi trong hóa học lâm sàng và các ứng dụng đã được đánh giá cao với độ nhạy và độ đặc hiệu. Các chất phân tích bao gồm nhiều loại hormon steroid cùng được xác định đồng thời. Việc ứng dụng để sàng lọc rộng rãi ở trẻ sơ sinh là một lĩnh vực chiếm nhiều ưu thế đối với kỹ thuật này [209]. Một số quy trình phân tích với việc ứng dụng kỹ thuật sắc ký lỏng khối phổ kép đã được thực hiện trong các loại mẫu phân tích khác nhau như mẫu máu, mẫu nước bọt, mẫu tóc và móng tay..., thường được sử dụng để định lượng nồng độ một số hormon đã mang lại những ưu điểm vượt trội. Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã chọn nước bọt làm mẫu nghiên cứu ưu tiên để phân tích nồng độ các hormon steroid vì đây là một phương pháp lấy mẫu không xâm lấn và dễ dàng để thu thập từ các đối tượng nghiên cứu, thậm chí từ trẻ em và có tính khả thi cao để sử dụng trong các nghiên cứu dịch tễ học.

Căn cứ vào sự thay đổi nồng độ các hormon thượng thận như cortisol huyết thanh, cortisol nước bọt và cortison theo thời gian trong ngày, cho nên

tất cả các mẫu đều được thu thập vào buổi sáng từ 8 giờ đến 10 giờ. Đo cortisol nước bọt đã trở thành một công cụ phổ biến, được áp dụng rộng rãi và đáng tin cậy đối với việc khám và sàng lọc lâm sàng, đặc biệt là trong hội chứng Cushing.

Phương pháp sắc ký lỏng khối phổ song song là một kỹ thuật hiện đại với độ nhạy cao và độ chính xác cao hơn các phương pháp xét nghiệm miễn dịch khác. Với độ nhạy gấp 10 đến 100 lần so với các kỹ thuật miễn dịch khác. Hơn nữa, kỹ thuật này cũng có thể được sử dụng để đồng thời phân tích nhiều hormon steroid, kể cả những hormon có cấu trúc phân tử khá giống nhau. Chẳng hạn như cortisol và cortison, có cấu trúc phân tử tương tự nhau nhưng chỉ sử dụng có 0,1 ml huyết thanh hay nước bọt là đủ để phân tích cho từng thành phần.

## KẾT LUẬN

Sau khi nghiên cứu về sự thay đổi nồng độ hormon steroid trong nước bọt, sữa và huyết thanh trên những người sống tại vùng phơi nhiễm chất da cam/dioxin tại Phù Cát, tỉnh Bình Định chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

### **1. Nồng độ dioxin trong sữa của những người mẹ sống tại Phù Cát - Bình Định**

Nồng độ đương lượng độc của dioxin trong sữa những người mẹ ở Phù Cát là  $11,558 \pm 4,079$  pg/g lipid cao hơn gấp 3,5 lần so với những người mẹ ở Kim Bảng với mức trung bình là  $3,505 \pm 1,356$  pg/g lipid. Trong đó hầu hết các đồng phân dioxin trong sữa người mẹ ở Phù Cát đều cao hơn ở Kim Bảng.

Nồng độ đương lượng độc của dioxin trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng là  $9,154 \pm 5,846$  pg/g lipid cao hơn những người mẹ sinh con thứ khoảng 1,5 lần với mức trung bình là  $6,268 \pm 4,212$  pg/g lipid.

### **2. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ và con, trong sữa và huyết thanh của người mẹ sống tại Phù Cát - Bình Định**

#### **2.1. Nồng độ hormone steroid trong nước bọt của mẹ**

**Tại thời điểm sau 4 đến 16 tuần cho con bú:** Nồng độ hormon cortisol trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát là  $2,95 \pm 2,06$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $1,76 \pm 1,10$  ng/ml. Nồng độ hormon cortison trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát là  $14,59 \pm 6,37$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $9,76 \pm 5,17$  ng/ml.

Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của người mẹ ở Phù Cát là  $204,39 \pm 121,32$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $130,41 \pm 74,28$  ng/ml. Không có sự khác biệt về nồng độ các hormon androstenedion và estradiol trong nước bọt của những người mẹ ở 2 khu vực.

**Sau một năm cho con bú:** Nồng độ hormon cortisol của mẹ ở Phù Cát là  $2,48 \pm 1,58$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $1,41 \pm 1,01$  ng/ml;



nồng độ hormon cortison là  $11,89 \pm 4,58$  ng/ml cao hơn những người mẹ ở Kim Bảng với nồng độ là  $8,08 \pm 3,32$  ng/ml. Không có sự khác biệt về nồng độ các hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong nước bọt của những người mẹ ở 2 khu vực.

### ***2.2. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của con***

Nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của trẻ 3 tuổi ở Phù Cát là  $45,30 \pm 28,58$  pg/ml thấp hơn trẻ ở Kim Bảng với nồng độ là  $83,30 \pm 48,83$  pg/ml. Không có sự khác biệt về nồng độ các hormon cortisol và cortison trong nước bọt của trẻ em 3 tuổi ở 2 khu vực.

### ***2.3. Nồng độ hormon steroid trong sữa mẹ***

Nồng độ hormon cortisol của người mẹ ở Phù Cát là  $3,36 \pm 2,24$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $1,92 \pm 1,61$  ng/ml. Nồng độ hormon cortison của người mẹ ở Phù Cát là  $8,99 \pm 2,44$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ hormon cortisol là  $7,52 \pm 3,30$  ng/ml.

Không có sự khác biệt về nồng độ các hormon androstenedion và estradiol trong sữa của những người mẹ ở 2 khu vực.

### ***2.4. Nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ***

Nồng độ hormon cortisol trong huyết thanh của người mẹ ở Phù Cát là  $114,28 \pm 52,81$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $78,54 \pm 37,07$  ng/ml; nồng độ hormon cortison trong huyết thanh của người mẹ ở Phù Cát là  $27,57 \pm 6,30$  ng/ml cao hơn ở Kim Bảng với nồng độ là  $22,35 \pm 6,92$  ng/ml.

Không có sự khác biệt về nồng độ các hormon DHEA, androstenedion, estradiol và estron trong huyết thanh của những người mẹ ở 2 khu vực.

## **3. Tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt, sữa và huyết thanh với nồng độ dioxin trong sữa của những người mẹ.**

Tại thời điểm từ 4 đến 16 tuần cho con bú, có mối tương quan phi tuyến dạng hình chuông (hay chữ U ngược) giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng

độ hormon cortisol trong nước bọt ( $r^2 = 0,098$ ;  $p < 0,05$ ), nồng độ hormon cortisol trong nước bọt ( $r^2 = 0,094$ ;  $p < 0,05$ ) và nồng độ hormon cortisol trong sữa ( $r^2 = 0,114$ ;  $p < 0,05$ ) của những người mẹ sinh con đầu lòng.

Tại thời điểm sau một năm cho con bú có mối tương quan tuyến tính thuận giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol trong nước bọt ( $r^2 = 0,114$ ;  $p < 0,001$ ) và nồng độ hormon cortisol trong nước bọt ( $r^2 = 0,109$ ;  $p < 0,001$ ). Có mối tương quan tuyến tính thuận giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon cortisol trong huyết thanh ( $r^2 = 0,066$ ;  $p < 0,001$ ) và nồng độ hormon cortisol trong huyết thanh ( $r^2 = 0,142$ ;  $p < 0,001$ ).

Có mối tương quan tuyến tính nghịch giữa nồng độ hormon DHEA trong nước bọt của trẻ 3 tuổi với hàm lượng dioxin trong sữa của người mẹ ( $r^2 = 0,129$  và  $p < 0,001$ ).

Có sự tương thuận khá chặt chẽ mang ý nghĩa thống kê giữa nồng độ các hormon steroid trong nước bọt với nồng độ hormon trong sữa và huyết thanh.

**KIẾN NGHỊ**

Đề tài cần được nghiên cứu thêm để tiếp tục theo dõi và đánh giá tình trạng rối loạn nội tiết cụ thể là nhóm hormon vỏ thượng và sinh dục gây ra bởi dioxin ở những người dân sống tại vùng ô nhiễm, đặc biệt là trẻ em.

## **DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH NGHIÊN CỨU ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN ĐẾN ĐỀ TÀI LUẬN ÁN**

1. Kido T, Dao T.V, Ho M.D. et al, (2014). High cortisol and cortisone levels are associated with breast milk dioxin concentrations in Vietnamese women. *Eur J Endocrinol*, 170(1): p. 131-9.
2. Manh H.D, Kido T, Okamoto R. et al, (2013). The relationship between dioxins and salivary steroid hormones in Vietnamese primiparae. *Environ Health Prev Med*, 18(3): p. 221-9.
3. Đào Văn Tùng, Trần Hoài Nam, Phạm Thiện Ngọc et al, (2012). Biến đổi nồng độ một số hocmon steroid ở người mẹ đang cho con bú sống ở vùng phơi nhiễm chất da cam/dioxin Việt Nam. *TCYHVN*, 396 (số 2/2012): p. 154-159
4. Đào Văn Tùng, Nguyễn Ngọc Hùng, Đặng Đức Nhu et al, (2012). Khảo sát hocmon steroid ở người mẹ đang cho con bú sống tại vùng điểm nóng dioxin Việt Nam. *TCNCYH*, 80(số 4-2012): p. 22-27
5. Đào Văn Tùng, Trần Hoài Nam, Phạm Thiện Ngọc et al, (2013). Nồng độ hocmon steroid ở người mẹ đang cho con bú sống ở vùng phơi nhiễm dioxin Việt Nam. *TCYHVN*, 406(số đặc biệt/2013): p. 123-127
6. Đào Văn Tùng, Trần Hoài Nam, Đặng Đức Nhu et al, (2014). Ảnh hưởng của dioxin đến nồng độ hormon cortisol, cortison của mẹ và cân nặng trẻ sơ sinh ở khu vực phơi nhiễm dioxin. *TCYHVN*, 421(1859-1868): p. 42-48..

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs225/en/>.
2. IOM, (2001) National Academy Press,, in *Washington, D.C 2001*, 604, Editor (Institute of Medicine): Washington, D.C 2001.
3. Stellman J.M, Stellman S.D, Christian R. et al, (2003). The extent and patterns of usage of Agent Orange and other herbicides in Vietnam. *Nature*, 422(6933): p. 681-7.
4. Phan Thị Phi Phi, (2002) Tác hại lâu dài của AO/dioxin trên hệ miễn dịch - máu ở người bị phơi nhiễm mạn tính, in *Hội nghị khoa học Việt - Mỹ về ảnh hưởng của chất độc da cam/dioxin lên sức khỏe con người và môi trường*: Hà Nội, Việt Nam. p. 162-167.
5. (Veterans and Agent Orange: Update 2012.
6. Harris F.S, (1992). McGraw-Hill Concise Encyclopedia of Science and Technology. Edited by Sybil P. Parker. *Appl Opt*, 23(14): p. 2291.
7. IUPAC-IUB Joint Commission on Biochemical Nomenclature (JCBN), (1989). The nomenclature of steroids. Recommendations 1989. *Eur J Biochem*, 186(3): p. 429-58.
8. Mai Thế Trạch and và Nguyễn Thy Khuê, (2007) Nội tiết học đại cương, Nhà xuất bản Y học.
9. Auchus R.J, (2004). Overview of dehydroepiandrosterone biosynthesis. *Semin Reprod Med*, 22(4): p. 281-8.
10. Soucy P. and Luu-The V, (2000). Conversion of pregnenolone to DHEA by human 17 $\alpha$ -hydroxylase/17, 20-lyase (P450c17). Evidence that DHEA is produced from the released intermediate, 17 $\alpha$ -hydroxypregnenolone. *Eur J Biochem*, 267(11): p. 3243-7.

11. Kasai T, Shozu M, Murakami K. et al, (2004). Increased expression of type I 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase enhances in situ production of estradiol in uterine leiomyoma. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(11): p. 5661-8.
12. Miller W.L, (2002). Androgen biosynthesis from cholesterol to DHEA. *Mol Cell Endocrinol*, 198(1-2): p. 7-14.
13. Fluck C.E, Miller W.L, and Auchus R.J, (2003). The 17, 20-lyase activity of cytochrome p450c17 from human fetal testis favors the  $\Delta^5$  steroidogenic pathway. *J Clin Endocrinol Metab*, 88(8): p. 3762-6.
14. Voet D.a.J, (1990) Biochemistry, John Wiley and Sons: New York.
15. <http://medicalbiochemistryresources.blogspot.com>.
16. Aranda A. and Pascual A, (2001). Nuclear hormone receptors and gene expression. *Physiol Rev*, 81(3): p. 1269-304.
17. New M.I, (2004). An update of congenital adrenal hyperplasia. *Ann N Y Acad Sci*, 1038: p. 14-43.
18. Shank L.C. and Paschal B.M, (2005). Nuclear transport of steroid hormone receptors. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 15(1): p. 49-73.
19. Booth R.E, Johnson J.P, and Stockand J.D, (2002). Aldosterone. *Adv Physiol Educ*, 26(1-4): p. 8-20.
20. Chapman J.C, Polanco J.R, Min S. et al, (2005). Mitochondrial 3  $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase (HSD) is essential for the synthesis of progesterone by corpora lutea: an hypothesis. *Reprod Biol Endocrinol*, 3: p. 11.
21. Burke T.J, Loniello K.R, Beebe J.A. et al, (2003). Development and application of fluorescence polarization assays in drug discovery. *Comb Chem High Throughput Screen*, 6(3): p. 183-94.

22. Berry D.J. and Patsalos P.N, (2000). Comparison of topiramate concentrations in plasma and serum by fluorescence polarization immunoassay. *Ther Drug Monit*, 22(4): p. 460-4.
23. Hackett L.P, Dusci L.J, and Ilett K.F, (1998). A comparison of high-performance liquid chromatography and fluorescence polarization immunoassay for therapeutic drug monitoring of tricyclic antidepressants. *Ther Drug Monit*, 20(1): p. 30-4.
24. Hong J.Y. and Choi M.J, (2002). Development of one-step fluorescence polarization immunoassay for progesterone. *Biol Pharm Bull*, 25(10): p. 1258-62.
25. Roda A, Manetta A.C, Portanti O. et al, (2003). A rapid and sensitive 384-well microtitre format chemiluminescent enzyme immunoassay for 19-nortestosterone. *Luminescence*, 18(2): p. 72-8.
26. Bacigalupo M.A, Ius A, Simoni P. et al, (2001). Analytical performance of luminescent immunoassays of different format for serum daidzein analysis. *Fresenius J Anal Chem*, 370(1): p. 82-7.
27. Najjar SM W.B, (1993) Handbook of Endocrine Research Techniques, ed. e.S. Diego, California: Academic. 3-23.
28. Blackwell L.F, Brown J.B, Vigil P. et al, (2003). Hormonal monitoring of ovarian activity using the Ovarian Monitor, part I. Validation of home and laboratory results obtained during ovulatory cycles by comparison with radioimmunoassay. *Steroids*, 68(5): p. 465-76.
29. Bush I.E, (1952). Methods of paper chromatography of steroids applicable to the study of steroids in mammalian blood and tissues. *Biochem J*, 50(3): p. 370-8.
30. Bộ tài nguyên - môi trường V.p.B.c.đ, (2008) Tác hại của dioxin đối với người Việt Nam, NXB Y học.

31. Reports I.C.E, *Dioxins in the environment: What are the health risks?*, in *INSERM Collective Expert Reports 2000*: Paris.
32. Van den Berg M, Birnbaum L.S, Denison M. et al, (2006). The 2005 World Health Organization reevaluation of human and Mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicol Sci*, 93(2): p. 223-41.
33. Podoll R.T, Jaber H.M, and Mill T, (1986). Tetrachlorodibenzodioxin: rates of volatilization and photolysis in the environment. *Environ Sci Technol*, 20(5): p. 490-2.
34. EPA, ( 2006) An Inventory of Sources and Environmental Releases of Dioxin-Like Compounds in the U.S. for the Years 1987, 1995, and 2000 (Final, Nov 2006), in *EPA/600/P-03/002f, Final Report: Environmental Assessment*.
35. Hatfield, (1998) Vietnam Study Finds Dioxin in Food Chain: Asia: Agent Orange defoliant used by U.S. in war has created environmental and health problems, firm reports.
36. Michalek J.E, Tripathi R.C, Kulkarni P.M. et al, (1996). The reliability of the serum dioxin measurement in veterans of Operation Ranch Hand. *J Expo Anal Environ Epidemiol*, 6(3): p. 327-38.
37. Schechter A, Quynh H.T, Pavuk M. et al, (2003). Food as a source of dioxin exposure in the residents of Bien Hoa City, Vietnam. *J Occup Environ Med*, 45(8): p. 781-8.
38. Dwernychuk L.W, (2005). Dioxin hot spots in Vietnam. *Chemosphere*, 60(7): p. 998-9.
39. Poiger H, Buser H.R, Weber H. et al, (1982). Structure elucidation of mammalian TCDD-metabolites. *Experientia*, 38(4): p. 484-6.



40. Sawahata T, Olson J.R, and Neal R.A, (1982). Identification of metabolites of 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-P-dioxin (TCDD) formed on incubation with isolated rat hepatocytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 105(1): p. 341-6.
41. Mason G. and Safe S, (1986). Synthesis, biologic and toxic effects of the major 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin metabolites in the rat. *Toxicology*, 41(2): p. 153-9.
42. Olson J.R, (1986). Metabolism and disposition of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol*, 85(2): p. 263-73.
43. Olson J.R, Gasiewicz T.A, and Neal R.A, (1980). Tissue distribution, excretion, and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the Golden Syrian hamster. *Toxicol Appl Pharmacol*, 56(1): p. 78-85.
44. Gasiewicz T.A, Geiger L.E, Rucci G. et al, (1983). Distribution, excretion, and metabolism of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in C57BL/6J, DBA/2J, and B6D2F1/J mice. *Drug Metab Dispos*, 11(5): p. 397-403.
45. Birnbaum L.S, (1986). Distribution and excretion of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in congenic strains of mice which differ at the Ah locus. *Drug Metab Dispos*, 14(1): p. 34-40.
46. Piper W.N, Rose J.Q, and Gehring P.J, (1973). Excretion and tissue distribution of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the rat. *Environ Health Perspect*, 5: p. 241-4.
47. Allen J.R, Van Miller J.P, and Norback D.H, (1975). Tissue distribution, excretion and biological effects of [14C]tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Food Cosmet Toxicol*, 13(5): p. 501-5.

48. Gasiewicz T.A. and Neal R.A, (1979). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin tissue distribution, excretion, and effects on clinical chemical parameters in guinea pigs. *Toxicol Appl Pharmacol*, 51(2): p. 329-39.
49. receptor T.a.h. <http://www.helsinki.fi/science/dentenv/dioxin.html>.
50. Denison M.S, Soshilov A.A, He G. et al, (2011). Exactly the same but different: promiscuity and diversity in the molecular mechanisms of action of the aryl hydrocarbon (dioxin) receptor. *Toxicol Sci*, 124(1): p. 1-22.
51. Lindsey S. and Papoutsakis E.T, (2012). The evolving role of the aryl hydrocarbon receptor (AHR) in the normophysiology of hematopoiesis. *Stem Cell Rev*, 8(4): p. 1223-35.
52. Umbreit T.H. and Gallo M.A, (1988). Physiological implications of estrogen receptor modulation by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Lett*, 42(1): p. 5-14.
53. Smith S, Schecter A, Papke O. et al, (1998). Quantitation of the extracellular domain of epidermal growth factor receptor in the plasma of dioxin-exposed individuals. *Am J Ind Med*, 34(1): p. 1-5.
54. Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M. et al, (2006). Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants. *Ecotoxicol Environ Saf*, 64(2): p. 178-89.
55. Dong W, Teraoka H, Kondo S. et al, (2001). 2, 3, 7, 8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induces apoptosis in the dorsal midbrain of zebrafish embryos by activation of arylhydrocarbon receptor. *Neurosci Lett*, 303(3): p. 169-72.
56. Hoffer A, Chang C.Y, and Puga A, (1996). Dioxin induces transcription of fos and jun genes by Ah receptor-dependent and -independent pathways. *Toxicol Appl Pharmacol*, 141(1): p. 238-47.

57. Portier C, Tritscher A, Kohn M. et al, (1993). Ligand/receptor binding for 2,3,7,8-TCDD: implications for risk assessment. *Fundam Appl Toxicol*, 20(1): p. 48-56.
58. Furukawa H, (2004) Ecological Destruction, Health, and Development: Advancing Asian Paradigms: *Trans Pacific Press*.
59. [https://www.google.com.vn/search? q=h%C3%ACnh+%E1%BA%A3nh+phun+r%E1%BA%A3i+dioxin+viet+nam&espv=2&biw=1366 &bih=667&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=Pv9ZVOKUCo j58QX5ooGQBQ&ved=0CBoQsAQ#imgdii=.](https://www.google.com.vn/search?q=h%C3%ACnh+%E1%BA%A3nh+phun+r%E1%BA%A3i+dioxin+viet+nam&espv=2&biw=1366&bih=667&tbm=isch&tbo=u&source=univ&sa=X&ei=Pv9ZVOKUCo j58QX5ooGQBQ&ved=0CBoQsAQ#imgdii=)
60. [http://cpv.org.vn/cpv/Modules/News/NewsDetail.aspx? co\\_id= 30424 &cn\\_id =598394.](http://cpv.org.vn/cpv/Modules/News/NewsDetail.aspx? co_id= 30424 &cn_id =598394)
61. Van Loveren H, Schuurman H.J, Kampinga J. et al, (1991). Reversibility of thymic atrophy induced by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and bis(tri-n-butyltin)oxide (TBTO). *Int J Immunopharmacol*, 13(4): p. 369-77.
62. Rhile M.J, Nagarkatti M, and Nagarkatti P.S, (1996). Role of Fas apoptosis and MHC genes in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-induced immunotoxicity of T cells. *Toxicology*, 110(1-3): p. 153-67.
63. Prell R.A, Oughton J.A, and Kerkvliet N.I, (1995). Effect of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on anti-CD3-induced changes in T-cell subsets and cytokine production. *Int J Immunopharmacol*, 17(11): p. 951-61.
64. Fan F, Yan B, Wood G. et al, (1997). Cytokines (IL-1beta and TNFalpha) in relation to biochemical and immunological effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in rats. *Toxicology*, 116(1-3): p. 9-16.

65. Kerkvliet N.I. and Brauner J.A, (1990). Flow cytometric analysis of lymphocyte subpopulations in the spleen and thymus of mice exposed to an acute immunosuppressive dose of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Environ Res*, 52(2): p. 146-54.
66. US Environmental Protection Agency, (1994) Health assessment document for 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds, in [EPA/600/BP-92/001c] (Cincinnati, Ohio: US Environmental Protection Agency, August, 1994.) This is the official draft of "Chapter 9" of the EPA dioxin reassessment, also known as the "risk characterization chapter."
67. Pavuk M, Schechter A.J, Akhtar F.Z. et al, (2003). Serum 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) levels and thyroid function in Air Force veterans of the Vietnam War. *Ann Epidemiol*, 13(5): p. 335-43.
68. Sewall C.H, Flagler N, Vanden Heuvel J.P. et al, (1995). Alterations in thyroid function in female Sprague-Dawley rats following chronic treatment with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol*, 132(2): p. 237-44.
69. Yang J.M, Salmon A.G, and Marty M.A, (2010). Development of TEFs for PCB congeners by using an alternative biomarker--thyroid hormone levels. *Regul Toxicol Pharmacol*, 56(2): p. 225-36.
70. Egeland G.M, Sweeney M.H, Fingerhut M.A. et al, (1994). Total serum testosterone and gonadotropins in workers exposed to dioxin. *Am J Epidemiol*, 139(3): p. 272-81.
71. Baccarelli A, Mocarelli P, Patterson D.G, Jr. et al, (2002). Immunologic effects of dioxin: new results from Seveso and comparison with other studies. *Environ Health Perspect*, 110(12): p. 1169-73.

72. Arisawa K, Takeda H, and Mikasa H, (2005). Background exposure to PCDDs/PCDFs/PCBs and its potential health effects: a review of epidemiologic studies. *J Med Invest*, 52(1-2): p. 10-21.
73. Henriksen G.L, Ketchum N.S, Michalek J.E. et al, (1997). Serum dioxin and diabetes mellitus in veterans of Operation Ranch Hand. *Epidemiology*, 8(3): p. 252-8.
74. van Schanke A, Boon J.P, Aardoom Y. et al, (2000). Effect of a dioxin-like PCB (CB 126) on the biotransformation and genotoxicity of benzo. *Aquat Toxicol*, 50(4): p. 403-415.
75. DiBartolomeis M.J, Moore R.W, Peterson R.E. et al, (1987). Altered regulation of adrenal steroidogenesis in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-treated rats. *Biochem Pharmacol*, 36(1): p. 59-67.
76. Mebus C.A. and Piper W.N, (1986). Decreased rat adrenal 21-hydroxylase activity associated with decreased adrenal microsomal cytochrome P-450 after exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Biochem Pharmacol*, 35(24): p. 4359-62.
77. Porterfield S.P. and Hendry L.B, (1998). Impact of PCBs on thyroid hormone directed brain development. *Toxicol Ind Health*, 14(1-2): p. 103-20.
78. Porterfield S.P, (1994). Vulnerability of the developing brain to thyroid abnormalities: environmental insults to the thyroid system. *Environ Health Perspect*, 102 Suppl 2: p. 125-30.
79. Sher E.S, Xu X.M, Adams P.M. et al, (1998). The effects of thyroid hormone level and action in developing brain: are these targets for the actions of polychlorinated biphenyls and dioxins? *Toxicol Ind Health*, 14(1-2): p. 121-58.

80. Michalek J.E. and Pavuk M, (2008). Diabetes and cancer in veterans of Operation Ranch Hand after adjustment for calendar period, days of spraying, and time spent in Southeast Asia. *J Occup Environ Med*, 50(3): p. 330-40.
81. Kang H.K, Dalager N.A, Needham L.L. et al, (2006). Health status of Army Chemical Corps Vietnam veterans who sprayed defoliant in Vietnam. *Am J Ind Med*, 49(11): p. 875-84.
82. Pesatori A.C, Zocchetti C, Guercilena S. et al, (1998). Dioxin exposure and non-malignant health effects: a mortality study. *Occup Environ Med*, 55(2): p. 126-31.
83. Pelclova D, Fenclova Z, Urban P. et al, (2009). Chronic health impairment due to 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-p-dioxin exposure. *Neuro Endocrinol Lett*, 30 Suppl 1: p. 219-24.
84. Remillard R.B. and Bunce N.J, (2002). Linking dioxins to diabetes: epidemiology and biologic plausibility. *Environ Health Perspect*, 110(9): p. 853-8.
85. Kim Y.H, Shim Y.J, Shin Y.J. et al, (2009). 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) induces calcium influx through T-type calcium channel and enhances lysosomal exocytosis and insulin secretion in INS-1 cells. *Int J Toxicol*, 28(3): p. 151-61.
86. Kurita H, Yoshioka W, Nishimura N. et al, (2009). Aryl hydrocarbon receptor-mediated effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on glucose-stimulated insulin secretion in mice. *J Appl Toxicol*, 29(8): p. 689-94.
87. Martino L, Masini M, Novelli M. et al, (2013). The aryl receptor inhibitor epigallocatechin-3-gallate protects INS-1E beta-cell line against acute dioxin toxicity. *Chemosphere*, 93(8): p. 1447-55.

88. Geusau A, Schmaldienst S, Derfler K. et al, (2002). Severe 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- p-dioxin (TCDD) intoxication: kinetics and trials to enhance elimination in two patients. *Arch Toxicol*, 76(5-6): p. 316-25.
89. Bock K.W. and Kohle C, (2006). Ah receptor: dioxin-mediated toxic responses as hints to deregulated physiologic functions. *Biochem Pharmacol*, 72(4): p. 393-404.
90. Jones S. and Boffetta P, (1997). AACR/IARC meeting on carcinogenesis from environmental pollution: assessment of human risk and strategies for prevention. 6-9 October 1996, Budapest, Hungary. American Association for Cancer Research. International Agency for Research on Cancer. *Ann Oncol*, 8(2): p. 137-8.
91. Cole P, Trichopoulos D, Pastides H. et al, (2003). Dioxin and cancer: a critical review. *Regul Toxicol Pharmacol*, 38(3): p. 378-88.
92. Dragan Y.P. and Schrenk D, (2000). Animal studies addressing the carcinogenicity of TCDD (or related compounds) with an emphasis on tumour promotion. *Food Addit Contam*, 17(4): p. 289-302.
93. Viluksela M, Bager Y, Tuomisto J.T. et al, (2000). Liver tumor-promoting activity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in TCDD-sensitive and TCDD-resistant rat strains. *Cancer Res*, 60(24): p. 6911-20.
94. Walker N.J, Wyde M.E, Fischer L.J. et al, (2006). Comparison of chronic toxicity and carcinogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in 2-year bioassays in female Sprague-Dawley rats. *Mol Nutr Food Res*, 50(10): p. 934-44.
95. Lin F.H, Stohs S.J, Birnbaum L.S. et al, (1991). The effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) on the hepatic estrogen and glucocorticoid receptors in congenic strains of Ah responsive and Ah nonresponsive C57BL/6J mice. *Toxicol Appl Pharmacol*, 108(1): p. 129-39.

96. Lucier G.W, Tritscher A, Goldsworthy T. et al, (1991). Ovarian hormones enhance 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated increases in cell proliferation and preneoplastic foci in a two-stage model for rat hepatocarcinogenesis. *Cancer Res*, 51(5): p. 1391-7.
97. Krishnan V, Porter W, Santostefano M. et al, (1995). Molecular mechanism of inhibition of estrogen-induced cathepsin D gene expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in MCF-7 cells. *Mol Cell Biol*, 15(12): p. 6710-9.
98. Tritscher A.M, Goldstein J.A, Portier C.J. et al, (1992). Dose-response relationships for chronic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in a rat tumor promotion model: quantification and immunolocalization of CYP1A1 and CYP1A2 in the liver. *Cancer Res*, 52(12): p. 3436-42.
99. Phan Thị Phi Phi, (2002) Các vấn đề về ung thư và không ung thư liên quan đến chất da cam/dioxin ở Việt Nam, in *Hội nghị khoa học Việt - Mỹ về ảnh hưởng của chất độc da cam/dioxin lên sức khỏe con người và môi trường*: Hà Nội, Việt Nam. p. 216-223.
100. Kociba R.J, Keyes D.G, Beyer J.E. et al, (1978). Results of a two-year chronic toxicity and oncogenicity study of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 46(2): p. 279-303.
101. Goodman D.G. and Sauer R.M, (1992). Hepatotoxicity and carcinogenicity in female Sprague-Dawley rats treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD): a pathology working group reevaluation. *Regul Toxicol Pharmacol*, 15(3): p. 245-52.
102. Abel J, Li W, Dohr O. et al, (1996). Dose-response relationship of cytochrome P4501b1 mRNA induction by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in livers of C57BL/6J and DBA/2J mice. *Arch Toxicol*, 70(8): p. 510-3.



103. Schwarz M. and Appel K.E, (2005). Carcinogenic risks of dioxin: mechanistic considerations. *Regul Toxicol Pharmacol*, 43(1): p. 19-34.
104. Mandal P.K, (2005). Dioxin: a review of its environmental effects and its aryl hydrocarbon receptor biology. *J Comp Physiol B*, 175(4): p. 221-30.
105. Abraham K, Wiesmuller T, Brunner H. et al, (1989). Absorption and tissue distribution of various polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans (PCDDs and PCDFs) in the rat. *Arch Toxicol*, 63(3): p. 193-202.
106. Sirkka U, Pohjanvirta R, Nieminen S.A. et al, (1992). Acute neurobehavioural effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in Han/Wistar rats. *Pharmacol Toxicol*, 71(4): p. 284-8.
107. Allen J.R, Barsotti D.A, Van Miller J.P. et al, (1977). Morphological changes in monkeys consuming a diet containing low levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Food Cosmet Toxicol*, 15(5): p. 401-10.
108. Kraemer S.A, Arthur K.A, Denison M.S. et al, (1996). Regulation of prostaglandin endoperoxide H synthase-2 expression by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Arch Biochem Biophys*, 330(2): p. 319-28.
109. Brewster D.W, Bombick D.W, and Matsumura F, (1988). Rabbit serum hypertriglyceridemia after administration of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *J Toxicol Environ Health*, 25(4): p. 495-507.
110. Guiney P.D, Smolowitz R.M, Peterson R.E. et al, (1997). Correlation of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin induction of cytochrome P4501A in vascular endothelium with toxicity in early life stages of lake trout. *Toxicol Appl Pharmacol*, 143(2): p. 256-73.
111. Overby L.H, Nishio S, Weir A. et al, (1992). Distribution of cytochrome P450 1A1 and NADPH-cytochrome P450 reductase in lungs of rabbits treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: ultrastructural immunolocalization and in situ hybridization. *Mol Pharmacol*, 41(6): p. 1039-46.

112. Kociba R.J, Keeler P.A, Park C.N. et al, (1976). 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD): results of a 13-week oral toxicity study in rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 35(3): p. 553-74.
113. Lin F.H, Clark G, Birnbaum L.S. et al, (1991). Influence of the Ah locus on the effects of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on the hepatic epidermal growth factor receptor. *Mol Pharmacol*, 39(3): p. 307-13.
114. Yang K.H, Choi E.J, and Choe S.Y, (1983). Cytotoxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin on primary cultures of adult rat hepatocytes. *Arch Environ Contam Toxicol*, 12(2): p. 183-8.
115. Berman E.F, Schaus P, and Fujimoto J.M, (1986). Comparison of the inhibition of biliary excretion produced by certain inducing agents including 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J Toxicol Environ Health*, 17(4): p. 395-403.
116. Poland A. and Glover E, (1973). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin: a potent inducer of -aminolevulinic acid synthetase. *Science*, 179(4072): p. 476-7.
117. Merchant M, Arellano L, and Safe S, (1990). The mechanism of action of alpha-naphthoflavone as an inhibitor of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced CYP1A1 gene expression. *Arch Biochem Biophys*, 281(1): p. 84-9.
118. Potter C.L, Sipes I.G, and Russell D.H, (1983). Hypothyroxinemia and hypothermia in rats in response to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin administration. *Toxicol Appl Pharmacol*, 69(1): p. 89-95.
119. Theobald H.M, Ingall G.B, Mably T.A. et al, (1991). Response of the antral mucosa of the rat stomach to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Toxicol Appl Pharmacol*, 108(1): p. 167-79.

120. Norback D.H. and Allen J.R, (1973). Biological responses of the nonhuman primate, chicken, and rat to chlorinated dibenzo-p-dioxin ingestion. *Environ Health Perspect*, 5: p. 233-40.
121. Richter E, Hunder G, and Forth W, (1992). Inhibition of intestinal glucose absorption in rats treated with 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Vet Hum Toxicol*, 34(2): p. 123-6.
122. Jones E.L. and Krizek H, (1962). A technic for testing acegenic potency in rabbits, applied to the potent acnegen, 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *J Invest Dermatol*, 39: p. 511-7.
123. Knutson J.C. and Poland A, (1982). Response of murine epidermis to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: interaction of the ah and hr loci. *Cell*, 30(1): p. 225-34.
124. Gorski J.R, Muzi G, Weber L.W. et al, (1988). Some endocrine and morphological aspects of the acute toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Toxicol Pathol*, 16(3): p. 313-20.
125. Gorski J.R, Muzi G, Weber L.W. et al, (1988). Elevated plasma corticosterone levels and histopathology of the adrenals and thymuses in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-treated rats. *Toxicology*, 53(1): p. 19-32.
126. Gorski J.R, Weber L.W, and Rozman K, (1988). Tissue-specific alterations of de novo fatty acid synthesis in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD)-treated rats. *Arch Toxicol*, 62(2-3): p. 146-51.
127. Gorski J.R, Lebofsky M, and Rozman K, (1988). Corticosterone decreases toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in hypophysectomized rats. *J Toxicol Environ Health*, 25(3): p. 349-60.
128. Roman B.L, Sommer R.J, Shinomiya K. et al, (1995). In utero and lactational exposure of the male rat to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: impaired prostate growth and development without inhibited androgen production. *Toxicol Appl Pharmacol*, 134(2): p. 241-50.

129. Gray L.E, Jr. and Ostby J.S, (1995). In utero 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) alters reproductive morphology and function in female rat offspring. *Toxicol Appl Pharmacol*, 133(2): p. 285-94.
130. Chaffin C.L, Peterson R.E, and Hutz R.J, (1996). In utero and lactational exposure of female Holtzman rats to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: modulation of the estrogen signal. *Biol Reprod*, 55(1): p. 62-7.
131. Chaffin C.L, Brogan R.S, Peterson R.E. et al, (1996). Modulation of growth axis gene expression by in utero and lactational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) in the weaning Holtzman rat. *Endocrine*, 5(2): p. 129-34.
132. Couture L.A, Abbott B.D, and Birnbaum L.S, (1990). A critical review of the developmental toxicity and teratogenicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: recent advances toward understanding the mechanism. *Teratology*, 42(6): p. 619-27.
133. Barsotti D.A, Abrahamson L.J, and Allen J.R, (1979). Hormonal alterations in female rhesus monkeys fed a diet containing 2, 3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin. *Bull Environ Contam Toxicol*, 21(4-5): p. 463-9.
134. Mocarelli P, Gerthoux P.M, Ferrari E. et al, (2000). Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring. *Lancet*, 355(9218): p. 1858-63.
135. Astroff B, Rowlands C, Dickerson R. et al, (1990). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin inhibition of 17 beta-estradiol-induced increases in rat uterine epidermal growth factor receptor binding activity and gene expression. *Mol Cell Endocrinol*, 72(3): p. 247-52.

136. Peters J.M, Narotsky M.G, Elizondo G. et al, (1999). Amelioration of TCDD-induced teratogenesis in aryl hydrocarbon receptor (AhR)-null mice. *Toxicol Sci*, 47(1): p. 86-92.
137. Kransler K.M, McGarrigle B.P, and Olson J.R, (2007). Comparative developmental toxicity of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the hamster, rat and guinea pig. *Toxicology*, 229(3): p. 214-25.
138. Bruggeman V, Swennen Q, De Ketelaere B. et al, (2003). Embryonic exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in chickens: effects of dose and embryonic stage on hatchability and growth. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 136(1): p. 17-28.
139. Carney S.A, Prash A.L, Heideman W. et al, (2006). Understanding dioxin developmental toxicity using the zebrafish model. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*, 76(1): p. 7-18.
140. Geusau A, Abraham K, Geissler K. et al, (2001). Severe 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) intoxication: clinical and laboratory effects. *Environ Health Perspect*, 109(8): p. 865-9.
141. IARC, (1997) Polychlorinated dibenzo-para-dioxins, in *IARC Monogr Eval Carcinog Risks Hum*. p. 33-343.
142. Alaluusua S, Calderara P, Gerthoux P.M. et al, (2004). Developmental dental aberrations after the dioxin accident in Seveso. *Environ Health Perspect*, 112(13): p. 1313-8.
143. Peterson R.E, Theobald H.M, and Kimmel G.L, (1993). Developmental and reproductive toxicity of dioxins and related compounds: cross-species comparisons. *Crit Rev Toxicol*, 23(3): p. 283-335.
144. Pelclova D, Urban P, Preiss J. et al, (2006). Adverse health effects in humans exposed to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD). *Rev Environ Health*, 21(2): p. 119-38.

145. Alaluusua S, Lukinmaa P.L, Torppa J. et al, (1999). Developing teeth as biomarker of dioxin exposure. *Lancet*, 353(9148): p. 206.
146. Ishihara K, Warita K, Tanida T. et al, (2007). Does paternal exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) affect the sex ratio of offspring? *J Vet Med Sci*, 69(4): p. 347-52.
147. Lawson C.C, Schnorr T.M, Whelan E.A. et al, (2004). Paternal occupational exposure to 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin and birth outcomes of offspring: birth weight, preterm delivery, and birth defects. *Environ Health Perspect*, 112(14): p. 1403-8.
148. Mocarelli P, Brambilla P, Gerthoux P.M. et al, (1996). Change in sex ratio with exposure to dioxin. *Lancet*, 348(9024): p. 409.
149. Murka A.J, Leglera J, Denison M.S et al, (1996). Chemical-Activated Luciferase Gene Expression (CALUX): A Novel in Vitro Bioassay for Ah Receptor Active Compounds in Sediments and Pore Water. *Fundamental and Applied Toxicology* 33(1): p. 149–160.
150. Valérie Vromman, Katleen Baert, Huig Vanderperren et al, (2012). Evaluation of the use of CALUX results for dioxins and dioxin-like PCBs analysis for quantitative human exposure assessments. *Food Control* 27: p. 314-321.
151. Tawara K, Honda R. N.M, and al e, (2003). Pretreatment procedure of dioxin analysis for a small volume of human breast milk. *Journal of Kanazawa Medical University*, 28: p. 17-25.
152. Tai P.T, Nishijo M, Kido T. et al, (2011). Dioxin concentrations in breast milk of Vietnamese nursing mothers: a survey four decades after the herbicide spraying. *Environ Sci Technol*, 45(15): p. 6625-32.
153. Van den Berg M, Birnbaum L, Denison M. et al, (2006). The (2005) World Health Organization re-evaluation of human and mammalian toxic equivalency factors for dioxins and dioxin-like compounds. *Toxicological Sciences*, 93: p. 223-241.

154. Fingerhut M.A, Sweeney MH, Patterson DG et al, (1989). Levels of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in the serum of U.S. chemical workers exposed to dioxin contaminated products: Interim results. *Chemosphere*, 19: p. 835-840.
155. Gregoraszcuk E.L, (2002). Dioxin exposure and porcine reproductive hormonal activity. *Cad Saude Publica*, 18(2): p. 453-62.
156. Augustowska K, Gregoraszcuk E.L, Milewicz T. et al, (2003). Effects of dioxin (2,3,7,8-TCDD) and PCDDs/PCDFs congeners mixture on steroidogenesis in human placenta tissue culture. *Endocr Regul*, 37(1): p. 11-9.
157. Li L.A. and Wang P.W, (2005). PCB126 induces differential changes in androgen, cortisol, and aldosterone biosynthesis in human adrenocortical H295R cells. *Toxicol Sci*, 85(1): p. 530-40.
158. Dang Duc Nhu T.K, Rie Naganuma, Hiroyuki Suzuki, Naoko Kuroda, Seijiro Honma, Pham The Tai, Shoko Maruzeni, Muneko Nishijo, Hideaki Nakagawa, Nguyen Ngoc Hung, Le Thi Hong Thom & Le Ke Son, (2010). Salivary cortisol and cortisone levels, and breast milk dioxin concentrations in Vietnamese primiparas. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 92(10): p. 1939-1952.
159. Dang Duc Nhu, Teruhiko Kido, Nguyen Ngoc Hung et al, (2011). Dioxin levels in the breast milk and estradiol and androgen levels in the saliva of Vietnamese primiparae. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 93(4): p. 824 — 838.
160. Yamashita K, Miyashiro Y, Maekubo H. et al, (2009). Development of highly sensitive quantification method for testosterone and dihydrotestosterone in human serum and prostate tissue by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Steroids*, 74(12): p. 920-6.

161. Yamashita K, Okuyama M, Watanabe Y. et al, (2007). Highly sensitive determination of estrone and estradiol in human serum by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Steroids*, 72(11-12): p. 819-27.
162. Higashi T, (2012). Salivary hormone measurement using LC/MS/MS: specific and patient-friendly tool for assessment of endocrine function. *Biol Pharm Bull*, 35(9): p. 1401-8.
163. Arai S, Miyashiro Y, Shibata Y. et al, (2010). New quantification method for estradiol in the prostatic tissues of benign prostatic hyperplasia using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Steroids*, 75(1): p. 13-9.
164. Matsui F, Koh E, Yamamoto K. et al, (2009). Liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) assay for simultaneous measurement of salivary testosterone and cortisol in healthy men for utilization in the diagnosis of late-onset hypogonadism in males. *Endocr J*, 56(9): p. 1083-93.
165. Schechter A, Cramer P, Boggess K. et al, (2001). Intake of dioxins and related compounds from food in the U.S. population. *J Toxicol Environ Health A*, 63(1): p. 1-18.
166. Dwernychuk L.W, T.M. Hung, T.C. Boivin et al, (2006). The Agent Orange dioxin issue in Vietnam: A manageable problem. *Organohalogen Compounds*, 68: p. 312-315.
167. Evaluation of contamination at the agent orange dioxin hot spot in Bien Hoa P.C.a.v, Viet Nam, (2009): Hatfield Consultants June 2009: 13-15.
168. Dwernychuk L.W, Cau H.D, Hatfield C.T. et al, (2002). Dioxin reservoirs in southern Viet Nam--a legacy of Agent Orange. *Chemosphere*, 47(2): p. 117-37.



169. Bộ Y tế, (2009) Hướng dẫn quốc gia về các dịch vụ chăm sóc sức khỏe sinh sản, Hà Nội.
170. Hue N.T, Nam V.D, Thuong N.V. et al, (2014). Determination of PCDD/Fs in breast milk of women living in the vicinities of Da Nang Agent Orange hot spot (Vietnam) and estimation of the infant's daily intake. *Sci Total Environ*, 491-492: p. 212-8.
171. Lorber M. andPhillips L, (2002). Infant exposure to dioxin-like compounds in breast milk. *Environ Health Perspect*, 110(6): p. A325-32.
172. Taylor P.R, Lawrence C.E, Hwang H.L. et al, (1984). Polychlorinated biphenyls: influence on birthweight and gestation. *Am J Public Health*, 74(10): p. 1153-4.
173. Taylor P.R, Stelma J.M, and Lawrence C.E, (1989). The relation of polychlorinated biphenyls to birth weight and gestational age in the offspring of occupationally exposed mothers. *Am J Epidemiol*, 129(2): p. 395-406.
174. Warner M, Mocarelli P, Samuels S. et al, (2011). Dioxin exposure and cancer risk in the Seveso Women's Health Study. *Environ Health Perspect*, 119(12): p. 1700-5.
175. Schechter A, Furst P, Furst C. et al, (1991). Dioxins, dibenzofurans and selected chlorinated organic compounds in humanmilk and blood from Cambodia, Germany, Thailand, The USA, the USSR, and Vietnam. *Chemosphere*, 23(11-12): p. 1903–1912.
176. Manh H.D, Kido T, Okamoto R. et al, (2014). Serum Dioxin Levels in Vietnamese Men more than 40 Years after Herbicide Spraying. *Environ Sci Technol*, 48(6): p. 3496-503.

177. Furst P, Kruger H, Meemken et al, (1989). PCDD and PCDF levels in human milk: Dependence on the period of lactation. *Chemosphere*, 18(439-444).
178. Beck H, Dross A, and Mathar W, (1994). PCDD and PCDF exposure and levels in humans in Germany. *Environ Health Perspect*, 102 Suppl 1: p. 173-85.
179. Weber L.W, Ernst S.W, Stahl B.U. et al, (1993). Tissue distribution and toxicokinetics of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in rats after intravenous injection. *Fundam Appl Toxicol*, 21(4): p. 523-34.
180. DiBartolomeis M.J, Williams C, and Jefcoate C.R, (1986). Inhibition of ACTH action on cultured bovine adrenal cortical cells by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin through a redistribution of cholesterol. *J Biol Chem*, 261(10): p. 4432-7.
181. Bestervelt L.L, Cai Y, Piper D.W. et al, (1993). TCDD alters pituitary-adrenal function. I: Adrenal responsiveness to exogenous ACTH. *Neurotoxicol Teratol*, 15(6): p. 365-7.
182. Slawik M, Reisch N, Zwermann O. et al, (2004). Characterization of an adrenocorticotropin (ACTH) receptor promoter polymorphism leading to decreased adrenal responsiveness to ACTH. *J Clin Endocrinol Metab*, 89(7): p. 3131-7.
183. O'Donnell A, Judson I, Dowsett M. et al, (2004). Hormonal impact of the 17alpha-hydroxylase/C(17,20)-lyase inhibitor abiraterone acetate (CB7630) in patients with prostate cancer. *Br J Cancer*, 90(12): p. 2317-25.
184. Heimler I, Rawlins R.G, Owen H. et al, (1998). Dioxin perturbs, in a dose- and time-dependent fashion, steroid secretion, and induces apoptosis of human luteinized granulosa cells. *Endocrinology*, 139(10): p. 4373-9.

185. Moran F.M, Conley A.J, Corbin C.J. et al, (2000). 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin decreases estradiol production without altering the enzyme activity of cytochrome P450 aromatase of human luteinized granulosa cells in vitro. *Biol Reprod*, 62(4): p. 1102-8.
186. Moran F.M, VandeVoort C.A, Overstreet J.W. et al, (2003). Molecular target of endocrine disruption in human luteinizing granulosa cells by 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin: inhibition of estradiol secretion due to decreased 17alpha-hydroxylase/17,20-lyase cytochrome P450 expression. *Endocrinology*, 144(2): p. 467-73.
187. Vining R.F, McGinley R.A, and Symons R.G, (1983). Hormones in saliva: mode of entry and consequent implications for clinical interpretation. *Clin Chem*, 29(10): p. 1752-6.
188. Nhu D.D, Kido T, Naganuma R et al, (2010). Salivary cortisol and cortisone levels, and breast milk dioxin concentrations in Vietnamese primiparae. *Toxicological and Environmental Chemistry*, 92: p. 1939-1959.
189. Kreuzer P.E, Csanady G.A, Baur C. et al, (1997). 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and congeners in infants. A toxicokinetic model of human lifetime body burden by TCDD with special emphasis on its uptake by nutrition. *Arch Toxicol*, 71(6): p. 383-400.
190. Nieschlag E, Loriaux D.L, Ruder H.J. et al, (1973). The secretion of dehydroepiandrosterone and dehydroepiandrosterone sulphate in man. *J Endocrinol*, 57(1): p. 123-34.
191. de Peretti E. and Forest M.G, (1978). Pattern of plasma dehydroepiandrosterone sulfate levels in humans from birth to adulthood: evidence for testicular production. *J Clin Endocrinol Metab*, 47(3): p. 572-7.

192. Rainey W.E, Carr B.R, Sasano H. et al, (2002). Dissecting human adrenal androgen production. *Trends Endocrinol Metab*, 13(6): p. 234-9.
193. Sewer M.B. and Waterman M.R, (2003). ACTH modulation of transcription factors responsible for steroid hydroxylase gene expression in the adrenal cortex. *Microsc Res Tech*, 61(3): p. 300-7.
194. Sun X.L, Kido T, Okamoto R. et al, (2014). Relationship between dioxin and steroid hormones in sera of Vietnamese men. *Biomarkers*, 19(3): p. 236-40.
195. Becker J.B, Arnold A.P, Berkley K.J. et al, (2005). Strategies and methods for research on sex differences in brain and behavior. *Endocrinology*, 146(4): p. 1650-73.
196. Thorp J.A, Jones P.G, Knox E. et al, (2002). Does antenatal corticosteroid therapy affect birth weight and head circumference? *Obstet Gynecol*, 99(1): p. 101-8.
197. Koppe J.G, Smolders-de Haas H, and Kloosterman G.J, (1977). Effects of glucocorticoids during pregnancy on the outcome of the children directly after birth and in the long run. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 7(5): p. 293-9.
198. Goedhart G, Vrijkotte T.G, Roseboom T.J. et al, (2010). Maternal cortisol and offspring birthweight: results from a large prospective cohort study. *Psychoneuroendocrinology*, 35(5): p. 644-52.
199. Welberg L.A, Seckl J.R, and Holmes M.C, (2000). Inhibition of 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase, the foeto-placental barrier to maternal glucocorticoids, permanently programs amygdala GR mRNA expression and anxiety-like behaviour in the offspring. *Eur J Neurosci*, 12(3): p. 1047-54.

200. Murphy B.E, Clark S.J, Donald I.R. et al, (1974). Conversion of maternal cortisol to cortisone during placental transfer to the human fetus. *Am J Obstet Gynecol*, 118(4): p. 538-41.
201. Reynolds R.M, (2013). Glucocorticoid excess and the developmental origins of disease: two decades of testing the hypothesis--2012 Curt Richter Award Winner. *Psychoneuroendocrinology*, 38(1): p. 1-11.
202. Moisiadis V.G. and Matthews S.G, (2014). Glucocorticoids and fetal programming part 1: Outcomes. *Nat Rev Endocrinol*, 10(7): p. 391-411.
203. Moisiadis V.G. and Matthews S.G, (2014). Glucocorticoids and fetal programming part 2: Mechanisms. *Nat Rev Endocrinol*, 10(7): p. 403-11.
204. Quissell D.O, (1993). Steroid hormone analysis in human saliva. *Ann N Y Acad Sci*, 694: p. 143-5.
205. Kim M.S, Lee Y.J, and Ahn R.S, (2010). Day-to-day differences in cortisol levels and molar cortisol-to-DHEA ratios among working individuals. *Yonsei Med J*, 51(2): p. 212-8.
206. Touitou Y, Auzéby A, Camus F. et al, (2009). Daily profiles of salivary and urinary melatonin and steroids in healthy prepubertal boys. *J Pediatr Endocrinol Metab*, 22(11): p. 1009-15.
207. Gerritsen L, Geerlings M.I, Beekman A.T. et al, (2010). Early and late life events and salivary cortisol in older persons. *Psychol Med*, 40(9): p. 1569-78.
208. Wudy SA, Hartmann M, and J H, (2002) Determination of 11-deoxycortisol (Reichstein's compound S) in human plasma by clinical isotope dilution mass spectrometry using benchtop gas chromatography-mass selective detection, in *Steroids 2002*. p. 851-857.
209. Chace D.H, (2009). Mass spectrometry in newborn and metabolic screening: historical perspective and future directions. *J Mass Spectrom*, 44(2): p. 163-70.

## LỜI CẢM ƠN

*Để hoàn thành chương trình nghiên cứu sinh và viết luận án này, em đã nhận được sự hướng dẫn, giúp đỡ nhiệt tình của quý thầy cô. Cho phép em xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc tới:*

*GS. TS. Teruhiko Kido, Trưởng Khoa Khoa học sức khỏe, Viện đào tạo Y dược và Khoa học sức khỏe, Trường Đại Học Kanazawa, thầy đã tận tình giúp đỡ, cho em kiến thức và kinh nghiệm, đồng thời hỗ trợ phương tiện kinh phí để đề tài được thực hiện.*

*TS. Đặng Đức Nhu, Khoa Y Dược, Đại học Quốc gia Hà Nội, thầy đã tận tình hướng dẫn giúp đỡ, động viên và tạo mọi điều kiện thuận lợi để em thực hiện đề tài và hoàn thành luận án.*

*PGS. TS. Phạm Thiện Ngọc, GS. TS. Tạ Thành Văn Bộ Môn Hóa sinh, Trường Đại học Y Hà Nội, thầy đã tận tình hướng dẫn, giúp đỡ và truyền thụ cho em những kiến thức quý báu để thực hiện đề tài.*

***Tôi xin trân trọng cảm ơn:***

*Ban Giám Hiệu, Phòng Đào tạo sau Đại học, Ban 10-80, tập thể Bộ môn Hóa sinh Trường Đại Học Y Hà Nội đã tạo điều kiện thuận lợi cho em trong suốt quá trình học tập tại trường.*

*Ban Giám Đốc, Khoa Sinh hóa Bệnh viện Việt Tiệp Hải Phòng đã luôn quan tâm ủng hộ, tạo điều kiện thuận lợi trong suốt quá trình học tập.*

*Trân trọng biết ơn sự chia sẻ, giúp đỡ và động viên sâu sắc của gia đình, bạn bè và đồng nghiệp.*

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi xin cam đoan đây là công trình nghiên cứu của tôi. Các số liệu, kết quả nêu trong luận án là trung thực, do tôi thực hiện và chưa từng được ai công bố trong bất kỳ một công trình nghiên cứu nào khác.

**Đào Văn Tùng**

## DANH MỤC VÀ KÝ HIỆU CÁC CHỮ VIẾT TẮT

ACTH	: Adrenocorticotropic Hormone Kích tố vỏ thượng thận
Adion	: Androtenedion
AND	: Acid Deoxyribo Nucleic
AhR	: Aryl hydrocarbon Receptor Thụ thể Aryl hydrocarbon
ARN	: Acid Ribonucleic
mARN	: messenger Acid Ribonucleic
IARC	: International Agency for Research on Cancer Cơ quan nghiên cứu Quốc tế về ung thư
CAH	: Congenital Adrenal Hyperplasia Tăng sản thượng thận bẩm sinh
CDC	: Centers for Disease Control and Prevention Trung tâm kiểm soát và phòng ngừa dịch bệnh Hoa Kỳ
CLIA	: Chemiluminescent Immuno Assay Xét nghiệm miễn dịch hóa phát quang
DDI	: Daily Dioxin Intake Lượng dioxin tiêu thụ hàng ngày
DHEA	: Dehydroepiandrosteron
DHEA-S	: Dehydroepiandrosterone Sulfate
DR CALUX	: Dioxin Response Chemically Activated Luciferase gene Expression Kỹ thuật cảm biến sinh học tế bào để định lượng dioxin
E1	: Estron
E2	: Estradiol
ECL	: Electrode Chemi Luminescence Kỹ thuật điện hóa phát quang



EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor Thụ thể phát triển biểu bì
ELISA	: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay Kỹ thuật miễn dịch enzym
FIA	: Fluoroimmunoassay Xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang
FSH	: Follicle-Stimulating Hormone Kích thích tổ nang trứng
3 $\beta$ -HSD	: 3 $\beta$ hydroxysteroid dehydrogenase
17 $\beta$ -HSD	: 17 $\beta$ -hydroxysteroid dehydrogenase
HRGC/HRMS	: High-resolution gas chromatography/high-resolution mass Hệ thống sắc ký khí khối phổ có độ phân giải cao
IL	: Interleukin
IOM	: Institute of Medicine Viện hàn lâm Khoa học Hoa Kỳ
LC-MS/MS	: Liquid Chromatography–Mass Spectrometry- Mass Spectrometry Hệ thống sắc ký lỏng khối phổ song song
LH	: Luteinizing Hormone Kích thích tổ thể vàng
NIOSH	: National Institute for Occupational Safety and Health Viện nghiên cứu Sức khỏe và Bảo hộ lao động Hoa Kỳ
P <sub>450</sub> SCC	: Men tách chuỗi bên cholesterol (CYP11A1)
P <sub>450</sub> C11 $\beta$	: 11 $\beta$ - Hydroxylase (CYP11B1)
P <sub>450</sub> C11AS	: Aldosteron Synthetase (CYP11B2)
P <sub>450</sub> C17	: 17 $\alpha$ -Hydroxylase (CYP17)
P <sub>450</sub> C19 $\beta$	: 11 $\beta$ - Hydroxylase (CYP19A1)
P <sub>450</sub> C21	: 21 $\beta$ - Hydroxylase (CYP21A2)
RIA	: Radioimmunoassay kỹ thuật miễn dịch phóng xạ

SECA	: The Southern Early Childhood Association
TEQ	: Toxic Equivalent
TEFs	: Toxic Equivalency Factor
T <sub>4</sub>	: Thyroxin
T <sub>3</sub>	: Triiodothyronin
TCDD	: 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-para-dioxin
TCDF	: 2,3,7,8-tetrachlorodibenzofuran
TNF	: Tumor Necrosis Factor cytokine thuộc yếu tố gây hoại tử
PCBs	: Polychlorinate biphenyls.
PCDD	: Polychlorinated dibenzo-para-dioxins
PCDFs	: Polychlorinated dibenzofuran
ppt	: parts-per-trillion Một phần nghìn tỷ
WHO	: World Health Organization Tổ chức Y tế Thế giới
U.S EPA	: United States Environmental Protection Agency Cơ quan bảo vệ môi trường Hoa Kỳ
PGHS-2	: Prostaglandin-Encoperoxide H <sub>2</sub> synthase-2

# MỤC LỤC

<b>Trang phụ bìa</b>	
<b>Lời cảm ơn</b>	
<b>Lời cam đoan</b>	
<b>Danh mục chữ viết tắt</b>	
<b>Mục lục</b>	
<b>Danh mục các bảng</b>	
<b>Danh mục các biểu đồ</b>	
<b>Danh mục các hình</b>	
<b>ĐẶT VẤN ĐỀ.....</b>	<b>1</b>
<b>CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....</b>	<b>3</b>
1.1. Hormon steroid.....	3
1.1.1. Đại cương hormon steroid.....	3
1.1.2. Các loại hormon steroid.....	4
1.1.3. Tổng hợp hormon steroid.....	7
1.1.4. Tác dụng sinh học.....	9
1.1.5. Một số phương pháp định lượng hormon steroid.....	11
1.2. Chất độc da cam/dioxin.....	17
1.2.1. Công thức hóa học.....	18
1.2.2. Tính chất lý học, hóa học của dioxin.....	19
1.2.3. Các nguồn ô nhiễm.....	21
1.2.4. Chuyển hóa và bài tiết.....	22
1.2.5. Cơ chế tác động.....	24
1.2.6. Lịch sử ô nhiễm dioxin ở Việt Nam.....	27
1.2.7. Ảnh hưởng của dioxin đối với sức khỏe con người.....	28
1.2.8. Một số phương pháp định lượng dioxin.....	39
<b>CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>43</b>
2.1. Khu vực nghiên cứu.....	43
2.2. Đối tượng nghiên cứu.....	44

2.2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn .....	46
2.2.2. Tiêu chuẩn loại trừ .....	46
2.3. Phương pháp nghiên cứu .....	46
2.4. Các quy trình và kỹ thuật nghiên cứu .....	46
2.4.1. Quy trình lấy mẫu.....	46
2.4.2. Kỹ thuật định lượng dioxin trong sữa .....	50
2.4.3. Kỹ thuật định lượng hormon steroid bằng kỹ thuật sắc ký lỏng khối phổ kép.....	52
2.5. Ước tính lượng dioxin hấp thụ hàng ngày ở trẻ bú sữa mẹ.....	55
2.6. Địa điểm phân tích .....	55
2.7. Xử lý số liệu nghiên cứu.....	56
2.8. Đạo đức nghiên cứu.....	57
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>58</b>
3.1. Đặc điểm chung.....	58
3.1.1. Đặc điểm chung của mẹ.....	58
3.1.2. Đặc điểm chung của con.....	59
3.2. Nồng độ dioxin trong sữa mẹ .....	61
3.3. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt .....	67
3.3.1. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi .....	67
3.3.2. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú .....	70
3.3.3. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của trẻ tại thời điểm 3 tuổi ....	73
3.4. Nồng độ hormon steroid trong sữa và huyết thanh của mẹ .....	75
3.4.1. Nồng độ hormon steroid trong sữa mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi .....	75
3.4.2. Nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú .....	77

3.5. Tỷ lệ nồng độ hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh của mẹ sau một năm cho con bú .....	80
3.6. Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid .....	82
3.6.1. Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong nước bọt.....	82
3.6.2. Mối tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid trong sữa và huyết thanh của mẹ .....	85
3.7. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt với hormon steroid trong sữa và huyết thanh .....	87
3.7.1. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ với hormon steroid trong sữa tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi.....	87
3.7.2. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ với hormon steroid trong huyết thanh tại thời điểm sau một năm cho con bú .....	88
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>89</b>
4.1. Đặc điểm chung.....	89
4.1.1. Đặc điểm của khu vực nghiên cứu.....	89
4.1.2. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu .....	90
4.2. Nồng độ dioxin trong sữa mẹ .....	92
4.3. Mô hình đáp ứng liều giữa dioxin và hormon steroid .....	94
4.4. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt.....	98
4.4.1. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của mẹ.....	98
4.4.2. Nồng độ hormon steroid trong nước bọt của con.....	101
4.4. Nồng độ hormon steroid trong sữa và huyết thanh của mẹ .....	106
4.4.1. Nồng độ hormon steroid trong sữa mẹ tại thời điểm con từ 4 đến 16 tuần tuổi .....	106
4.4.2. Nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ tại thời điểm sau một năm cho con bú .....	107

4.5. Tỷ lệ nồng độ hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh của người mẹ sau một năm cho con bú .....	108
4.6. Mối liên quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ hormon steroid....	110
4.7. Mối liên quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với chỉ số cơ thể trẻ .....	113
4.8. Mối tương quan giữa nồng độ hormon steroid trong nước bọt với hormon steroid trong sữa và huyết thanh .....	117
<b>KẾT LUẬN.....</b>	<b>120</b>
<b>KIẾN NGHỊ.....</b>	<b>123</b>
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1.	Đặc điểm của những người mẹ ở khu vực nghiên cứu .....	58
Bảng 3.2.	Đặc điểm của trẻ tại các thời điểm nghiên cứu .....	59
Bảng 3.3.	Cân nặng lúc sinh của trẻ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	60
Bảng 3.4.	So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDDs trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát .....	61
Bảng 3.5.	So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDFs trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát .....	62
Bảng 3.6.	So sánh nồng độ tổng số các đồng phân dioxin trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát .....	63
Bảng 3.7.	So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDDs trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ .....	64
Bảng 3.8.	So sánh nồng độ các đồng phân dioxin nhóm PCDFs trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ .....	65
Bảng 3.9.	So sánh nồng độ tổng số các đồng phân dioxin trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng và con thứ .....	66
Bảng 3.10.	So sánh nồng độ các hormon steroid trong nước bọt của những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát .....	67
Bảng 3.11.	So sánh nồng độ các hormon steroid trong nước bọt những người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát.....	68
Bảng 3.12.	So sánh nồng độ các hormon steroid trong nước bọt những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	69
Bảng 3.13.	So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt của những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát .....	70
Bảng 3.14.	So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát.....	71
Bảng 3.15.	So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	72
Bảng 3.16.	So sánh nồng độ hormon steroid trong nước bọt của trẻ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	73

Bảng 3.17. So sánh nồng độ hormon trong nước bọt của trẻ là con đầu lòng, con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát .....	73
Bảng 3.18. So sánh nồng độ hormon trong nước bọt của trẻ trai, trẻ gái ở Kim Bảng và Phù Cát.....	74
Bảng 3.19. So sánh nồng độ hormon steroid trong sữa những người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	75
Bảng 3.20. So sánh nồng độ hormon steroid trong sữa những người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát.....	76
Bảng 3.21. So sánh nồng độ các hormon steroid trong sữa những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	76
Bảng 3.22. So sánh nồng độ hormon steroid trong huyết thanh của mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	77
Bảng 3.23. So sánh nồng độ hormon steroid trong huyết thanh người mẹ sinh con đầu lòng ở Kim Bảng và Phù Cát.....	78
Bảng 3.24. So sánh nồng độ hormon steroid trong huyết thanh những người mẹ sinh con thứ ở Kim Bảng và Phù Cát.....	79
Bảng 3.25. So sánh tỷ lệ nồng độ các hormon steroid trong nước bọt và huyết thanh của mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát tại thời điểm sau một năm cho con bú.....	80



## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Mức độ dioxin trong sữa mẹ ở các khu vực nghiên cứu.....	63
Biểu đồ 3.2.	Mức độ dioxin trong sữa của những người mẹ sinh con đầu lòng và sinh con thứ. ....	66
Biểu đồ 3.3.	Nồng độ hormon cortisol (A) và cortison (B) của người mẹ ở Kim Bảng và Phù Cát tại các thời điểm .....	81
Biểu đồ 3.4.	Tương quan giữa tổng đồng phân PCDDs+PCDFs với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong nước bọt của người mẹ sinh con đầu lòng.....	82
Biểu đồ 3.5.	Tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong nước bọt của mẹ.....	83
Biểu đồ 3.6.	Tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ cortisol (A), cortison (B) và DHEA (C) trong nước bọt của con.....	84
Biểu đồ 3.7.	Tương quan giữa tổng đồng phân PCDDs+PCDFs với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong sữa của mẹ.....	85
Biểu đồ 3.8.	Tương quan giữa nồng độ dioxin trong sữa mẹ với nồng độ cortisol (A) và cortison (B) trong huyết thanh của mẹ. ....	86
Biểu đồ 3.9.	Mối tương quan giữa nồng độ cortisol (A), cortisol (B), androstenedion (C) và estradiol (D) trong sữa và trong nước bọt. ..	87
Biểu đồ 3.10.	Mối tương quan giữa nồng độ cortisol (A), cortisol (B), DHEA (C), androstenedion (D), estron (E) và estradiol (F) trong huyết thanh và trong nước bọt.....	88

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Cấu trúc nhân steroid .....	3
Hình 1.2. Cấu trúc hóa học của cortisol .....	4
Hình 1.3. Sơ đồ tổng hợp các hormon steroid.....	9
Hình 1.4. Cấu trúc hóa học của dibenzo-para-dioxin.....	18
Hình 1.5. Cấu trúc hóa học của PCDD .....	19
Hình 1.6. Hoạt động của thụ thể AhR và tương tác với dioxin trong tế bào .....	24
Hình 1.7. Máy bay Mỹ rải chất da cam xuống lãnh thổ Việt Nam trong chiến dịch Ranch Hand .....	27
Hình 1.8. Tập kết chất da cam/dioxin trước khi đưa đi phun rải trong những năm từ 1961 – 1972.....	28
Hình 2.1. Địa điểm lấy mẫu nghiên cứu.....	43
Hình 2.2. Sơ đồ thiết kế nghiên cứu .....	45
Hình 2.3. Hình ảnh cân và đo các chỉ số cơ thể trẻ .....	47
Hình 2.4. Hướng dẫn đo các chỉ số cơ thể trẻ lớn .....	49
Hình 2.5. Sơ đồ quy trình phân tích dioxin trong sữa .....	50
Hình 2.6. Sơ đồ quy trình phân tích hormon trong huyết thanh và nước bọt .....	55
Hình 4.1. Sơ đồ tổng hợp steroid hormon.....	96
Hình 4.2. Mức độ lưu hành DHEA trong cơ thể.....	104
Hình 4.3. Ảnh hưởng của dioxin đối với enzym CYP17.....	105
Hình 4.4. Vai trò của enzym 11Beta-hydroxysteroid dehydrogenase typ 1 của nhau thai . .....	116

**3,24,27,28,62,65,80-87,101**

**1-2,4-23,25-26,29-61,63-64,66-79,88-100,102-157**