

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



LÊ THỊ THU HƯƠNG

**NGHIÊN CỨU  
BIẾN ĐỔI MỘT SỐ TẾ BÀO VIÊM VÀ  
CYTOKINE TRONG MÁU NGOẠI VI  
Ở TRẺ HEN PHẾ QUẢN**

Chuyên ngành : Nhi khoa

Mã số : 62720135

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

*Người hướng dẫn khoa học:*

**PGS.TS. NGUYỄN THỊ DIỆU THÚY**

**HÀ NỘI - 2017**

## LỜI CẢM ƠN

Trước tiên, tôi xin bày tỏ lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc tới PGS.TS. Nguyễn Thị Diệu Thuý người thầy đã hết lòng dìu dắt tôi từ những bước đầu tiên trong công tác và nghiên cứu. Những người thầy tận tình, nghiêm khắc hướng dẫn tôi thực hiện đề tài, giúp tôi giải quyết nhiều khó khăn vướng mắc trong quá trình thực hiện luận án, đóng góp cũng như tạo mọi điều kiện thuận lợi để giúp tôi hoàn thành luận án này.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn chân thành đến toàn thể các bác sỹ, điều dưỡng Khoa Dị Ứng Miễn Dịch Khớp, Khoa Sinh Hoá, Khoa Xét Nghiệm Huyết Học, Khoa Ngân Hàng Máu Bệnh viện Nhi Trung ương, Bộ Môn Miễn Dịch Học Viện Quân Y đã giúp đỡ tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

**Tôi cũng xin được bày tỏ lời cảm ơn chân thành tới:**

- Các Thầy Cô Bộ môn Nhi Trường Đại học Y Hà Nội. Các thầy cô đã nhiệt tình dạy bảo, giúp đỡ tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Đảng ủy, Ban Giám đốc cùng các khoa phòng của Bệnh viện Nhi Trung ương, đã tạo mọi điều kiện thuận lợi giúp đỡ tôi công tác, học tập, thực hiện nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Đảng ủy, Ban Giám hiệu, phòng Đào tạo Sau đại học trường Đại học Y Hà Nội, đã giúp đỡ và tạo điều kiện thuận lợi để tôi học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Những bệnh nhân và người nhà bệnh nhân đã giúp tôi thực hiện nghiên cứu và cung cấp cho tôi những số liệu vô cùng quý giá để tôi hoàn thành luận án.

Cuối cùng, xin cảm ơn Bố, Mẹ đã sinh dưỡng và là nguồn động viên to lớn cổ vũ tôi học tập, phấn đấu. Cảm ơn chồng và hai con thân yêu cùng các anh, chị, em trong hai gia đình, bạn bè đã động viên, giúp đỡ và là chỗ dựa vô cùng to lớn cả về vật chất lẫn tinh thần để tôi thực hiện và hoàn thành luận án.

Hà Nội, ngày 08 tháng 12 năm 2016.

**Tác giả luận án**

**Lê Thị Thu Hương**

## **LỜI CAM ĐOAN**

Tôi là Lê Thị Thu Hương, nghiên cứu sinh khóa 32 trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Nhi, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của PGS.TS Nguyễn Thị Diệu Thúy
2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.
3. Tôi xin cam đoan các số liệu được sử dụng trong luận án này là trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật với những cam kết này.

*Hà Nội, ngày 08 tháng 12 năm 2016*

**Tác giả**

**Lê Thị Thu Hương**

## CÁC CHỮ VIẾT TẮT

AMPC	: Adenosine monophosphate cyclic
CD	: Cluster Of Differentiation
EIB	: Exercise induced bronchoconstriction – co thắt phế quản do gắng sức
EPR	: Expert Panel Report 3 (EPR-3)
FEV1	: Force expiratory volume in the first second - thể tích khí thở ra tối đa trong giây đầu tiên
FVC	: Forced vital capacity – dung tích sống tối đa
GINA	: Global Initiative for Asthma – chương trình toàn cầu phòng chống hen
GM-CSF	: granulocyte macrophage colony – stimulating factor – yếu tố kích thích dòng tế bào hạt
HPQ	: Hen phế quản
ICS	: Inhaler corticosteroid – corticosteroid dạng hít.
IFN	: Interferon
IL	: Interleukine
LABA	: Long active $\beta_2$ agonist – thuốc kích thích $\beta_2$ tác dụng kéo dài
LTRA	: Leucotriene receptor antagonist – kháng leukotriene
MAPK	: mitogen activated protein kinase
MHC	: Major Histocompatibility Complex – phức hợp hoà hợp mô
NF- $\kappa$ B	: Nuclear factor $\kappa$ B – yếu tố nhân $\kappa$ B
NHLBI	: National Heart Lung and Blood Institute – Viện nghiên cứu bệnh máu phổi tim quốc gia.
NK	: Natural Killer – tế bào diệt tự nhiên.

NSAID	: Non steroid anti inflammation drug – thuốc kháng viêm non steroid
RSV	: Respiratory syncytial virus – Virus hợp bào hô hấp
RT-PCR	: Real time Polymerase chain reaction – phản ứng khuếch đại chuỗi.
RV	: Rhinovirus
SABA	: Short active $\beta$ 2 agonist - thuốc kích thích $\beta$ 2 tác dụng ngắn.
SCF	: Stem cell factor – yếu tố tế bào mầm
SYK	: Spleen tyrosinekinase
TGF	: Transform Growth Factor – yếu tố phát triển chuyển dạng
Th	: T helper – T giúp đỡ
TLR	: Toll Like Receptor
TNF	: tumor necrosis factor – yếu tố hoại tử u
VC	: Vital capacity – dung tích sống
VKMDU	: Viêm kết mạc dị ứng
VMDU	: Viêm mũi dị ứng
WHO	: World Health Organization – tổ chức y tế thế giới

# MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ.....	1
CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN.....	3
1.1. Định nghĩa hen phế quản .....	3
1.2. Định nghĩa các triệu chứng khác .....	4
1.2.1. Khò khè .....	4
1.2.2. Tăng đáp ứng đường thở .....	4
1.2.3. Dị ứng.....	4
1.3. Dịch tế học hen phế quản.....	4
1.3.1. Tần suất hen phế quản ở trẻ hen.....	4
1.3.2. Tỷ lệ tử vong .....	5
1.4. Cơ chế bệnh sinh của hen phế quản.....	6
1.4.1. Quá mẫn và hen phế quản .....	6
1.4.2. Nhiễm virus và hen phế quản.....	6
1.4.3. Cơ chế bệnh sinh của hen phế quản .....	8
1.5. Quá trình biệt hóa tế bào miễn dịch.....	10
1.5.1. Quá trình biệt hóa tế bào lympho T .....	11
1.5.2. Quá trình biệt hóa tế bào lympho B .....	13
1.6. Cytokine.....	13
1.7. Vai trò cytokine trong hen phế quản .....	18
1.8. Điều trị hen phế quản.....	21
1.8.1. Nguyên tắc điều trị .....	21
1.8.2. Vai trò các cytokine trong chẩn đoán và điều trị hen theo sinh bệnh học.....	23
1.8.3. Ứng dụng cytokine trong điều trị hen phế quản.....	24
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....	28
2.1. Đối tượng nghiên cứu .....	28
2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân.....	28
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ .....	28
2.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán hen phế quản.....	28
2.2.1. Chẩn hen phế quản ở trẻ trên 5 tuổi .....	28
2.2.2. Chẩn đoán hen phế quản ở trẻ dưới 5 tuổi .....	30

2.3. Chẩn đoán cơn hen cấp .....	31
2.4. Chẩn đoán mức độ nặng của cơn hen phế quản cấp.....	32
2.5. Phương pháp nghiên cứu .....	34
2.5.1. Thiết kế nghiên cứu.....	34
2.5.2. Cỡ mẫu nghiên cứu .....	34
2.5.3. Quy trình nghiên cứu.....	34
2.5.4. Các chỉ số nghiên cứu .....	44
2.6. Địa điểm và thời gian nghiên cứu.....	45
2.7. Phân tích và xử lý số liệu.....	45
2.8. Vấn đề y đức .....	46
<b>CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU</b> .....	<b>48</b>
3.1. Đặc điểm chung trẻ hen phế quản điều trị tại khoa Miễn dịch- dị ứng, bệnh viện Nhi Trung ương.....	48
3.1.1. Phân bố bệnh nhân theo tuổi, giới.....	48
3.1.2. Tiền sử.....	49
3.1.3. Tỷ lệ trẻ HPQ nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.....	50
3.1.4. Độ nặng của cơn hen cấp .....	51
3.1.5. Mối tương quan giữa độ nặng cơn hen với tình trạng nhiễm Rhinovirus.....	51
3.2. Biến đổi tế bào viêm trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản.....	52
3.2.1. Công thức bạch cầu ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp .....	52
3.2.2. Số lượng tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+ trong cơn hen cấp.....	52
3.2.3. Mối tương quan giữa số lượng tế bào LYMPHO T với độ nặng cơn hen.....	53
3.2.4. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với độ nặng cơn hen cấp. ....	54
3.2.5. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với độ nặng cơn hen cấp .....	55
3.2.6. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với độ nặng cơn hen.....	55
3.2.7. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.....	56
3.3. Biến đổi cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp. ....	57
3.3.1. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp .....	57

3.3.2. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen phế quản. ....	58
3.3.3. Nồng độ các cytokine khác trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản .....	59
3.3.4. So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 ở trẻ hen phế quản trong cơn, sau cơn và trẻ khoẻ mạnh .....	59
3.3.5. So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 ở trẻ hen phế quản trong cơn, sau cơn hen và trẻ khoẻ mạnh .....	60
3.3.6. So sánh nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 ở trẻ trong cơn, sau cơn hen phế quản và trẻ khoẻ mạnh .....	61
3.3.7. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus.....	62
3.3.8. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus.....	63
3.3.9. Nồng độ các cytokine (IL-10, IL-6, IL-8) khác ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus.....	64
3.3.10. So sánh nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus và không nhiễm Rhinovirus. ....	64
3.3.11. So sánh nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus và không nhiễm Rhinovirus .....	65
3.3.12. So sánh các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 trong nhóm nhiễm Rhinovirus và nhóm không nhiễm Rhinovirus.....	66
3.3.13. So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 với mức độ nặng của cơn hen cấp .....	66
3.3.14. So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 với mức độ nặng của cơn hen cấp .....	67
3.3.15. So sánh các cytokine thuộc nhóm IL-10, IL-6, IL-8 với độ nặng cơn hen cấp .....	68
3.3.16. Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th2 với mức độ nặng cơn hen cấp ở trẻ nhiễm Rhinovirus .....	68
3.3.17. Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th1 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus .....	69
3.3.18. Mối liên quan giữa các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus. ....	70



3.3.19. Thời gian nằm viện theo mức độ nặng cơn hen cấp .....	71
3.3.20. So sánh các cytokine thuộc tế bào Th2 với thời gian nằm viện...	71
3.3.21. So sánh các cytokine thuộc nhóm Th1 với thời gian nằm viện ...	72
3.4. So sánh sự biến đổi cytokine trong máu ngoại vi trong và sau cơn hen cấp .....	73
3.4.1. Biến đổi nồng độ các cytokine trong và sau cơn hen cấp .....	73
3.4.2. Biến đổi nồng độ các cytokine trong và sau cơn hen ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus.....	75
<b>CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....</b>	<b>78</b>
4.1. Đặc điểm bệnh nhân hen phế quản điều trị tại Khoa Miễn dịch - Dị ứng - Khớp Bệnh Viện nhi trung ương .....	78
4.1.1. Tuổi .....	78
4.1.2. Giới.....	78
4.1.3. Tiền sử dị ứng.....	79
4.1.4. Nhiễm virus trong cơn hen cấp .....	80
4.2. Đặc điểm tế bào viêm của bệnh nhân trong cơn hen phế quản cấp .....	81
4.2.1. Biến đổi bạch cầu trong máu ngoại vi trong cơn hen cấp.....	81
4.2.2. Giá trị tế bào T CD3+, T CD4+, T CD8+ .....	85
4.2.3. Biến đổi số lượng bạch cầu trong máu ở trẻ hen phế quản nhiễm Rhinovirus.....	85
4.3. Biến đổi cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp .....	87
4.3.1. Sự biến đổi các cytokine liên quan đến tế bào Th2 .....	87
4.3.2. Sự biến đổi các cytokine liên quan đến tế bào Th1 .....	91
4.3.3. Sự biến đổi các cytokine khác.....	94
4.3.4. Sự biến đổi các cytokine ở trẻ hen phế quản nhiễm Rhinovirus....	98
4.3.5. Mối liên quan giữa nồng độ các cytokine với độ nặng cơn hen cấp....	101
4.4. So sánh giá trị cytokine trong máu ngoại vi trong và sau cơn hen cấp .....	104
<b>KẾT LUẬN .....</b>	<b>105</b>
<b>KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>107</b>
<b>DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN</b>	
<b>TÀI LIỆU THAM KHẢO</b>	
<b>PHỤ LỤC</b>	

## DANH MỤC BẢNG

Bảng 3.1.	Tiền sử gia đình .....	49
Bảng 3.2.	Tiền sử bản thân.....	49
Bảng 3.3.	Mối tương quan giữa độ nặng cơn hen cấp với tình trạng nhiễm Rhinovirus.....	51
Bảng 3.4.	Số lượng bạch cầu ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp.....	52
Bảng 3.5.	Số lượng tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+ trong cơn hen cấp ...	52
Bảng 3.6.	Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD3+ với độ nặng cơn hen cấp .....	53
Bảng 3.7.	Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD4+ với độ nặng cơn hen cấp .....	53
Bảng 3.8.	Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD8+ với độ nặng cơn hen cấp .....	54
Bảng 3.9.	Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với độ nặng cơn hen cấp...	54
Bảng 3.10.	Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với độ nặng của cơn hen cấp.....	55
Bảng 3.11.	Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với độ nặng của cơn hen cấp .....	55
Bảng 3.12.	Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với tình trạng nhiễm Rhinovirus.....	56
Bảng 3.13.	Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp .....	56
Bảng 3.14.	Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.....	57
Bảng 3.15.	Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản.....	58
Bảng 3.16.	Nồng độ các cytokine khác trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản..	59
Bảng 3.17.	So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 trong cơn hen, sau cơn hen và trẻ khỏe mạnh.....	60

Bảng 3.18.	Nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 ở trẻ trong cơn, sau cơn hen và trẻ khoẻ mạnh.....	61
Bảng 3.19.	Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus.....	63
Bảng 3.20.	Nồng độ các cytokine khác ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus.....	64
Bảng 3.21.	Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.....	65
Bảng 3.22.	Nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 trong nhóm nhiễm Rhinovirus và nhóm không nhiễm Rhinovirus.....	66
Bảng 3.23.	So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 với mức độ nặng của cơn hen cấp.....	67
Bảng 3.24.	So sánh các cytokine thuộc nhóm IL-10, IL-6, IL-8 với độ nặng cơn hen cấp.....	68
Bảng 3.25.	Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th1 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus.....	69
Bảng 3.26.	Mối liên quan giữa các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 với mức độ nặng của cơn hen cấp ở trẻ có nhiễm Rhinovirus.....	70
Bảng 3.27.	So sánh thời gian nằm viện với mức độ nặng cơn hen cấp.....	71
Bảng 3.28.	So sánh các cytokine thuộc nhóm Th1 với thời gian nằm viện..	72
Bảng 3.30.	Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 trong và sau cơn hen.....	74
Bảng 3.31.	Biến đổi nồng độ các cytokine khác trong và sau cơn hen.....	75
Bảng 3.32.	Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm Th1 trong và sau cơn hen cấp ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus. ....	76
Bảng 3.33.	Biến đổi nồng độ các cytokine khác trong và sau cơn hen cấp ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus.....	77

## DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1:	Phân bố bệnh nhân theo tuổi.....	48
Biểu đồ 3.2:	Phân bố bệnh nhân theo giới.....	49
Biểu đồ 3.3.	Tỷ lệ trẻ HPQ nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp .....	50
Biểu đồ 3.4.	Tỷ lệ trẻ HPQ nhiễm Rhinovirus theo nhóm tuổi.....	50
Biểu đồ 3.5.	Phân loại độ nặng cơn hen cấp .....	51
Biểu đồ 3.6.	Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp .....	57
Biểu đồ 3.7.	Nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong cơn hen, sau cơn hen và trẻ khoẻ mạnh.....	59
Biểu đồ 3.8.	Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus.....	62
Biểu đồ 3.9.	So sánh nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp .....	64
Biểu đồ 3.10.	So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 với mức độ nặng của cơn hen cấp.....	66
Biểu đồ 3.11.	Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th2 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus .....	68
Biểu đồ 3.12.	So sánh các cytokine thuộc tế bào Th2 với thời gian nằm viện....	71
Biểu đồ 3.13.	Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong và sau cơn hen cấp.....	73
Biểu đồ 3.14.	Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong và sau cơn hen ở bệnh nhân hen nhiễm Rhinovirus.....	75

## DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1: Các tế bào và chất trung gian tham gia phản ứng viêm trong hen phế quản .....	9
Hình 1.2: Sự biệt hoá của các dòng tế bào .....	11
Hình 1.3: Quá trình biệt hoá tế bào lympho T .....	11
Hình 1.4: Quá trình biệt hoá tế bào Th0.....	16
Hình 1.5: Sự tương tác Th1 và Th2.....	17
Hình 1.6: Cơ chế bệnh sinh của hen phế quản .....	19
Hình 1.7: Thuốc kháng cytokine trong hen phế quản .....	23
Hình 1.8: Thuốc kháng cytokine trong hen phế quản .....	25
Hình 2.1: Nguyên lý phát hiện đồng thời nhiều cytokine .....	39
Hình 2.2. Ảnh mẫu dương tính của Rhinovirus .....	42

## ĐẶT VẤN ĐỀ

Hen phế quản (HPQ) là một trong những bệnh lý hô hấp phổ biến nhất ở trẻ. Tỷ lệ HPQ ở trẻ em có xu hướng ngày một gia tăng. Các khái niệm về sinh bệnh học hen đã và đang tiếp tục nghiên cứu vì đặc tính bệnh học khác nhau giữa các cá thể, cũng như mối liên quan giữa kiểu hình lâm sàng với kiểu gen.

Hen phế quản là bệnh viêm mạn tính đường thở, bệnh gặp ở mọi lứa tuổi. Viêm đường hô hấp trong hen phế quản được điều hòa bởi mạng lưới tương tác giữa các cytokine. Cytokine là trung tâm của hầu hết các giai đoạn trong đáp ứng miễn dịch với các dị nguyên và duy trì tình trạng viêm tại đường thở [1].

Trong giai đoạn mãn cảm của bệnh lý dị ứng, các tế bào T helper 0 (Th0) có xu hướng chuyển dạng thành tế bào T helper 2 (Th2), với Interleukin 4 (IL-4) đóng vai trò chủ yếu trong quá trình biệt hóa này [2]. IL-4 và IL-13 cũng tác động đến tế bào lymphoB sản xuất các kháng thể đặc hiệu.

Giải phóng cytokine đóng vai trò quan trọng trong cả hai giai đoạn sớm và muộn của phản ứng dị ứng. Đáp ứng trong giai đoạn sớm, ngay sau tiếp xúc với dị nguyên kích thích giải phóng các cytokine gây phản ứng nhanh (IL-3, IL-4, IL-9, IL-13). Trong giai đoạn muộn, các cytokine được sản xuất từ tế bào Th2 và tế bào mast (IL-3, IL-5, GM-CSF) kích thích hoạt hóa bạch cầu ưa acid và hướng bạch cầu tới vị trí tiếp xúc với dị nguyên. Các cytokine (IL-5, IL-9, IL-13, TNF) còn có vai trò quan trọng làm tăng phản ứng viêm và tái cấu trúc đường thở, là đặc trưng của giai đoạn muộn của phản ứng viêm trong hen.

Cytokine được bài tiết bởi tế bào Th2 như IL-4 và IL-13 tương tác với các tế bào tại phổi, bao gồm tế bào biểu mô, myofibroblast và các tế bào cơ

tron, gây ra hiện tượng viêm trong HPQ [3-4]. Các cytokine này là nguyên nhân gây ra đặc điểm sinh bệnh học của HPQ bao gồm: viêm đường thở, tăng tiết nhầy, và tăng đáp ứng đường thở [4]. Các sản phẩm cytokine của tế bào Th2 chủ yếu có nguồn gốc từ tế bào TCD4+, nhưng một số nghiên cứu gần đây đã chứng minh tế bào TCD8+ cũng có thể bài tiết các cytokine của tế bào Th2 và do vậy cũng có vai trò viêm dị ứng và mãn cảm đường thở. Mặc dù hầu hết các nghiên cứu về hoạt động của mạng lưới cytokine và của tế bào lympho T ở bệnh hen đều cho thấy tăng điều hòa sản xuất các cytokine của tế bào Th2, các nghiên cứu gần đây giả định rằng tế bào Th1 bài tiết IFN- $\gamma$ , nhất là sau nhiễm virus hoặc vi khuẩn có thể gây viêm đường thở nặng [5-6].

Mặt khác, tế bào T điều hòa (Treg) có thể đóng vai trò chính trong kiểm soát tiến triển hen, vì chúng có thể ức chế hoạt động của tế bào Th2. Các nghiên cứu chỉ ra số lượng và chức năng các dưới nhóm IL-10 của tế bào Treg bị suy giảm hoặc thay đổi ở bệnh nhân HPQ so với người khỏe mạnh [7].

Ở Việt Nam cho đến nay vẫn chưa có nhiều nghiên cứu về biến đổi tế bào viêm và cytokine trong máu ngoại vi ở bệnh nhân HPQ. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài: ***“Nghiên cứu một số biến đổi tế bào viêm và cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản”*** với các mục tiêu sau:

- 1. Khảo sát sự biến đổi tế bào viêm trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp.*
- 2. Khảo sát sự biến đổi một số cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp.*
- 3. So sánh sự biến đổi cytokine trong máu ngoại vi trong và sau cơn hen cấp.*

## Chương 1

# TỔNG QUAN

### 1.1. Định nghĩa hen phế quản

Thuật ngữ hen “asthma” bắt nguồn từ tiếng Hy Lạp nghĩa là “gió - wind” hoặc “thổi - blow”, mô tả triệu chứng bao gồm khò khè, ho, nặng ngực, và khó thở liên quan đến thay đổi và phục hồi cấu trúc đường thở [8]. Tuy nhiên không có triệu chứng lâm sàng hoặc xét nghiệm đơn thuần nào giúp chẩn đoán xác định hen phế quản. Các nhà khoa học trên thế giới cố gắng đưa ra đồng thuận về định nghĩa hen mà có thể bao phủ được cả lâm sàng, dịch tễ học và sinh bệnh học của bệnh.

Các định nghĩa về HPQ được cập nhật hàng năm, năm 2008 hen được định nghĩa:

*“Hen là bệnh viêm đường thở mạn tính có sự tham gia của nhiều tế bào viêm. Viêm mạn tính liên quan đến tăng đáp ứng đường thở dẫn đến khò khè tái diễn, khó thở, nặng ngực, và ho, đặc biệt về đêm và sáng. Những đợt này thường liên quan tới những thay đổi về tắc nghẽn luồng khí trong phổi mà tắc nghẽn này có thể hồi phục hoặc tự phát hoặc do điều trị”*[9].

Năm 2016 GINA đưa ra định nghĩa:

*“Hen là bệnh không đồng nhất, thường có đặc điểm viêm đường thở mạn tính. Nó được xác định bởi tiền sử các triệu chứng về hô hấp như khò khè, khó thở, nặng ngực và ho thay đổi về thời gian và cường độ, cùng với giới hạn luồng khí thở ra giao động”* [10].



## **1.2. Định nghĩa các triệu chứng khác**

### ***1.2.1. Khò khè***

Khò khè là một triệu chứng lâm sàng quan trọng trong hen. Không khí đi qua đường thở bị hẹp gây ra khò khè. Khò khè chủ yếu do hẹp đường thở lớn, nhưng cũng có thể do hẹp đường thở nhỏ. Khò khè thường xuất phát từ đường thở lớn thậm chí cả khi bệnh chỉ tập trung ở đường thở nhỏ vì động học sức nén vào đường dẫn khí lớn do áp lực dương màng phổi được tạo ra để vượt qua kháng trở do tắc nghẽn đường thở nhỏ.

### ***1.2.2. Tăng đáp ứng đường thở***

Tăng đáp ứng đường thở được định nghĩa là tăng đáp ứng của đường thở với các kích thích đặc hiệu hoặc không đặc hiệu, dẫn đến co thắt đường thở. Tăng đáp ứng đường thở phổ biến ở bệnh nhân hen, nhưng có thể cũng gặp ở người khoẻ mạnh [11].

### ***1.2.3. Dị ứng***

Cơ địa dị ứng được xác định là cơ thể tăng sản xuất IgE khi tiếp xúc với dị nguyên. Dường như có mối quan hệ quan hệ chặt chẽ giữa cơ địa dị ứng và tăng đáp ứng đường thở, dù có hay không có triệu chứng hen. Cơ địa dị ứng có thể được đánh giá qua test lấy da với các dị nguyên đường hô hấp [12].

## **1.3. Dịch tễ học hen phế quản**

### ***1.3.1. Tần suất hen phế quản ở trẻ hen***

Hiện nay trên thế giới ước tính có khoảng 300 triệu người mắc hen. Theo các nghiên cứu quốc tế về hen và dị ứng ở trẻ em (ISAAC), tần suất hen ở trẻ giao động từ 3% đến 20% ở các nước khác nhau [12]. Các nước vùng cận nhiệt đới có tỷ lệ trẻ mắc hen cao nhất. Ngược lại ở các nước đang phát triển và các nước thuộc vùng nhiệt đới, tỷ lệ trẻ mắc hen thấp hơn [13-14].

Tỷ lệ mắc hen ở trẻ khác nhau theo từng nhóm tuổi. Tỷ lệ hen ở trẻ lứa tuổi 6-7 tuổi giao động từ 4% đến 32% ở các nước khác nhau. Tỷ lệ hen cao hơn ở một số nước như New Zealand, Canada, Costa Rica, Brazil, thấp hơn ở một số nước khác [13-15].

Tỷ lệ hen ở nhóm trẻ 13-14 tuổi cũng khác nhau tùy từng nước, và thay đổi từ 2% đến 26%. Tỷ lệ hen thấp ở một số nước đang phát triển và Đông Âu trong khi tỷ lệ này cao ở các nước Mỹ Latin [15-17]. Nghiên cứu cũng chỉ ra sự tăng tỷ lệ mắc hen ở các nước có tỷ lệ hen thấp [16]. Điều này gợi ý vai trò quan trọng của yếu tố môi trường ảnh hưởng đến tỷ lệ hen ở trẻ em.

Tại Việt Nam, tỷ lệ trẻ em mắc bệnh hen khá cao và có chiều hướng ngày càng gia tăng. Theo công bố của Bộ Y tế, tỷ lệ hen năm 2000 từ 8-9%, đến năm 2004 là 10%. Đặc biệt, tại thành phố Hồ Chí Minh, theo nghiên cứu của tổ chức quốc tế về hen và dị ứng trẻ em năm 2004, có đến 29,1% trẻ em từng bị khò khè, con số thuộc loại cao nhất châu Á [18].

Một nghiên cứu tại Hà Nội năm 2003 trên trẻ em từ 5-11 tuổi chỉ ra rằng tỷ lệ trẻ đã từng bị khò khè là 24,9%, khò khè trong vòng 12 tháng qua là 14,9%, từng bị HPQ là 12,1%, HPQ được chẩn đoán bởi bác sĩ là 13,9% [19]. Nghiên cứu của Nguyễn Văn Đoàn và Trần Thuý Hạnh năm 2011 trên 7 vùng miền khác nhau của Việt Nam cho thấy tỷ lệ mắc hen chung là 3,9%, trong đó tỷ lệ mắc hen ở trẻ em là 3,2% [20].

### ***1.3.2. Tỷ lệ tử vong***

Tỷ lệ tử vong không phụ thuộc vào độ lưu hành của hen, một số nước có tỷ lệ mắc thấp nhưng tỷ lệ tử vong lại cao như Nga, Uzbekistan, Albani [21].

Tỷ lệ tử vong do hen cũng tăng lên rõ rệt, hàng năm có khoảng 20-25 nghìn người tử vong do hen. Theo GINA năm 2010, số bệnh nhân tử vong do hen là

250.000 người. Trung bình cứ 250 người tử vong có 1 người tử vong liên quan đến hen. Không có mối liên quan giữa tỷ lệ mắc và tỷ lệ tử vong do hen [22].

Ở Việt Nam hiện chưa có con số thống kê đầy đủ, tuy nhiên với khoảng 4 triệu người mắc hen thì chắc chắn tỷ lệ tử vong không phải là thấp. Tỷ lệ tử vong phụ thuộc độ lưu hành hen tăng, chẩn đoán và điều trị hen không đúng, chủ quan trong việc quản lý, kiểm soát hen.

#### **1.4. Cơ chế bệnh sinh của hen phế quản**

##### ***1.4.1. Quá mẫn và hen phế quản***

Quá mẫn là tình trạng bệnh lý do đáp ứng quá mức của hệ miễn dịch. Quá mẫn biểu hiện bằng các phản ứng bệnh lý khi cơ thể tiếp xúc với kháng nguyên đặc hiệu từ lần thứ hai trở đi.

Theo Gell và Coombs (1962), quá mẫn được chia thành 4 typ:

- Typ I: quá mẫn do kháng thể IgE.
- Typ II: quá mẫn gây tan hủy tế bào (tế bào mang kháng nguyên), kháng thể là IgG và IgM, thông qua hoạt hóa bổ thể.
- Typ III: quá mẫn do phức hợp miễn dịch (phức hợp kháng nguyên - kháng thể) lắng đọng ở mô và gây bệnh tại chỗ.
- Typ IV: quá mẫn chậm do đáp ứng của tế bào lympho T với kháng nguyên đặc hiệu.

Hen phế quản là một trong các bệnh lý điển hình của quá mẫn typ I. Trong cơ chế bệnh sinh của HPQ có sự tham gia của kháng thể IgE, tế bào ưa kiềm và tế bào mast, cùng các chất trung gian hóa học mà các tế bào này giải phóng ra. Cơ địa dị ứng có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của HPQ [23].

##### ***1.4.2. Nhiễm virus và hen phế quản***

Theo cơ chế miễn dịch, một số nhiễm trùng có thể kích thích vật chủ đáp ứng theo hướng tế bào Th1, đáp ứng này bảo vệ trẻ tiến triển các bệnh dị ứng và hen [24]. Tuy nhiên, liệu nhiễm virus đường hô hấp có thể tạo hiệu

quả bảo vệ hay không vẫn còn nhiều tranh cãi. Hệ thống hô hấp và miễn dịch đều trưởng thành nhanh trong năm đầu đời. Nhiễm trùng virus giai đoạn đầu đời có thể ảnh hưởng đến hệ thống miễn dịch, làm thay đổi đáp ứng miễn dịch, và hậu quả tiến triển dị ứng và hen [25]. Tuy nhiên, cơ chế nhiễm trùng sớm ở trẻ làm ảnh hưởng đến sự phát triển hệ miễn dịch rất phức tạp. Nhiễm virus có thể gây đảo ngược phát triển phổi, dẫn đến thay đổi cấu trúc phổi và khiếm khuyết chức năng ở thời kỳ sớm của trẻ [26].

Một số nghiên cứu giả định nhiễm virus hợp bào hô hấp (RSV) của trẻ liên quan đến tiến triển hen ở giai đoạn sau này. Một nghiên cứu thuần tập ở trẻ từ khi sinh đến 7,5 tuổi cho thấy tăng tần suất hen và nhạy cảm dị ứng trong số trẻ bị viêm tiểu phế quản do nhiễm RSV so với trẻ bị viêm tiểu phế quản không nhiễm RSV. Tỷ lệ tiến triển hen ở nhóm nhiễm RSV là 2,3% so với 2% ở nhóm chứng ( $p < 0,001$ ); Tỷ lệ nhạy cảm dị ứng là 41% ở nhóm nhiễm RSV so với 22% ở nhóm chứng ( $p = 0,039$ ) [27]. Ngược lại, nghiên cứu của Tucson cho thấy viêm đường hô hấp dưới do RSV liên quan đến khò khè sớm ở trẻ, nguy cơ khò khè giảm đáng kể theo tuổi và cũng không có mối liên quan giữa nhiễm RSV và tiến triển cơ địa dị ứng [28].

Vai trò của Rhinovirus trong tiến triển bệnh hen được đề cập ở nhiều nghiên cứu. Nhóm trẻ khò khè trong giai đoạn nhũ nhi, những trẻ nhiễm Rhinovirus có nguy cơ tiến triển bệnh hen cao hơn so với nhóm không nhiễm Rhinovirus (OR=4,14; 95% CI: 1,02–16,77,  $p = 0,047$ ) [29]. Nhiễm Rhinovirus có thể không chỉ ở đường hô hấp trên mà cả đường hô hấp dưới. Tế bào biểu mô của phổi và phế quản bị nhiễm Rhinovirus giải phóng nguồn giàu chất trung gian gây viêm, chúng khởi động hoặc kích thích viêm nhiễm và tắc nghẽn đường hô hấp. Trong môi trường dị ứng, đáp ứng miễn dịch với Rhinovirus có xu hướng tiến triển theo hướng tế bào Th2, điều này thúc đẩy mạnh tiến triển của hen.

Sự phát triển hệ miễn dịch ở trẻ sơ sinh đã được ghi nhận bởi giả thuyết “vệ sinh”. Tế bào T helper có thể được phân chia thành 2 nhóm chính, tế bào Th1 và Th2, dựa trên các cytokine mà nó sản xuất ra. Cân bằng đáp ứng tế bào Th1 và Th2 quan trọng trong điều hoà đáp ứng miễn dịch. Nhiễm một số virus đường hô hấp trong giai đoạn sớm của trẻ có thể ảnh hưởng đến điều hoà và phát triển hệ miễn dịch, dẫn tới mất cân bằng giữa tế bào Th1 và Th2 ở giai đoạn sau, kích thích trẻ duy trì xu hướng đáp ứng theo hướng tế bào Th2, dẫn đến tiến triển bệnh dị ứng và hen [30].

### ***1.4.3. Cơ chế bệnh sinh của hen phế quản***

Hen phế quản đặc trưng bởi:

- *Viêm mạn tính đường thở*: là quá trình cơ bản trong cơ chế bệnh sinh hen phế quản. Khi dị nguyên vào cơ thể tạo ra phản ứng dị ứng thông qua vai trò của kháng thể IgE. Có nhiều tế bào tham gia vào quá trình viêm như tế bào mast, bạch cầu đa nhân (ura acid, ura kiềm, trung tính), đại thực bào phế nang, tế bào mono, tế bào lympho và tiểu cầu [31]. Các tế bào viêm giải phóng các chất trung gian hóa học gây viêm như: histamin, serotonin, bradykinin, cytokine, leucotrien...

Phù nề đường thở do tác dụng của các chất trung gian gây viêm và bradykinin. Tăng tiết đờm do tác dụng của cystein, leukotriens [32].

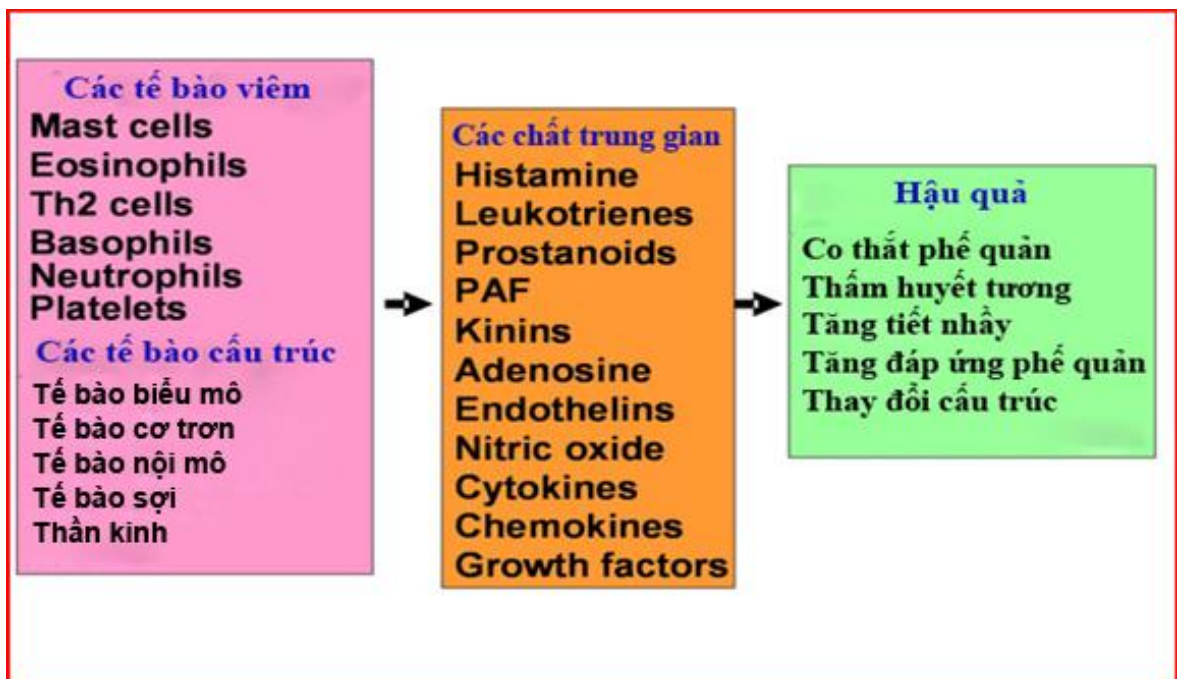
- *Co thắt phế quản*: Do tác động của các chất trung gian hóa học gây viêm (histamine, PAF, PGD<sub>2</sub>, LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>) và vai trò của hệ thần kinh tự động gồm hệ cholinergic, hệ adrenergic và hệ không cholinergic không adrenergic.

- *Tăng phản ứng phế quản*: Xảy ra sau khi dị nguyên vào cơ thể, qua tác động của các tế bào gây viêm. Đây là một trạng thái bệnh lý không đặc hiệu cho hen phế quản.

- *Tái cấu trúc đường thở*: Cytokine được bài tiết từ các tế bào viêm làm tăng phản ứng viêm, thay đổi tế bào biểu mô và nội mô, làm tổn thương mô và sửa chữa (tái cấu trúc), phù mạch và xơ hoá phế quản. Tái cấu trúc đường thở còn do tác dụng gây độc của bạch cầu ưa acid và TNF- $\alpha$  [33].

Có mối liên quan chặt chẽ giữa sự gia tăng hiện tượng viêm đường thở với mức độ nặng của tình trạng tăng phản ứng phế quản và các triệu chứng lâm sàng. Trong trường hợp gia tăng hiện tượng viêm (tiếp xúc với các dị nguyên, hít các chất độc hại hoặc các chất kích thích), tăng phản ứng phế quản nặng hơn và biểu hiện bằng sự xuất hiện các triệu chứng lâm sàng [34].

Hiện tượng viêm gây ra tình trạng tắc nghẽn phế quản làm giảm nhanh thể tích thở ra tối đa trong giây đầu (FEV1) ở bệnh nhân hen bị tái cấu trúc đường thở. Hiện tượng tái cấu trúc này không phải luôn hằng định. Ở một số thể bệnh HPQ nặng, đặc tính hồi phục tắc nghẽn phế quản có thể mất đi, thay vào đó là sự tắc nghẽn phế quản cố định [35].



**Hình 1.1:** Các tế bào và chất trung gian tham gia phản ứng viêm trong hen phế quản

Tóm lại, khi dị nguyên xâm nhập vào đường thở sẽ tác động vào các tế bào viêm và tế bào tại đường thở như (tế bào mast, bạch cầu ưa acid, Th2...), từ đó kích thích bài tiết ra các chất trung gian gây viêm (oxit nitric, histamine, leucotriene, cytokine, chemokine...), dẫn đến co thắt phế quản, tăng tiết dịch nhầy, tăng đáp ứng đường thở và tái cấu trúc đường thở [31-33].

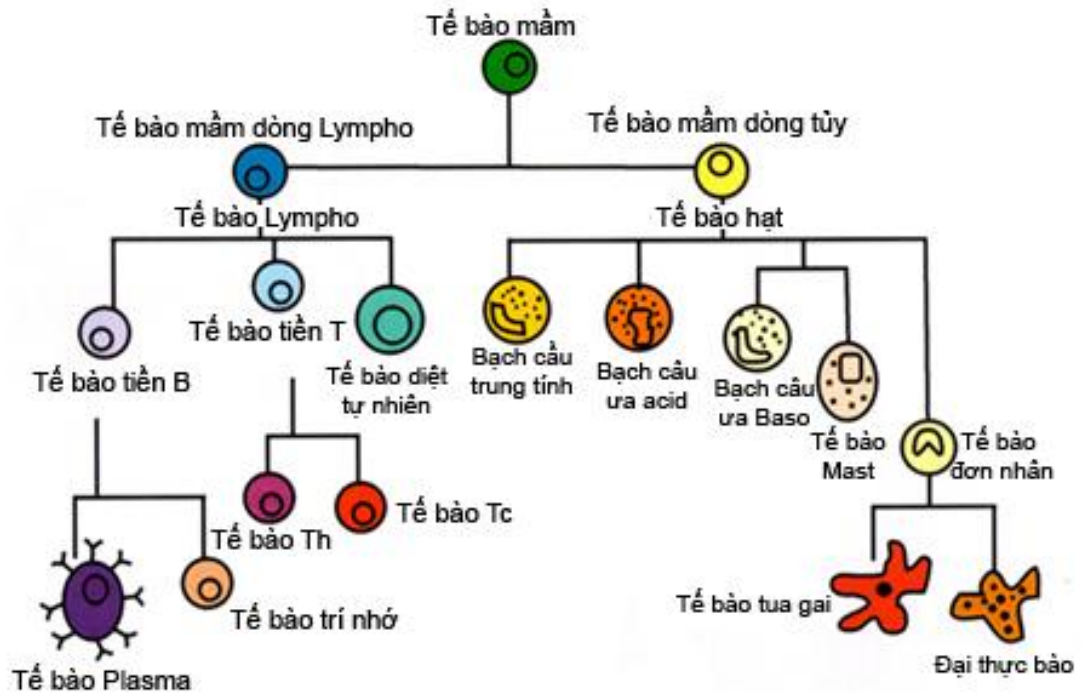
Tuy nhiên tùy thuộc vào loại dị nguyên sẽ biệt hoá tế bào Th0 thành tế bào Th1 hoặc Th2. Mất cân bằng giữa tế bào Th1 và Th2 sẽ tạo ra kiểu hình hen khác nhau. Phần lớn (80-90%) hen phế quản có khuynh hướng dị ứng theo hướng ưu thế Th2 thông qua các sản phẩm bài tiết của nó (IL-4, IL-5, IL-9, IL-13), ngược lại có khoảng 5-10% hen nặng kháng trị liên quan đến ưu thế Th1 thể hiện thông qua sản phẩm bài tiết (IL-2, TNF $\alpha$ ...) [2].

### **1.5. Quá trình biệt hóa tế bào miễn dịch**

Tất cả các tế bào miễn dịch đều phát sinh từ tế bào mầm đa năng trong tuỷ xương. Từ tế bào mầm đa năng này chuyển thành tế bào mầm dòng lympho và tế bào mầm dòng tuỷ. Tế bào mầm lympho biệt hoá thành 3 loại tế bào: tế bào T, tế bào B, tế bào diệt tự nhiên (NK), và góp phần cho sự phát triển của tế bào tua gai.

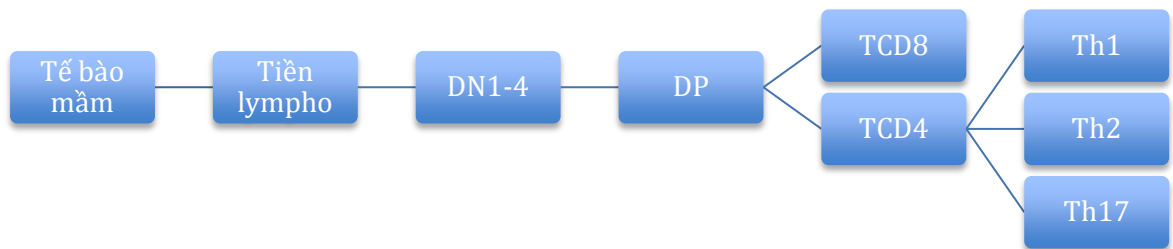
Các tế bào mầm đa năng trong tuỷ xương cũng biệt hóa thành tế bào tua gai, tế bào mast, bạch cầu ưa kiềm, bạch cầu ưa acid, bạch cầu trung tính, tế bào mono và đại thực bào, cũng như tế bào khổng lồ và hồng cầu. Biệt hoá các tế bào mầm phụ thuộc vào mạng lưới cytokine và sự tương tác tế bào với tế bào.

### TẾ BÀO HỆ MIỄN DỊCH



**Hình 1.2: Sự biệt hoá của các dòng tế bào**

#### 1.5.1. Quá trình biệt hóa tế bào lympho T



**Hình 1.3: Quá trình biệt hoá tế bào lympho T**

Từ tế bào mầm biệt hoá thành tế bào tiền lympho trong tuỷ xương, chúng trải qua các quá trình biệt hoá “đôi âm” (DN: double negative) 1, 2, 3, 4 và cuối cùng đến “đôi dương” (DP: double positive). Từ tế bào DP biệt hoá thành T helper (Th) và T cytotoxic (Tc) (“đơn dương” single positive).

DP có nghĩa có cả dấu ấn CD4 protein và CD8 protein (CD: Cluster of differentiation), xảy ra ở vỏ tuyến ức - Th0. Tế bào DP kết hợp với tế bào



biểu mô sẽ biệt hoá thành hoặc Th - CD4 (CD4 dương CD8 âm) hoặc Tc - CD8 (CD8 dương CD4 âm) (đơn dương).

Giai đoạn từ tế bào mầm đến DN2 gọi là giai đoạn c-Kit. Giai đoạn DN1 và 2 gọi là CD44, giai đoạn DN2 đến DN4 gọi là CD25. CD44 và CD25 tồn tại đến tận CD4 và CD8.

Pre T cell receptor (TCR) xuất hiện ở giai đoạn DN3 và DN4 sau đó trở thành TCR ở giai đoạn DP. Cả giai đoạn Pre TCR và TCR gọi là giai đoạn CD3 (vì có biểu hiện protein CD3).

Hiện tượng tái tổ hợp (recombination) của TCR $\beta$  xảy ra ở giữa giai đoạn DN2 và DN3, hiện tượng tái tổ hợp của TCR $\alpha$  xảy ra ở giữa giai đoạn DN4 và DP.

Giai đoạn tế bào mầm và tiền lympho diễn ra trong tuỷ xương, giai đoạn sau xảy ra ở tuyến ức. Các tế bào Th (CD4) và Tc (CD8) vào tuần hoàn đến các mô lympho [36].

Tế bào T phát triển trong tuyến ức thành tế bào T trưởng thành có khả năng đáp ứng với kháng nguyên không phải của bản thân trong phức hợp hoà hợp mô (MHC: major histocompatibility complex). Quá trình huấn luyện này dưới sự kiểm soát của tế bào vỏ đặc biệt của tuyến ức. Có hai loại tế bào T chính rời tuyến ức vào máu ngoại vi, hệ bạch huyết và các mô. Tế bào TCD8 $^{+}$  nhận biết các kháng nguyên peptid đã tạo phức hợp với MHC lớp I, trong khi tế bào TCD4 $^{+}$  nhận biết các kháng nguyên peptid đã tạo phức hợp với MHC lớp II, thường gặp ở một số tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cell - APCs) bao gồm tế bào mono, đại thực bào, tế bào B, và tế bào tua gai [37].

### ***1.5.2. Quá trình biệt hóa tế bào lympho B***

Tế bào lympho B trưởng thành trong tuỷ xương giai đoạn bào thai. Khi trẻ ra đời, quá trình biệt hóa tế bào lympho B xảy ra ở gan. Tế bào lympho B trưởng thành với dấu ấn IgM và IgD bề mặt. Quá trình hoạt hoá tế bào lympho B thành tế bào lympho B trưởng thành có khả năng bài tiết globulin miễn dịch hoặc tế bào B trí nhớ và chuyển dạng thành tương bào phụ thuộc vào sự trình diện kháng nguyên. Sự trưởng thành và biệt hoá tế bào B dưới sự kiểm soát của các cytokine. IL-2 thúc đẩy tế bào B hoạt hoá và phát triển, IL-4 tác động tạo ra IgE [38].

### **1.6. Cytokine**

Cytokine là phân tử protein hoà tan có trọng lượng phân tử thấp được tạo ra bởi nhiều tế bào do đáp ứng với dị nguyên, có vai trò như chất truyền tin để điều hoà chức năng đáp ứng viêm và miễn dịch (bẩm sinh và chuyên biệt). Ngoài ra, các cytokine cho phép các tế bào có sự tương tác với nhau nhằm đảm bảo quá trình điều hoà các chức năng sinh học rất đa dạng như sự tạo máu, sự tăng sinh và biệt hóa, quá trình hoạt hóa - quá trình sống và chết tế bào [39].

Trong những thập niên gần đây, vai trò của các cytokine trong hen, đặc biệt là trong cơ chế bệnh sinh của hen nặng đã được chứng minh. Gần đây vai trò của các cytokine có nguồn gốc từ tế bào Th1 và tế bào Th2 trong hen kháng trị cũng đã được đề cập đến [40-41].

#### ***Phân loại cytokine***

Theo phân loại hiện nay, các cytokine bao gồm: các interferon (IFN), interleukine (IL), chemokine, yếu tố hoại tử khối u (TNF: tumor necrosis factor), yếu tố kích thích tạo cụm (CSF: colony stimulating factor), yếu tố tăng trưởng chuyển dạng (TGF: transforming growth factor) [39].

Hiện nay có 37 loại interleukine có vai trò khác nhau được biết đến ở người và được ký hiệu từ IL-1 đến IL-37. Các interleukine được chia làm 3 nhóm: các interleukine tạo ra từ các tế bào trình diện kháng nguyên (dendritic cells, đại thực bào) hoặc từ lymphô bào T có vai trò trong đáp ứng miễn dịch bẩm sinh hoặc miễn dịch thu được (TNF, IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IL-15, IL-18, IL-23, IL-27, IL-32); các interleukine có vai trò trung gian trong miễn dịch độc tế bào hay dịch thể thông qua tế bào (Th1, Th17) hay dị ứng (Th2); các interleukine có vai trò ức chế điều hòa miễn dịch (Treg) [42].

Trong đáp ứng viêm và miễn dịch, các cytokine cũng được chia thành ba loại khác nhau. Lymphokines: các cytokines được bài tiết bởi tế bào T và điều hoà đáp ứng miễn dịch; Cytokine tiền viêm: các cytokine khuếch đại và duy trì quá trình viêm; Cytokine kháng viêm: cytokine điều hòa ngược (âm tính) đáp ứng viêm.

### ***Đặc tính của cytokine***

Dù được sản xuất ra từ các tế bào khác nhau, các cytokine có ba đặc tính sau: tính nhiều hướng (một cytokine có thể hoạt động trên nhiều loại tế bào); tính phong phú (các cytokines khác nhau có cùng chức năng); tính đa chức năng (cùng một cytokine có thể điều khiển nhiều chức năng).

Cytokine là các phân tử có đặc tính phản ứng tại chỗ (autocrine): có tác động tương tự như một hóa chất trung gian, nghĩa là chúng phản ứng theo cách tự tiết (cytokine do một loại tế bào tiết ra và có tác động trên chính tế bào đó) hoặc cận tiết (paracrine: tác động lên tế bào khác kế cận); hiếm khi cytokine có tính nội tiết (endocrine: tác động theo đường tuần hoàn) ngoại lệ là IL-6 và TNF [39].

### *Sinh tổng hợp các cytokine*

Quá trình phân nhóm các dưới nhóm của tế bào Th điều hòa sản xuất cytokine liên quan đến loại đáp ứng miễn dịch. Từ tế bào TCD4+(Th0) nguyên thủy, quá trình biệt hoá thành Th1, Th2 và Th17 tùy thuộc vào các tác nhân gây đáp ứng khác nhau.

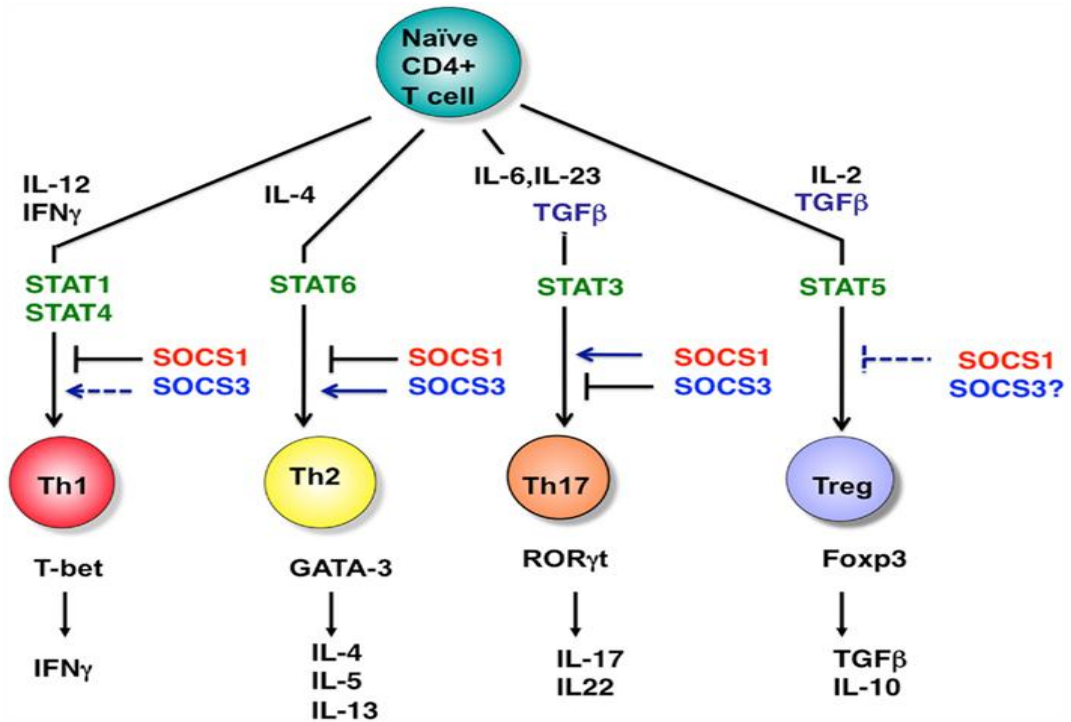
IL-12 (sản xuất từ đại thực bào) và IFN- $\gamma$  (sản xuất từ tế bào NK) có tác dụng thúc đẩy chuyển dạng tế bào Th0 thành tế bào Th1, từ tế bào Th1 tiết ra IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , CD40, TGF- $\beta$ , từ đó thúc đẩy đáp ứng viêm qua tế bào (phản ứng với nhiễm khuẩn). Đáp ứng theo hướng tế bào Th1 chịu trách nhiệm gây độc tế bào qua trung gian tế bào T. Tế bào Th1 tạo miễn dịch chống lại nhiễm virus, các tác nhân gây bệnh trong tế bào và nó phụ thuộc vào tương tác giữa tế bào tua gai, tế bào mono và tế bào T.

Với tác nhân dị ứng, các dị nguyên gắn với tế bào trình diện kháng nguyên (APC) trình diện CD4 cùng với IL-4 làm biệt hoá tế bào Th0 thành tế bào Th2, từ tế bào Th2 tiết ra IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, GM-CSF tiếp đó thúc đẩy đáp ứng viêm thể dịch (phản ứng với dị ứng) [35-43]. Đáp ứng viêm theo hướng tế bào Th2 liên quan đến sản xuất IgE và thâm nhập bạch cầu ưa acid, là cơ chế gián tiếp gây bệnh dị ứng.

Hơn nữa, tế bào Th2 gây đáp ứng miễn dịch với ký sinh trùng qua kích thích tăng viêm sản xuất IgE và tăng bạch cầu ưa acid.

Đáp ứng tế bào Th17 dẫn đến đặc điểm viêm tăng bạch cầu trung tính và là bệnh học ở một số mẫu thực nghiệm của bệnh tự miễn. Yếu tố phát triển chuyển dạng  $\beta$  (transform growth factor  $\beta$  - TGF  $\beta$ ), IL-23, và IL-6 là các cytokine cần thiết cho phát triển đáp ứng miễn dịch tế bào Th17, mà gián tiếp thông qua IL-17a, IL-17f, IL-21, và IL-22 [37-42].

Tế bào Th0 còn biệt hoá thành tế bào Treg (T điều hoà). Tế bào Treg là tế bào điều hoà các loại tế bào T bao gồm cả Th1 và Th2. Tế bào Treg sản xuất ra TGF- $\beta$ , IL-10 là một protein có đặc tính kháng viêm. Tế bào Th2 ức chế tế bào Th1 thông qua IL-4 và IL-10, và ngược lại tế bào Th1 ức chế tế bào Th2 thông qua INF- $\gamma$  [42-43].



**Hình 1.4: Quá trình biệt hoá tế bào Th0 (TCD4)**

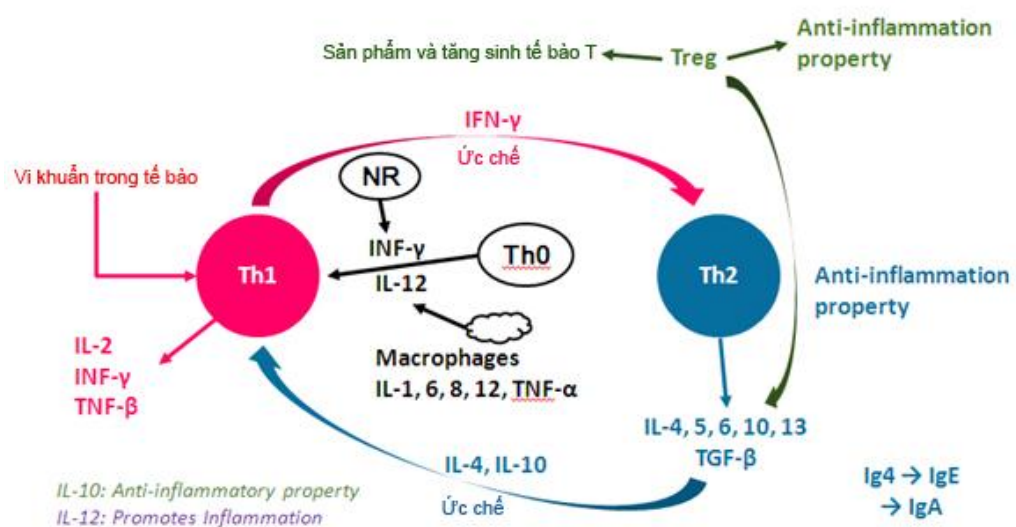
### ***Sự tương tác hoạt động của các cytokine***

Khi kháng nguyên xâm nhập cơ thể, tế bào trình diện kháng nguyên đến để tiêu diệt bằng cách “nuốt” và “cắt nhỏ” kháng nguyên. Có hai loại tế bào trình diện kháng nguyên chính là đại thực bào và bạch cầu đa nhân trung tính.

Bạch cầu đa nhân trung tính tiêu diệt kháng nguyên bằng cách cắt nhỏ chúng. Các mẫu kháng nguyên bị cắt nhỏ đó kết hợp với receptor trên bề mặt tế bào B (giai đoạn chọn lọc), các tế bào B gắn với mẫu dị nguyên đó dưới tác dụng của IL-4, IL-5 do tế bào Th2 bài tiết cùng với yếu tố phát triển tế bào B (B growth factor) làm cho tế bào B phát triển tăng sinh và trưởng thành, các tế

bào trưởng thành sẽ phát triển thành tế bào B nhớ và chuyển thành tương bào sản xuất ra các kháng thể. Khi kháng nguyên xâm nhập vào cơ thể lần sau, các kháng thể này sẽ kết hợp với kháng nguyên và phức hợp kháng nguyên kháng thể này sẽ bị đại thực bào bắt (thông qua hiện tượng opsonin hóa). Bình thường, khi tế bào lympho B tương tác với dị nguyên kích thích sản xuất IgM. Tuy nhiên tế bào lympho B muốn sản xuất IgG IgE IgA cần sự giúp đỡ của hệ thống cytokine của tế bào Th2. IL-4 giúp tế bào lympho B chuyển dạng IgM thành IgG, IgE, IL-5 giúp tế bào lympho B sản xuất IgA [44].

Đại thực bào sau khi cắt kháng nguyên thành các phân tử nhỏ sẽ trình các kháng nguyên đó trên bề mặt thông qua các receptor và từ đó nó kết hợp với MHC lớp I và II [45]. IL-12 được tiết ra từ đại thực bào sẽ biệt hoá tế bào Th0 thành tế bào Th1 thông qua liên kết TCR với dị nguyên và MHC II cùng với phân tử protein CD4. Từ đó tế bào Th1 hoạt hoá sẽ sản xuất ra IL-2 và receptor của IL-2, và ngược lại IL-2 gắn với receptor của nó kích thích tế bào Th1 phát triển tăng về kích thước, số lượng và chức năng. Đồng thời tế bào Th1 bài tiết ra IFN- $\gamma$ , IFN- $\gamma$  kích thích đại thực bào bắt và tiêu các tác nhân gây bệnh nằm trong tế bào, tăng sản xuất MHC I và MHC II [46].



**Hình 1.5: Sự tương tác Th1 và Th2**

Tế bào lympho T có hai chức năng: tác động và điều hoà. Chức năng tác động thông qua Tc diệt mầm bệnh, đại thực bào được hoạt hoá bởi IFN- $\gamma$ , tế bào NK, bạch cầu ưa acid. Tế bào TCD8+ gắn với phức hợp dị nguyên và MHC I qua TCR cùng với sự tác động của IL-2 (từ tế bào Th1) sẽ hoạt hoá Tc thành Tc hoạt động. Tc bài tiết perforin làm thủng lỗ màng tế bào chứa mầm bệnh, đồng thời bài tiết Granzymes gây diệt tế bào chứa mầm bệnh (virus, vi khuẩn, tế bào ung thư).

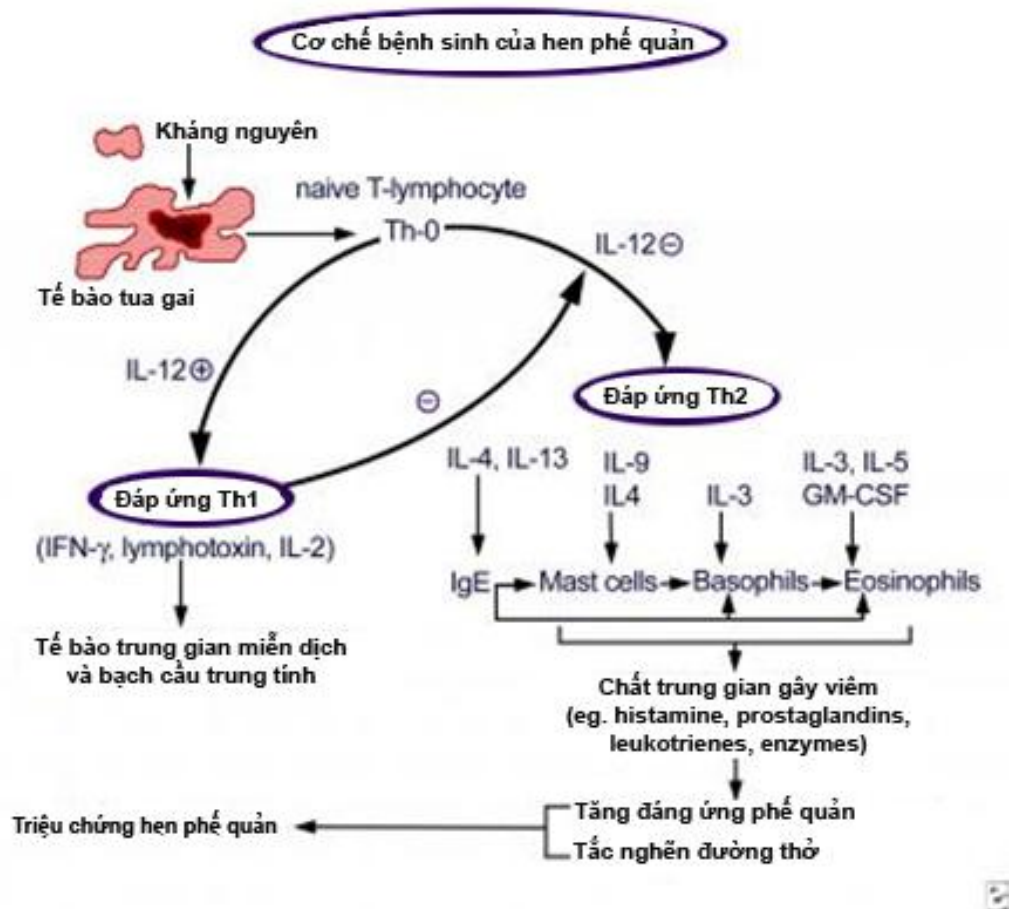
Quá trình điều hoà miễn dịch thông qua tế bào Th1 điều hoà hoạt động của đại thực bào, tế bào Th1 giúp Tc hoạt hoá tiêu diệt mầm bệnh. Tế bào Th2 giúp tế bào lympho B trở nên hoạt động, trưởng thành và sản xuất globulin miễn dịch.

### **1.7. Vai trò cytokine trong hen phế quản**

Nhạy cảm với dị nguyên liên quan đến nguy cơ mắc hen cũng như mức độ nặng của hen. Ở giai đoạn mẫn cảm, cơ thể tăng sản xuất IgE và receptor gắn với phần Fc của IgE trên bề mặt tế bào mast. Khi dị nguyên gắn với IgE sẽ hoạt hoá tế bào mast gây thoái hóa hạt. Các chất trung gian gây viêm được giải phóng sẽ gây đáp ứng viêm dị ứng. Ở pha sớm, các chất trung gian gây viêm gây co thắt phù nề niêm mạc phế quản, ở pha muộn gây tăng viêm. Giai đoạn mạn tính là tình trạng viêm với thâm nhiễm tế bào lympho T và bạch cầu ưa acid [34].

Hen phế quản là bệnh viêm mạn tính đường thở, một bệnh khá phức tạp và nguyên nhân chưa rõ ràng. Một trong những điểm tiến bộ trong thập kỷ qua là phát hiện các cytokine đóng vai trò then chốt trong bản giao hưởng, duy trì và khuếch đại đáp ứng viêm trong hen. Có nhiều cytokine và chemokine liên quan đến sinh bệnh học của hen. Trong khi một số cytokine như IL-1, TNF- $\alpha$ , IL-6 liên quan đến nhiều loại bệnh viêm thì các cytokine như IL-4, IL-5, IL-9 và IL-13 thường có nguồn gốc từ tế bào Th2, liên quan chủ yếu đến bệnh học hen và dị ứng [24].

Trước đây, giả thuyết nổi trội tế bào TCD4+ type2 (Th2) đóng vai trò quan trọng bệnh học hen dị ứng. Tuy nhiên, hen ngày nay theo xu hướng là bệnh đa dạng không đồng nhất với vai trò của tế bào Th1, Th2 và gần đây tế bào Th17 và T điều hoà được xác định. Rất nhiều cytokine được giải phóng từ tế bào lympho T, tế bào miễn dịch bẩm sinh và tế bào cấu trúc đường thở. Tế bào TCD4+ type 2 và cytokine của tế bào này chiếm ưu thế trong hen dị ứng thể nhẹ và trung bình, trong khi hen kháng corticoid nặng có kiểu hình hỗn hợp của tế bào Th2/Th1 với thành phần tế bào Th17. Các tế bào miễn dịch khác, đặc biệt bạch cầu đa nhân trung tính, đại thực bào, tế bào tua gai và các tế bào cấu trúc như tế bào biểu mô, tế bào cơ trơn đường thở cũng có vai trò trong viêm mạn tính đường thở do liên quan đến bài tiết các cytokine khác nhau trong hen [34].



**Hình 1.6: Cơ chế bệnh sinh của hen phế quản**



Khi dị nguyên là các chất gây dị ứng xâm nhập vào cơ thể sẽ được đại thực bào nuốt, tiêu diệt và trình diện kháng nguyên cùng với MHC lớp II cho TCR, với sự tham gia của IL-4 sẽ hoạt hoá tế bào Th0 thành tế bào Th2, từ đó các cytokine của tế bào Th2 được bài tiết như IL-4, IL-5, IL-9, IL-13, TGF- $\beta$  sẽ kích thích tế bào lympho B trưởng thành có khả năng sản xuất IgE và một phần IgG. Do đó, trong hen do dị ứng nồng độ IgE thường tăng cao.

IL-5 kích thích tế bào B sản xuất IgE, đồng thời kích thích biệt hoá bạch cầu ưa acid. IL-5 có vai trò quan trọng làm tăng trưởng và biệt hoá bạch cầu ưa acid. IL-5 tăng trong kiểu hình hen tăng bạch cầu ưa acid.

IL-10 hoạt hoá tế bào Th2, làm tăng sản xuất các cytokine của tế bào Th2, đồng thời ức chế tế bào Th1.

IL-4, IL-13 kích thích sản xuất IgE. IL-9, IL-4 hoạt hoá tế bào mast. IL-3 hoạt hoá bạch cầu ưa kiềm. IL-3, IL-5, GM-CSF hoạt hoá bạch cầu ưa acid, từ đó giải phóng các chất trung gian hoá học (như histamine, prostaglandin, leucotrien, enzyme...) gây viêm đường thở, tăng đáp ứng phế quản, tắc nghẽn đường thở, dẫn đến triệu chứng của hen phế quản [47].

Cơn hen cấp xảy ra khi đường dẫn khí bị tắc nghẽn. Hen tăng bạch cầu ưa acid phổ biến hơn so với hen nặng tăng bạch cầu đa nhân trung tính, và bị thúc đẩy bởi các cytokine khác nhau. TNF- $\alpha$ , IL-8, GM-CSF ngụ ý cơn hen nặng kháng thuốc và TNF- $\alpha$  đóng vai trò nòng cốt. Cơn hen gây ra do nhiễm trùng có thể liên quan đến giảm IFN- $\gamma$  [48].

Hen dị ứng thường di truyền đa gen, liên quan đến tăng tổng hợp IgE và sự có mặt của các cytokine như IL-4, IL-5, IL-13.

Đối với hen không dị ứng, thường bệnh nhân có test lấy da âm tính với dị nguyên đường hô hấp, không có tiền sử bản thân và gia đình dị ứng, nồng độ IgE bình thường, khởi phát hen muộn và thường nặng.

Trên thế giới vai trò của cytokine trong hen phế quản đã được nghiên cứu từ nhiều năm.

Theo nghiên cứu của Broide và cs năm 1992: thay đổi viêm cấp và mạn tính ở đường thở của bệnh nhân hen do giải phóng nhiều loại cytokine trên mẫu thực nghiệm gây hen bởi tiếp xúc dị nguyên hoặc nhiễm virus. Các cytokine không những tham gia vào duy trì quá trình viêm mà còn có vai trò trong giai đoạn khởi đầu của quá trình này [49].

Theo nghiên cứu của Joanne Shannon và cs trong hen nặng có sự khác biệt biểu hiện một số cytokine và chemokine liên quan đến bạch cầu ưa acid và bạch cầu trung tính tại đường thở, ở nhóm hen nặng có triệu chứng nhiều hơn FEV1 thấp hơn và nhiều bạch cầu trung tính và bạch cầu ưa acid trong đờm. IL-8 và IFN- $\gamma$  tăng trong khi đó IL-4 giảm ở nhóm hen nặng so với nhóm hen trung bình [43-50].

Vai trò của cytokine từ tế bào Th2 và Th1 như IL-4, IL-5, IL-13, IL-8, IL10, IL6 ... trong hen phế quản đã được thể hiện trong nhiều nghiên cứu [1-51].

Gần đây nghiên cứu ứng dụng điều trị đích cytokine trong hen phế quản đang được nghiên cứu và ứng dụng với bệnh nhân hen phế quản [52].

Ở Việt Nam cho đến nay vẫn còn rất hiếm nghiên cứu về ứng dụng cytokine trong hen phế quản.

## **1.8. Điều trị hen phế quản**

### ***1.8.1. Nguyên tắc điều trị***

Dựa trên cơ chế bệnh sinh của hen phế quản, các nhóm thuốc được sử dụng tác động vào từng khâu trong cơ chế bệnh sinh.

Thuốc điều trị hen phế quản bao gồm: thuốc giãn phế quản (cắt cơn hen) và thuốc dự phòng hen (khángviêm).

***Thuốc giãn phế quản:*** co thắt phế quản do cơ trơn trên thành phế quản là triệu chứng nổi trội trong cơn hen cấp. Bình thường cơ trơn có hai loại

cấu trúc sợi myosin và actin. Hoạt động cơ cơ chỉ được xảy ra khi hai loại sợi đó gắn vào nhau, việc gắn hai loại sợi đó được thực hiện với sự hiện diện của canxi trong tế bào gắn với calmodulin và calmodulin sau khi kết hợp với canxi sẽ có tác dụng kết hợp myosin và actin. Quá trình vận chuyển canxi vào trong tế bào là quá trình vận chuyển ngược chiều do vậy cần năng lượng (AMPC).

*Thuốc kích thích thụ thể  $\beta_2$* : Short acting  $\beta$  agonist (SABA) là thuốc làm giãn phế quản tác dụng nhanh thông qua việc làm tăng chuyển ATP thành AMPC (thông qua hoạt hoá Adenyl cyclase). Theophylin ức chế quá trình chuyển AMPC thành ATP, do vậy làm tăng AMPC.

*Magnesium*: là chất đối kháng calcium làm giãn cơ trơn. Magnesium có khả năng ức chế hoạt động cơ thắt cơ trơn, ức chế giải phóng histamine từ tế bào mast, ức chế giải phóng acetylcholine từ tế bào thần kinh, và ức chế tác dụng an thần, có thể góp phần cho hiệu quả điều trị.

*Kháng cholinergic*: nhóm thuốc này ức chế receptor đặc hiệu với cholin ở cơ (receptor muscarinic cholinergic), ức chế M3 receptor cơ trơn phế quản, giảm trương lực phế vị tại đường thở. Nhóm này có thể làm giảm hoặc mất đi các phản xạ cơ thắt phế quản thứ phát với kích thích hoặc trào ngược dạ dày thực quản, và có thể giảm tiết đờm.

*Thuốc kháng viêm*: là thuốc điều trị chính viêm mạn tính trong hen phế quản. Theo cơ chế bệnh sinh có hai loại thuốc thường sử dụng là corticoid và kháng leucotriene, trong đó kháng corticoid là thuốc điều trị dự phòng chủ đạo trong hen phế quản.

Cơ chế thuốc kháng viêm:

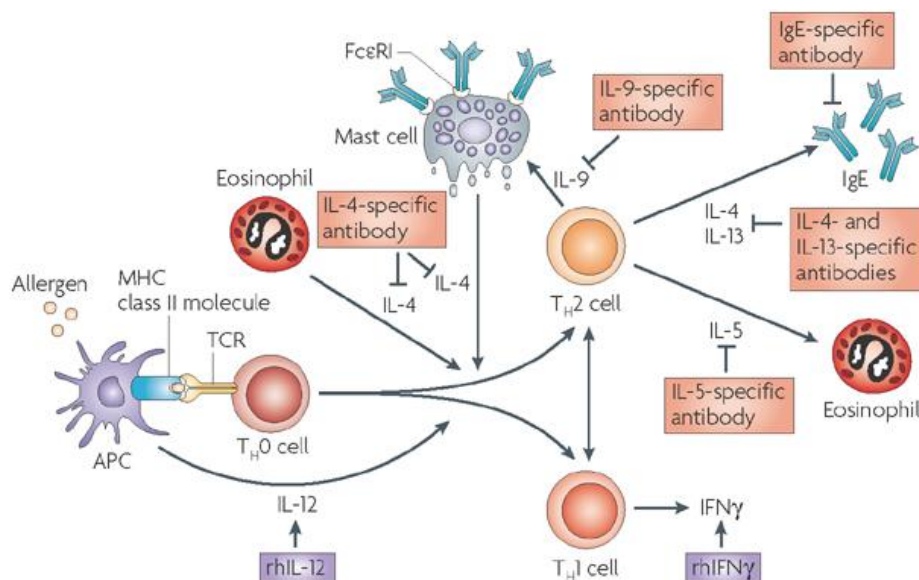
- Ức chế giai đoạn muộn phản ứng dị ứng, giảm tính tăng đáp ứng đường thở.
- Ức chế sản xuất cytokine, ức chế di cư và hoạt hoá tế bào viêm.
- Giảm điều hoà receptor beta 2.

- Ức chế dò rỉ mạch nhỏ.

Cho đến bây giờ thuốc kháng viêm corticoid có hiệu quả nhất cho điều trị hen, thuốc ức chế hầu hết các khâu chính của quá trình viêm, và ức chế hoạt động các gene của các cytokine tiền viêm, tuy nhiên nó không có hiệu quả trong trường hợp hen kháng corticoid.

Nhiều nghiên cứu về hen kháng corticoid đã được đề cập dựa trên cơ sở sinh bệnh học của hen phế quản. Đến nay có nhiều thuốc được thử nghiệm dựa vào điều trị đích như kháng IgE, kháng cytokine.

### 1.8.2. Vai trò các cytokine trong chẩn đoán và điều trị hen theo sinh bệnh học



Nature Reviews | Immunology

**Hình 1.7: Thuốc kháng cytokine trong hen phế quản**

Hen ngày nay được xác định là bệnh có xu hướng đa dạng, không đồng nhất với vai trò của tế bào Th1, Th2, Th17 và T điều hoà. Rất nhiều cytokine được giải phóng từ tế bào T, tế bào miễn dịch bẩm sinh và tế bào cấu trúc. Do đó điều trị kháng cytokine đặc hiệu có thể có hiệu quả ở một số phân nhóm hen

này nhưng không hiệu quả ở một số phân nhóm khác. Bởi vậy cần phân biệt rõ kiểu hình hen phế quản theo sinh bệnh học để có giải pháp điều trị phù hợp.

Hen nặng có đặc điểm bệnh học khác với hen dị ứng nhẹ và trung bình, với đặc điểm kiểu hình hỗn hợp tế bào Th1/Th2, có thể có vai trò tế bào Th17. Các cytokine như TNF $\alpha$ , IFN $\gamma$ , IL-17 và IL-27 tăng, dẫn đến tăng bạch cầu đa nhân trung tính (hơn là bạch cầu ưa acid) hoặc hỗn hợp các bạch cầu đa nhân thâm nhiễm ở đường dẫn khí là đặc tính của phân nhóm hen này. Điều cần lưu ý bệnh nhân có kiểu hình hen này thường kháng với điều trị bằng corticoid [50].

Con hen tăng bạch cầu ưa acid phổ biến hơn so với con hen nặng tăng bạch cầu trung tính và bị thúc đẩy bởi các cytokine khác nhau. Tăng nồng độ các cytokine như TNF $\alpha$ , IL-8, GM-CSF ngụ ý con hen nặng kháng thuốc, trong đó TNF $\alpha$  đóng vai trò nòng cốt. Con hen gây ra do nhiễm trùng có thể liên quan đến giảm IFNs type 1.

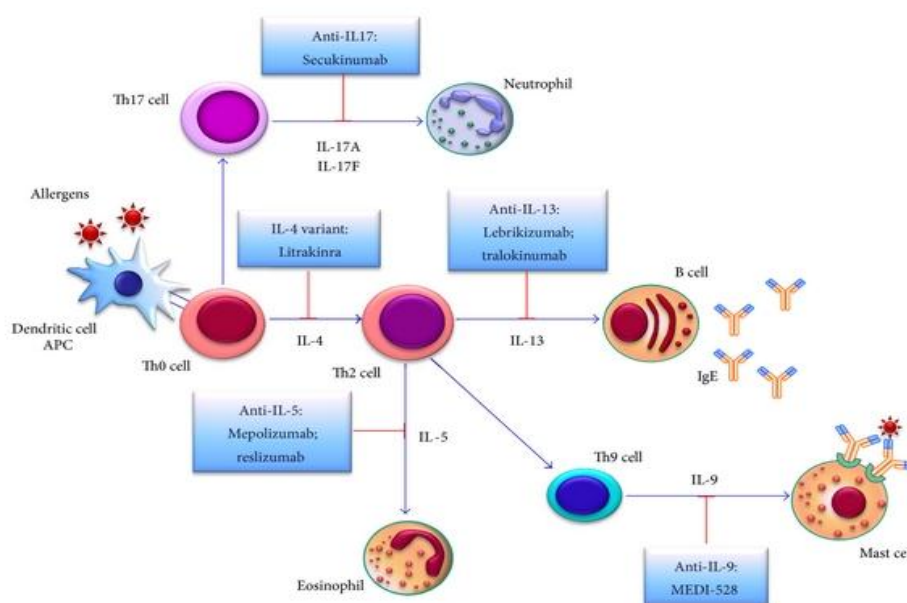
Corticosteroid kết hợp với kháng  $\beta$ 2 tác dụng kéo dài là điều trị nền tảng trong HPQ. Tuy nhiên, nhiều bệnh nhân không kiểm soát được hen với liệu trình điều trị căn bản. Do vậy cần có những phác đồ điều trị hen mới hiệu quả hơn và cytokine ngày càng được khám phá như là đích tiềm năng cho điều trị.

### ***1.8.3. Ứng dụng cytokine trong điều trị hen phế quản***

Mặc dù có một số thử nghiệm để ức chế các cytokine trong hen phế quản bằng cách ức chế các kháng thể, tuy nhiên kết quả vẫn còn hạn chế bởi vì có quá nhiều cytokine cùng tham gia vào một quá trình và các cytokine ở mỗi một thời điểm lại có các tác dụng khác nhau.

#### ***Điều trị thuốc kháng cytokine:***

Có rất nhiều cytokine liên quan đến hen, và một số đã là mục tiêu trong các nghiên cứu thử nghiệm lâm sàng.



**Hình 1.8: Thuốc kháng cytokine trong hen phế quản**

### **Ức chế cytokine của tế bào Th2**

Thuốc ức chế IL-4 dạng hít được thử nghiệm và chứng minh ít hiệu quả trong điều trị, tuy nhiên thuốc này vẫn được tiếp tục quan tâm thông qua việc ức chế nồng độ IL-13. Nồng độ IL-13 tăng thể hiện kiểu hình hen kháng corticosteroid và do đó kháng IL-13 là mục tiêu điều trị cho bệnh nhân hen nặng [53].

*Pitrakinra*: là thuốc làm nghẽn IL-4 receptor  $\alpha$ , và làm giảm đáng kể đáp ứng viêm muện với dị nguyên dạng hít ở bệnh nhân hen nhẹ khi tiêm dưới da hoặc khí dung [54].

*Lebrikizumab*: là kháng thể đơn dòng làm nghẽn IL-13, được nghiên cứu ở bệnh nhân hen không kiểm soát với ICS liều cao [54].

*Mepolizumab*: là kháng thể ức chế IL-5, làm giảm bạch cầu ưa acid trong tuần hoàn và đờm của bệnh nhân hen. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy Mepolizumab làm giảm đợt cấp ở bệnh nhân hen dai dẳng tăng bạch cầu ưa acid phải sử dụng corticoid dạng hít liều cao [52-55].

*Reslizumab*: Một loại kháng thể đơn dòng chặn IL-5 khác, giúp làm giảm một số triệu chứng và giảm bạch cầu ưa acid trong đờm [52-55]. Kháng thể chống lại các receptor IL-5  $\alpha$  (benralizumab, MEDI-563) có thể hiệu quả hơn vì làm giảm bạch cầu ưa acid tại đường thở.

IL-9 đóng vai trò quan trọng trong việc phát triển tế bào mast. Nghiên cứu lâm sàng trên động vật cho thấy ức chế IL-9 dẫn đến giảm viêm dị ứng và chất nhầy, giảm tính tăng đáp ứng đường thở. Thuốc ức chế kháng thể IL-9 (MEDI - 528) đã được chứng minh an toàn sau khi tiêm dưới da hàng tuần, với xu hướng giảm hen do vận động, qua trung gian giảm hoạt động tế bào mast. Các thử nghiệm lâm sàng lớn hơn hiện nay đang trong tiến trình thực hiện [52-56].

Hiện nay các thử nghiệm đang tập chung vào ức chế lymphopietin mô đệm tuyến ức (TSLP), là cytokine IL-7 được tiết ra bởi tế bào biểu mô đường hô hấp, với vai trò chỉ thị tế bào đuôi gai tiết chemokine thu hút các tế bào Th2 vào khí quản và tiềm năng hoạt hoá các tế bào này. TSLP tăng ở đường hô hấp bệnh nhân hen nặng điều trị bằng ICS liều cao, gợi ý đây có thể là một đích tốt cho điều trị.

### ***Kháng TNF- $\alpha$***

TNF- $\alpha$  đóng một vai trò quan trọng ở bệnh nhân hen nặng. Một số nghiên cứu ở bệnh nhân hen không kiểm soát, gợi ý rằng điều trị kháng TNF (kháng thể kháng TNF infliximab hoặc thụ thể etanercept hòa tan) có thể làm giảm các triệu chứng, giảm đợt kịch phát, và giảm tăng đáp ứng đường thở ở những bệnh nhân hen nặng. Tuy nhiên một thử nghiệm đa trung tâm gần đây cho thấy kháng thể golimumab không có tác dụng có lợi về chức năng phổi, làm giảm triệu chứng, hoặc cơn hen cấp, và có thể gây tăng nguy cơ viêm phổi và ung thư phổi [52-57].

### ***Kháng cytokine khác***

Một số thuốc chẹn cytokine khác hiện đang được thử nghiệm là mục tiêu cho bệnh nhân hen, bao gồm IL-17, IL-25, IL-33, GM - CSF, và yếu tố tế bào mầm. Tuy nhiên cho đến nay, chưa có nghiên cứu lâm sàng ở bệnh nhân hen nặng được báo cáo.

### ***Thuốc đối kháng thụ thể chemokine***

Trọng tâm chính ở bệnh nhân hen là các thụ thể chemokine CCR3, chủ yếu biểu hiện trên bạch cầu ưa acid và trung hòa các phản ứng hoá học với CXCL11 (eotaxin), được sản xuất tăng ở bệnh nhân hen. Thụ thể chemokine [49] CCR8, CXCR4, trên các tế bào Th2.

Tóm lại, hen là bệnh viêm mạn tính đường thở với nhiều cơ chế phối hợp phức tạp. Cần có nhiều nghiên cứu, với các thử nghiệm lâm sàng đa trung tâm để quản lý và kiểm soát hen ngày một hiệu quả hơn.



## Chương 2

# ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.1. Đối tượng nghiên cứu

Trong thời gian nghiên cứu từ 8/2013 đến tháng 8/2015. Đối tượng nghiên cứu thu được gồm 125 trẻ dưới 15 tuổi trong cơn hen phế quản cấp, điều trị nội trú tại Khoa Miễn dịch - Dị ứng - Khớp, Bệnh viện Nhi Trung Ương và 30 trẻ khỏe mạnh.

#### 2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định hen theo GINA 2011 [22].
- Bệnh nhân đang trong cơn HPQ cấp.
- Trẻ và gia đình bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu.

#### 2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

- Bệnh nhân hen phế quản mắc thêm bệnh nặng khác như: loạn nhịp tim, tim bẩm sinh, thấp tim...
- Bệnh nhân hen phế quản nhập viện vì các nguyên nhân khác như: tràn khí màng phổi, dị vật đường thở....
- Gia đình không đồng ý tham gia nghiên cứu.

**Nhóm tham chiếu:** Trẻ khỏe mạnh, dưới 15 tuổi không mắc các bệnh cấp và mãn tính, đến kiểm tra sức khỏe có lấy máu làm xét nghiệm được mời tham gia nghiên cứu.

### 2.2. Tiêu chuẩn chẩn đoán hen phế quản

#### 2.2.1. Chẩn hen phế quản ở trẻ trên 5 tuổi

Đối với trẻ > 5 tuổi chẩn đoán hen phế quản theo GINA 2011

\* *Dựa vào triệu chứng lâm sàng và tiền sử*

- Lâm sàng:
  - + Khò khè thì thở ra.

+ Khò khè trong cơn hen thường kèm theo ho, khó thở, đặc biệt là về đêm gần sáng.

- Tiền sử:

+ Khò khè tái đi tái lại.

+ Ho nặng lên về đêm.

+ Khó thở tái đi tái lại.

+ Nặng ngực tái đi tái lại.

- Triệu chứng xảy ra hoặc nặng lên về đêm, làm bệnh nhân phải thức giấc.

- Triệu chứng xảy ra hoặc nặng lên theo mùa.

- Có tiền sử chàm, mày đay, các bệnh dị ứng hoặc tiền sử bố mẹ, anh chị em ruột mắc hen phế quản.

- Triệu chứng xảy ra hoặc nặng lên khi xuất hiện:

+ Tiếp xúc với vật nuôi có lông.

+ Tiếp xúc với mùi lạ có nguồn gốc hóa chất.

+ Thay đổi nhiệt độ.

+ Tiếp xúc với bụi nhà.

+ Sau dùng thuốc (Kháng viêm non- steroid,  $\beta$  blocker...).

+ Gắng sức.

+ Tiếp xúc với phấn hoa.

+ Nhiễm virus đường hô hấp.

+ Tiếp xúc với khói thuốc lá.

+ Thay đổi cảm xúc mạnh.

- Đáp ứng với thuốc điều trị hen.

- Triệu chứng ho khạc đờm kéo dài trên 10 ngày.

### \* Cận lâm sàng

- Đo chức năng hô hấp:

- + Thể tích thở ra tối đa trong giây đầu tiên (FEV1) tăng trên 12% sau dùng thuốc giãn phế quản.
- + Lưu lượng đỉnh (PEF) tăng trên 20% so với trước khi dùng thuốc giãn phế quản hoặc thay đổi trên 20% trong ngày.
- + Test phục hồi phế quản (+).

### **2.2.2. Chẩn đoán hen phế quản ở trẻ dưới 5 tuổi (Theo GINA 2011)**

Chẩn đoán hen phế quản ở trẻ dưới 5 tuổi rất khó khăn vì trẻ không phối hợp để đo chức năng hô hấp nên chủ yếu dựa vào các triệu chứng lâm sàng.

- Triệu chứng chủ yếu để chẩn đoán là khò khè tái đi tái lại hay khò khè dai dẳng.
- Cần chẩn đoán phân biệt với các nguyên nhân gây khò khè khác ở trẻ em.
- Đặc điểm khò khè trong HPQ
  - + Khò khè tái đi tái lại (nhiều hơn 1 lần/tháng).
  - + Ho hay khò khè xuất hiện sau các hoạt động gắng sức.
  - + Ho về đêm mà không có biểu hiện nhiễm virus.
  - + Khò khè thay đổi theo mùa.
- Triệu chứng khò khè xuất hiện trước 3 tuổi.
- Đáp ứng với điều trị bằng SABA và ICS.
- Yếu tố nguy cơ cao: tiền sử bố mẹ bị hen hoặc các bệnh dị ứng.
- Yếu tố nguy cơ yếu:
  - + Trẻ có tăng bạch cầu ưa acid trong máu ngoại .
  - + Khò khè khi không nhiễm virus.
  - + Viêm mũi dị ứng.

***Để tiên đoán hen phế quản ở trẻ em dưới 5 tuổi, thang điểm Pediatrics Asthma Index (PAI) được khuyến cáo sử dụng [58]:***

Trẻ có từ 4 đợt khò khè trở lên trong 12 tháng, mỗi đợt kéo dài hơn 1 ngày, cùng với các tiêu chuẩn dưới đây:

Một tiêu chuẩn chính:

Bố, mẹ trẻ bị hen phế quản

Trẻ bị eczema

Trẻ bị dị ứng với các dị nguyên hô hấp

*Hoặc*

Hai tiêu chuẩn phụ:

Trẻ bị dị ứng thức ăn

Trẻ bị viêm mũi dị ứng

Trẻ khò khè không liên quan đến cảm lạnh

Bạch cầu ưa acid trong máu ngoại vi  $\geq 4\%$

### **2.3. Chẩn đoán cơn hen cấp [59]**

#### **\* Triệu chứng lâm sàng cơn hen cấp**

Cơn hen cấp thường xuất hiện sau khi tiếp xúc với các yếu tố gây khởi phát cơn hen như nhiễm virus đường hô hấp, dị nguyên, hóa chất, khói thuốc lá, hơi sơn, bụi nhà, thay đổi thời tiết...

#### ***Triệu chứng cơ năng:***

+ Ho: Lúc đầu có thể ho khan, sau ho xuất tiết nhiều đờm rãi, ho dai dẳng, ho xuất hiện nhiều vào nửa đêm và gần sáng.

+ Khạc đờm: Đờm màu trắng, dính, soi kính hiển vi có nhiều bạch cầu ưa acid.

+ Khó thở: Chủ yếu là khó thở thì thở ra. Hen mức độ nhẹ khó thở chỉ xuất hiện khi gắng sức, khi ho, khi khóc, cười... trường hợp điển hình khó thở

biểu hiện liên tục, khó thở ra, có tiếng khò khè, cò cữ thường gặp về đêm, gần sáng. Khó thở nặng trẻ có thể tím tái, vã mồ hôi, nói từng từ, không ăn uống được. Có thể có các biến chứng như: tràn khí màng phổi, tràn khí trung thất, rối loạn nhịp thở, ngừng thở.

***Triệu chứng thực thể:***

+ Nhìn: Lồng ngực như bị giãn ra, nếu hen mạn tính kéo dài, lồng ngực có thể biến dạng nhô ra phía trước, vai nhô lên, các xương sườn nằm ngang, các khoang liên sườn giãn rộng, những trẻ này thường chậm lớn.

+ Sờ: rung thanh tăng

+ Gõ: phổi gõ vang

+ Nghe phổi: có tiếng rales rít, rales ngáy cả hai trường phổi chủ yếu thì thở ra.

+ Đo SpO<sub>2</sub>: có thể giảm khi bệnh nhân có suy hô hấp.

**\* Cận lâm sàng**

+ Công thức máu: Số lượng bạch cầu trong giới hạn bình thường hoặc tăng nhẹ. Bạch cầu ưa acid có thể tăng.

+ Khí máu: Trong cơn hen cấp nặng có thể giảm SaO<sub>2</sub> và PaO<sub>2</sub>, có thể có toan hô hấp (pH giảm, PCO<sub>2</sub> tăng, BE âm).

Sau cơn hen cấp khí máu bình thường.

+ X-Quang tim phổi: Trong cơn hen lồng ngực giãn căng, phổi sáng do ứ khí, nếu ho lâu ngày có thể thấy hình ảnh khí phế thũng do giãn phế nang, tâm phế mạn... có thể thấy hình ảnh xẹp phổi.

**2.4. Chẩn đoán mức độ nặng của cơn hen phế quản cấp**

Chẩn đoán mức độ nặng của cơn hen cấp theo thang điểm hen trẻ em của Hiệp Hội Nhi khoa Texas [59].

### Thang điểm đánh giá độ nặng cơn hen cấp

#### PAS (Pediatric asthma score)

Điểm	1 (Nhẹ)	2 (Trung bình)	3 (Nặng)
Nhịp thở			
2-3 tuổi	$\leq 34$	35-39	$\geq 40$
4-5 tuổi	$\leq 30$	31-35	$\geq 36$
6- 12 tuổi	$\leq 26$	27-30	$\geq 31$
> 12 tuổi	$\leq 23$	24- 27	$\geq 28$
Bão hòa oxy	> 95%	90-95%	<90%
Nghe phổi	Bình thường hoặc khò khè cuối thì thở ra	Khò khè suốt thì thở ra	Giảm thông khí phổi, khó thở cả hai thì
Rút lõm lồng ngực	Không hoặc co kéo cơ liên sườn	Rút lõm lồng ngực, co kéo cơ liên sườn	Rút lõm lồng ngực, co kéo cơ liên sườn, co kéo hố thượng đòn
Khó thở	Nói được câu dài	Nói câu ngắn, khóc ngắn	Nói từng từ, vài từ
<b>Độ nặng hen</b>	<b>Nhẹ</b>	<b>Trung bình</b>	<b>Nặng</b>
Điểm	5-7	8-11	12-15

## 2.5. Phương pháp nghiên cứu

### 2.5.1. Thiết kế nghiên cứu

- Phương pháp nghiên cứu:

Mục tiêu 1 và mục tiêu 2: Nghiên cứu mô tả cắt ngang, tiến cứu.

Mục tiêu 3: Nghiên cứu so sánh trước sau.

- Các chỉ tiêu nghiên cứu được thu thập theo một mẫu bệnh án thống nhất

### 2.5.2. Cỡ mẫu nghiên cứu

$$n = Z_{(1-\alpha/2)}^2 \times \frac{p \times (1-p)}{d^2}$$

Trong đó:

-  $p = 0,27$  là tỷ lệ trẻ hen phế quản cấp nhập viện [60].

-  $d$  là hệ số cho phép trong nghiên cứu là 10%.

- Độ tin cậy chấp nhận là 95%  $Z_{\alpha/2} = 1,96$ .

$$n = \frac{1,96 \times 1,96 \times 0,27 \times 0,27}{0,1 \times 0,1} = 76$$

Cỡ mẫu: tối thiểu 76 bệnh nhân trong cơn hen cấp đủ tiêu chuẩn được mời tham gia nghiên cứu.

### 2.5.3. Quy trình nghiên cứu

+ Các bệnh nhân và trẻ khỏe mạnh (nhóm chứng) đủ tiêu chuẩn đều được mời tham gia nghiên cứu.

+ Các trẻ và gia đình đồng ý tham gia nghiên cứu sẽ tham gia vào quy trình:

- Trẻ khỏe mạnh được lấy máu xét nghiệm một lần.
- Trẻ hen phế quản tham gia nghiên cứu được hỏi bệnh, khám lâm sàng, đánh giá mức độ nặng của cơn hen cấp khi nhập viện.

- Các trẻ HPQ được lấy dịch ty hầu để xác định có nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.
- Trẻ hen phế quản được lấy máu xét nghiệm hai lần, mỗi lần lấy máu chia vào hai ống. Lần một ngay sau khi trẻ nhập viện và lần hai trước khi ra viện (hoặc sau một tuần kể từ lần lấy máu xét nghiệm đầu).
- Sau khi đã thu thập hai ống máu, một ống sẽ được chuyển đến khoa huyết học viện Nhi Trung ương để định lượng công thức máu, định lượng tế bào TCD3, TCD4, TCD8. Một ống sẽ được chiết tách để bảo quản tủ  $-80^{\circ}\text{C}$  và chuyển đến phòng xét nghiệm của bộ môn Miễn dịch, Học Viện Quân Y để định lượng cytokine.

+ Trẻ HPQ và trẻ khỏe mạnh đều được yêu cầu thu thập mỗi lần xét nghiệm khoảng 3ml máu tĩnh mạch. Sau khi thu thập, ngay lập tức máu được chuyển về khoa Huyết học để bảo quản và chiết tách. Máu sẽ được chiết tách thành hai phần tế bào và huyết thanh bằng máy siêu âm li tâm.

- Tế bào máu được phân tích và đưa ra các chỉ số về số lượng tế bào bạch cầu, tỷ lệ và số lượng các thành phần trong công thức bạch cầu, tỷ lệ tế bào TCD3+, TCD4+ và TCD8+ bằng kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy trên máy FACFACS Calibur.
- Xét nghiệm cytokine trong huyết thanh: được làm tại Labo Miễn dịch, Trung tâm Nghiên cứu ứng dụng sinh y học, Học Viện Quân Y. Xét nghiệm được tiến hành bằng công nghệ flowcytometry-assisted immunoassay với hệ thống Bio-Plex do Bio-Rad (Mỹ) chế tạo.
- Định lượng các cytokine phụ thuộc tế bào Th1 (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), phụ thuộc tế bào Th2 (IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF), phụ thuộc tế bào Treg (IL-10) và IL-6, IL-8.



### ***Kỹ thuật tách triết huyết thanh định lượng Cytokines***

#### *Nội dung kỹ thuật*

Ngay sau khi nhận mẫu máu không chống đông, nhân viên làm xét nghiệm thực hiện những nội dung sau:

+ Dụng cụ, thiết bị hóa chất:

Dụng cụ thiết bị:

- Tủ an toàn sinh học.
- Tủ ấm.
- Máy ly tâm.
- Ống Eppendorf loại 1,5 mL.
- Micropipet.
- Hộp đầu cole loại 200  $\mu$ L, giá đựng ống máu xét nghiệm.
- Bình đựng chất thải đặt trong tủ an toàn sinh học.
- Thùng đựng chất thải đúng quy định, đảm bảo an toàn sinh học.
- Găng tay, khẩu trang và một số vật tư tiêu hao khác.

Hóa chất môi trường:

- Hóa chất dùng cho tiệt trùng các mẫu bệnh phẩm sau tách huyết thanh:

Cloramin B.

+ Tiến hành:

- Đặt mẫu máu vào trong tủ ấm ( $37^{\circ}\text{C}$ ) trong khoảng 30 phút (nếu không có tủ ấm thì để ở nhiệt độ phòng khoảng 30 phút).

- Bật máy ly tâm và cài đặt thông số cho máy ly tâm để tách huyết thanh: tốc độ 5000 rpm.

+ Ly tâm lần 1 trong khoảng 15 phút.

+ Tách fibrin bám vào thành ống nghiệm bằng đĩa thủy tinh.

+ Ly tâm lần 2 trong khoảng 15 phút

- Dùng pipet hút huyết thanh từ ống máu cho vào ống Eppendorf loại 1,5 mL. Trên ống Eppendorf có ghi tên và mã số của bệnh nhân theo từng phiếu chỉ định xét nghiệm, đậy kín nắp và cho vào tủ lạnh - 80<sup>0</sup>C cho đến khi xét nghiệm.

Chú ý:

- Sau khi ly tâm phải giữ ống máu ở tư thế thẳng đứng và hút tối đa lượng huyết thanh có thể tách được, khi có hiện tượng tan máu phải lấy lại mẫu máu khác.

Sau khi thu thập đủ, các mẫu huyết thanh được chuyển đến phòng xét nghiệm của bộ môn Miễn dịch, Học Viện Quân Y.

### ***Kỹ thuật định lượng cytokine***

*Vật liệu nghiên cứu:*

Các hoá chất và sinh phẩm xét nghiệm do hãng Bio-Rad (Mỹ) sản xuất bao gồm:

- Hỗn hợp với số lượng bằng nhau của panel gồm 9 hoặc 8 loại hạt nhựa khác nhau, mỗi loại được gắn lên bề mặt một trong 8 hoặc 9 loại kháng thể đơn dòng khác nhau đặc hiệu với loại cytokine của người là: Panel 9 gồm các interleukine (IL) 2, 4, 5, 10, 12, 13; yếu tố kích thích tạo dòng các tế bào đơn nhân và tế bào hạt (GM-CSF); TNF- $\alpha$  và IFN- $\gamma$  và panel 8 gồm các interleukine (IL) 2, 4, 6, 8, 10; yếu tố kích thích tạo dòng các tế bào đơn nhân và tế bào hạt (GM-CSF); TNF- $\alpha$  và IFN- $\gamma$ .

- Hỗn hợp kháng thể phát hiện (detecting antibody) chứa kháng thể đơn dòng đặc hiệu với cytokine kể trên đã gắn biotin.

- Phức hợp chất huỳnh quang PE gắn streptavidin.

- Hỗn hợp chuẩn gồm 27 cytokine của người với nồng độ đã biết.
- Các dung dịch pha mẫu, dung dịch pha sinh phẩm, dung dịch rửa, dung dịch chạy máy do Bio-Rad sản xuất và cung cấp.
- Hệ thống Bio-Plex và phần mềm điều khiển đi kèm do hãng Bio-Rad chế tạo.

Các vật liệu và thiết bị labo phụ trợ khác như máy lắc, máy hút chân không, các loại pipet, đầu pipet, giấy bạc, giấy thấm, nước cất, ống nghiệm đều đạt tiêu chuẩn quốc tế được cung cấp từ chính hãng sản xuất.

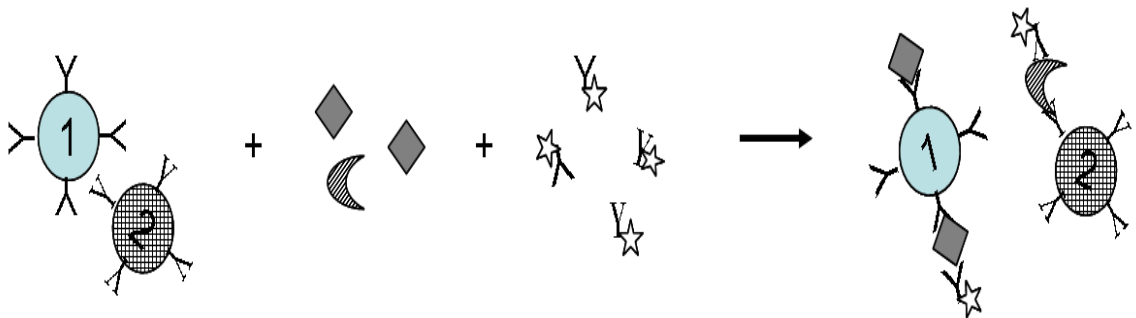
### *Phương pháp làm*

#### *Nguyên lý phản ứng phát hiện cytokine:*

Cytokine được phát hiện bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang kiểu sandwich trên bề mặt của các vi hạt nhựa. Bề mặt của vi hạt được gắn sẵn các phân tử kháng thể đơn dòng đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên trên phân tử cytokine. Khi ủ mẫu xét nghiệm với hạt phủ kháng thể, các phân tử cytokine sẽ bị kháng thể đặc hiệu bắt giữ và bám vào bề mặt hạt. Sau đó kháng thể đơn dòng thứ hai đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên khác của cytokine đã gắn biotin được thêm vào, tạo thành phức hợp miễn dịch gồm phân tử cytokine kẹp giữa hai kháng thể đơn dòng. Cuối cùng phức hợp streptavidin-PE được thêm vào sẽ gắn vào kháng thể đơn dòng qua tương tác streptavidin-biotin. Dưới tác động của tia laser bước sóng tử ngoại PE sẽ phát ra ánh sáng huỳnh quang chứng tỏ sự có mặt của cytokine trong mẫu xét nghiệm. Lượng PE gắn vào tỷ lệ thuận với lượng kháng thể thứ hai hay lượng cytokine có trên bề mặt hạt nhựa. Dựa vào mật độ huỳnh quang phát ra từ các hạt được ủ với những nồng độ cytokine đã biết cho phép định lượng cytokine.

*Nguyên lý kỹ thuật flow cytometry-assisted immunoassay:*

Kỹ thuật flow cytometry-assisted immunoassay sử dụng các hạt có kích thước bằng nhau (tương tự như tế bào) nhưng phát ra tín hiệu huỳnh quang khác nhau làm giá đỡ để gắn các phân tử sinh học như kháng thể đặc hiệu lên bề mặt. Các hạt này được phân tích bằng phương pháp đếm tế bào/hạt theo dòng chảy (flowcytometry) với hai nguồn laser và detector khác nhau để kích thích và nhận hai loại tín hiệu huỳnh quang độc lập do hạt nhựa phát ra (tín hiệu định tính) và từ phản ứng đặc hiệu trên bề mặt hạt phát ra (tín hiệu định lượng). Nhờ phần mềm máy tính có khả năng phân biệt được nhiều loại hạt nhựa khác nhau cho phép gắn mỗi loại hạt với một kháng thể đặc hiệu khác nhau rồi trộn lại để phát hiện đồng thời nhiều kháng nguyên khác nhau trong cùng một mẫu xét nghiệm.



**Hình 2.1: Nguyên lý phát hiện đồng thời nhiều cytokine**

**(Hình minh họa cho 2 chất).**

**Phương pháp xác định Rhinovirus**

+ Xét nghiệm tìm Rhinovirus trong dịch tỵ hầu.

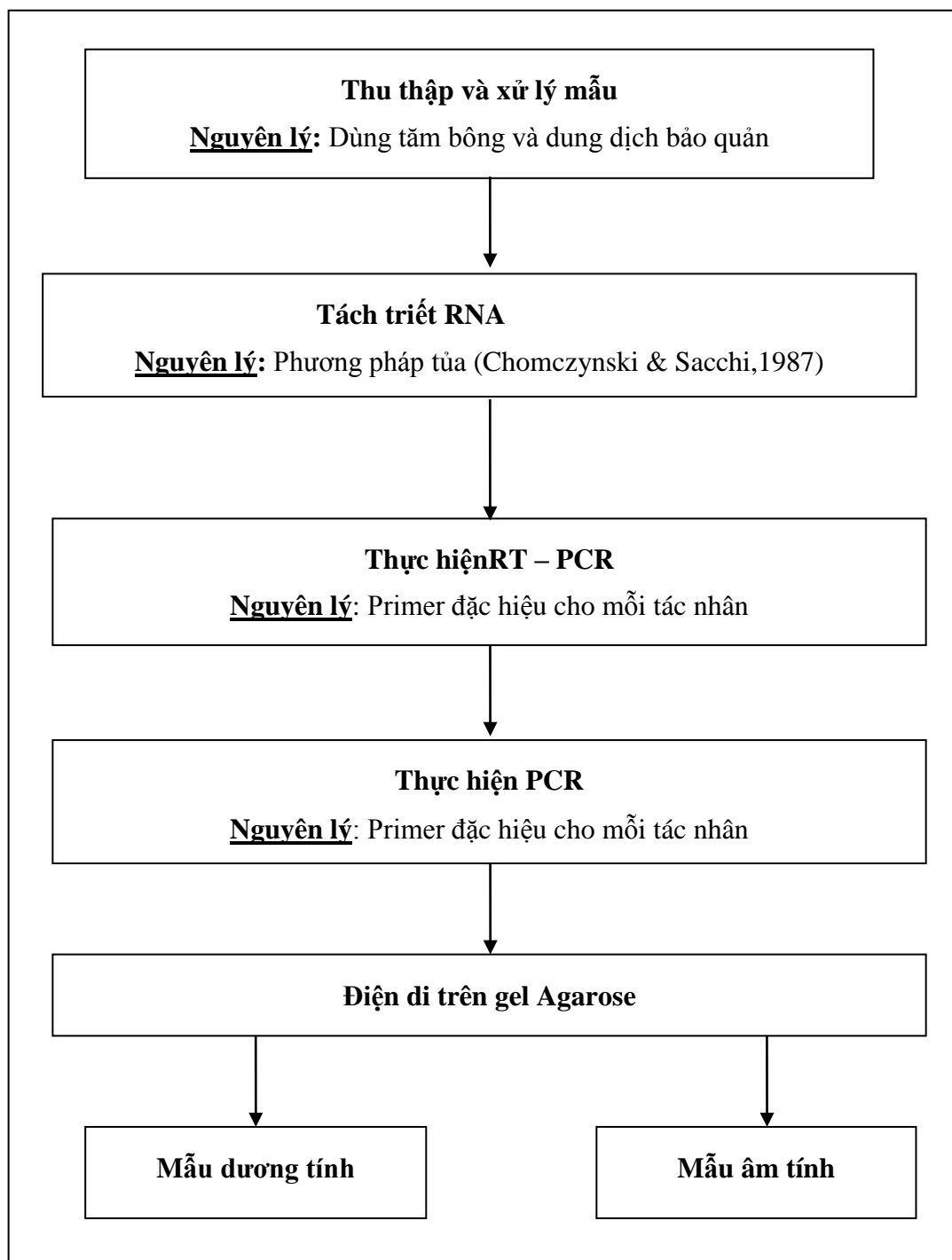
Các trẻ được lấy dịch tỵ hầu tìm Rhinovirus ngay ngày đầu nhập viện. Quá trình xét nghiệm được thực hiện tại khoa Vi sinh Bệnh viện Nhi Trung Ương theo phương pháp phản ứng chuỗi men (PCR).

*\* Lấy bệnh phẩm xét nghiệm*

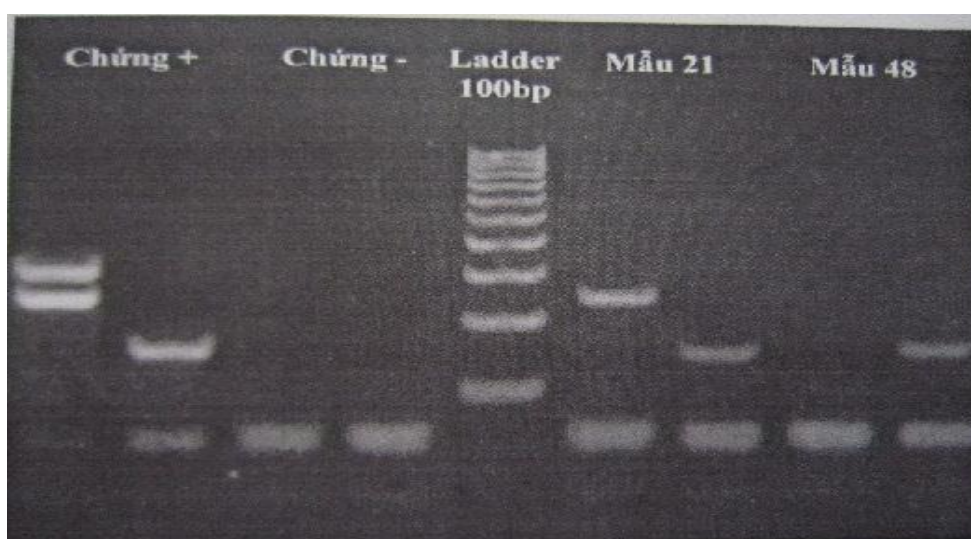
- Được thực hiện theo qui trình của Bệnh viện Nhi Trung Ương.
- Kỹ thuật lấy dịch tỵ hầu:
  - + Tư thế bệnh nhân ngồi đầu được giữ ở tư thế thẳng.
  - + Dùng sonde hút cỡ 6 - 8.
  - + Luồn ống hút vào đường mũi với khoảng cách bằng 1/2 khoảng cách từ cánh mũi đến dái tai của trẻ.
  - + Dùng bơm tiêm 5ml hút khoảng 1ml dịch tỵ hầu.
  - + Cắt đầu ống sonde có chứa dịch tỵ hầu cho vào ống xét nghiệm vô khuẩn và gửi ngay đến phòng xét nghiệm của khoa Vi sinh.

*\* Phân lập virus trong dịch tỵ hầu bằng kỹ thuật PCR*

- Thiết bị và địa điểm: Bệnh phẩm nghiên cứu được thu thập tại khoa Miễn dịch Dự ứng và phân lập virus tại khoa Vi sinh Bệnh viện Nhi Trung Ương bằng kỹ thuật sinh học phân tử trên máy Bio Rad CFX96<sup>TM</sup> Real – Time System CC3071.
- Phương pháp RT-PCR phát hiện Rhinovirus là một kỹ thuật hiện đại và chính xác hiện nay. Qui trình được tiến hành như sau:



*Tóm tắt quy trình phát hiện Rhinovirus*



**Hình 2.2. Ảnh mẫu dương tính của Rhinovirus**  
(Mẫu 21 dương tính, mẫu 48 âm tính)

### **Phương pháp xác định số lượng tế bào lympho CD3, CD4, CD8**

*Nguyên tắc/ nguyên lý của quy trình*

- Để xác định các tế bào T và các dưới nhóm T (CD4, CD8) máu ngoại vi bằng kỹ thuật phân tích tế bào dòng chảy, người ta ủ mẫu máu với các kháng thể đơn dòng gắn huỳnh quang. Các kháng thể này sẽ gắn đặc hiệu với các kháng nguyên đặc trưng (CD) trên bề mặt của từng loại bạch cầu. Các tế bào bạch cầu đã gắn huỳnh quang sau đó được cho đi qua các đầu đọc laser trên máy Flow-Cytometry BD FACS Canto II. Dựa vào kích thước, đậm độ nhân, màu huỳnh quang để nhận diện và xác định số lượng từng quần thể tế bào.

- Nếu sử dụng ống Trucount, số lượng tuyệt đối và tỷ lệ các loại tế bào bạch cầu được tính toán dựa trên tỷ lệ với số lượng hạt bead có sẵn trong ống Trucount.

- Nếu không sử dụng ống Trucount, thành phần các loại bạch cầu được tính dựa trên dữ liệu số lượng bạch cầu và tỷ lệ % Lympho trong xét nghiệm tổng phân tích tế bào máu ngoại vi của mẫu máu đó.

*Các bước thực hiện của quy trình*

<b>Bước</b>	<b>Mô tả</b>
1	<b>Ủ mẫu:</b>
1.1	Đếm số lượng và công thức bạch cầu bằng máy huyết học tự động nếu không sử dụng ống Trucount.
1.2	<p>Ủ mẫu:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Gắn nhãn thông tin bệnh nhân và Panel sử dụng lên ống.</li> <li>- Lấy 20µl kháng thể mỗi loại kháng thể gắn huỳnh quang vào đáy ống nghiệm (<i>chú ý: không chạm vào miếng kim loại và hạt Beads nếu sử dụng ống Trucount</i>).</li> <li>- Thêm 50µl máu toàn phần đã trộn đều vào ống (<i>chú ý: tránh dính máu vào thành ống, các tế bào dính trên thành ống sẽ không gắn được kháng thể. Dùng phương pháp Pipette đảo ngược để đảm bảo hút chính xác 50µl máu</i>)</li> <li>- Trộn nhẹ bằng lắc Vortex mixer</li> <li>- Ủ 15 phút trong tối, ở nhiệt độ 20 - 25°C.</li> <li>- Thêm 450µl dung dịch BD Facs Lysing 1X (<i>không để ánh sáng chiếu trực tiếp</i>)</li> <li>- Trộn nhẹ bằng lắc Vortex mixer</li> <li>- Ủ trong tối 15 phút, ở nhiệt độ 20 - 25°C.</li> <li>- Tiến hành đếm mẫu trên máy BD FACS Canto II</li> </ul>
2	<p><b>Đếm mẫu trên máy Facs canto II</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Mở phần mềm BD Facs Canto</li> <li>- Nhập thông tin bệnh nhân: <ul style="list-style-type: none"> <li>+ Gồm ID, họ và tên, Panel được chỉ định.</li> <li>+ Nếu sử dụng ống Trucount, nhập số lượng hạt Beads tương ứng theo LOT.</li> <li>+ Nếu không sử dụng ống Trucount, nhập số lượng bạch cầu và tỷ lệ Lympho của mẫu máu.</li> <li>+ Nhập tỷ lệ pha loãng mẫu máu</li> </ul> </li> <li>- Lắc đều mẫu trước khi chạy.</li> <li>- Đặt mẫu vào khay</li> <li>- Nhấn RUN</li> <li>- Điều chỉnh các plot gate cho phù hợp nhằm phân tách rõ và lấy toàn bộ các tế bào trong từng quần thể.</li> </ul>



#### 2.5.4. Các chỉ số nghiên cứu

- Tuổi
- Giới
- Tuổi chẩn đoán xác định hen phế quản
- Các yếu tố khởi phát cơn hen cấp
- Tiền sử dị ứng bản thân: chàm, viêm mũi dị ứng- viêm kết mạc, dị ứng thuốc, dị ứng thức và dị ứng khác.
- Tiền sử gia đình: Tiền sử hút thuốc của cha mẹ, tiền sử hen, viêm mũi dị ứng, viêm xoang, chàm, lao của cha mẹ, anh chị em ruột.
- Khám, đánh giá mức độ nặng của cơn hen cấp.
- Các xét nghiệm cận lâm sàng.

+ Công thức máu [60].

Bạch cầu: Số lượng bạch cầu tăng khi số lượng bạch cầu trong máu ngoại vi trên 10.000 G/l

Bạch cầu trung tính: bạch cầu đa nhân trung tính tăng khi số lượng bạch cầu đa nhân trung tính trong máu ngoại vi trên 7000 G/l.

Bạch cầu ái toan: số lượng bạch cầu ưa acid tăng khi số lượng bạch cầu ưa acid trong máu ngoại vi trên 400 G/l .

+ Chỉ số tế bào lympho TCD3+, TCD4+, TCD8+ [61-62].

Tuổi	CD3 gọi là giảm	CD4 gọi là giảm	CD8 gọi là giảm
0-1 tuổi	< 2500	< 1400	< 500
1-2 tuổi	< 2100	< 1300	< 620
2-6 tuổi	< 1400	< 700	< 490
6-12 tuổi	< 1200	< 650	< 650
12-18 tuổi	< 100	< 530	< 330

+ Tỷ lệ nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.

+ Định lượng các cytokine phụ thuộc Th1 (IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ ), phụ thuộc Th2 (IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF), thuộc Treg (IL-10), và IL-6, IL-8.

Mục tiêu 1: Chỉ số công thức bạch cầu, bạch cầu trung tính, bạch cầu ưa acid, tế bào lympho TCD3+, TCD4+, TCD8+.

Mục tiêu 2: Nồng độ các cytokine IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  trong cơn hen cấp.

Mục tiêu 3: So sánh nồng độ cytokine IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, GM-CSF, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  trong cơn hen cấp và sau cơn hen cấp.

## **2.6. Địa điểm và thời gian nghiên cứu**

- Bệnh nhi trong cơn hen cấp điều trị nội trú tại Khoa Dị Ứng - Miễn Dịch - Khớp Bệnh Viện Nhi Trung Ương.

- Xét nghiệm nghiên cứu:

Các xét nghiệm công thức máu, xét nghiệm tế bào lympho TCD3+, TCD4+, TCD8+, PCR Rhinovirus được làm tại phòng xét nghiệm của Bệnh Viện Nhi Trung ương.

Định lượng Cytokine trong máu ngoại vi được thực hiện tại phòng xét nghiệm của bộ môn Miễn dịch, Học Viện Quân Y.

- Thời gian nghiên cứu: từ tháng 8/2013 đến tháng 8/2015.

## **2.7. Phân tích và xử lý số liệu**

Các số liệu sau khi được thu thập được mã hóa theo mẫu thống nhất và phân tích bằng phần mềm SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences).

Đối với biến định tính: tính tỷ lệ phần trăm.

Đối với biến định lượng: tính trị số trung bình / độ lệch chuẩn khi biến phân bố chuẩn; tính trung vị, phương sai khi biến phân bố không chuẩn.

Thực hiện kiểm định t-test, test ANOVA, để so sánh trung bình giữa các nhóm.

Thực hiện kiểm định phi tham số với kiểm định Mann-Whitney, kiểm định Kruskal-Wallis, để so sánh trung vị giữa các nhóm khi biến định lượng không tuân theo phân phối chuẩn.

$P < 0,05$  là khác biệt có ý nghĩa thống kê.

## **2.8. Vấn đề y đức**

Đề tài được thông qua hội đồng y đức, bệnh viện Nhi Trung ương.

Bệnh nhân và gia đình bệnh nhân được giải thích trước, tự nguyện tham gia vào nghiên cứu. Trong những trường hợp bệnh nhân nặng hay đáp ứng kém với điều trị, các biện pháp cấp cứu tích cực được ưu tiên, đặt quyền lợi, tính mạng bệnh nhân lên trên mọi vấn đề của nghiên cứu.

Chi phí xét nghiệm cytokine do đề tài chi trả, không ảnh hưởng đến bệnh nhân.

Nghiên cứu nhằm mục đích mang lại sự thuận tiện trong điều trị cho người bệnh.

Thông tin nghiên cứu được bảo mật.



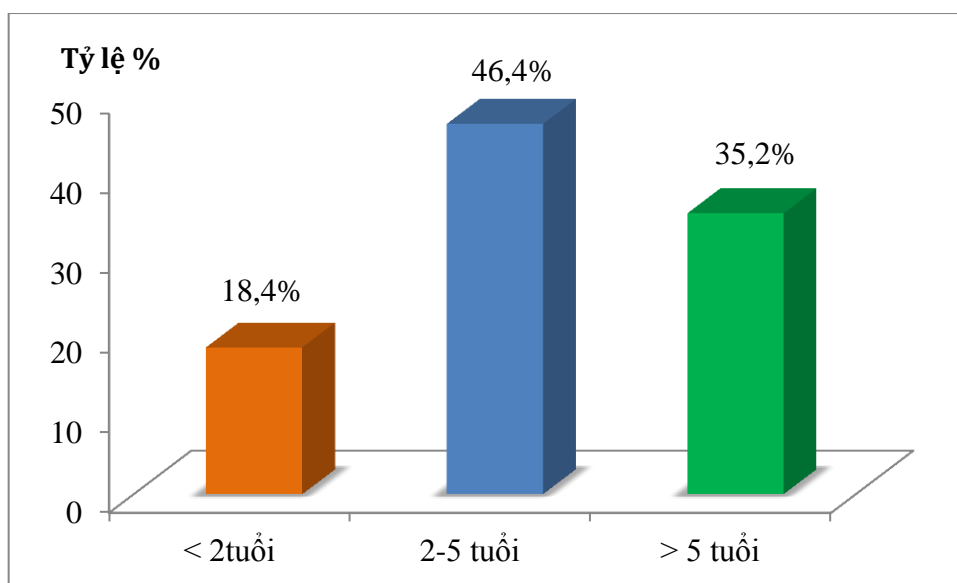
### Chương 3

## KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Trong thời gian nghiên cứu từ tháng 8-2013 đến tháng 8-2015, có 125 trẻ trong cơn hen cấp đủ tiêu chuẩn được mời tham gia nghiên cứu. Đồng thời có 30 trẻ khỏe mạnh được định lượng cytokine để làm nhóm chứng.

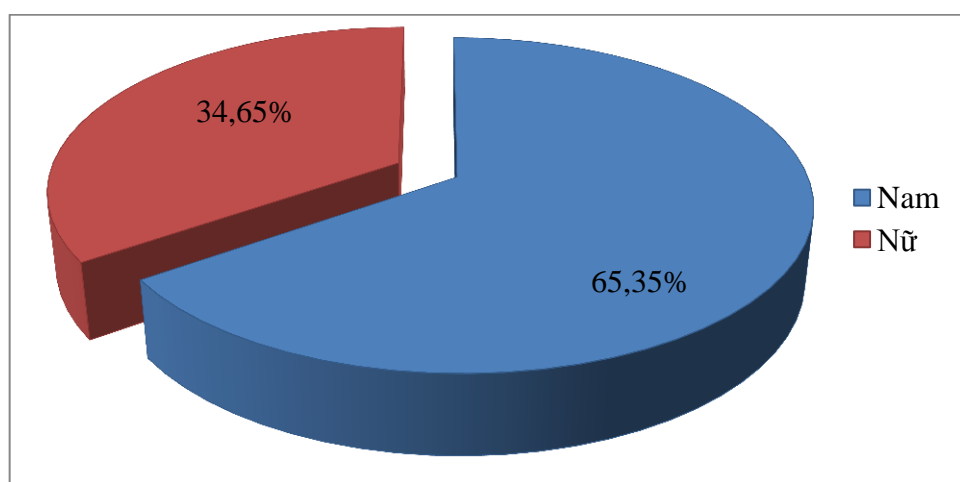
### 3.1. Đặc điểm chung trẻ hen phế quản điều trị tại khoa Miễn dịch- dị ứng, bệnh viện Nhi Trung ương

#### 3.1.1. Phân bố bệnh nhân theo tuổi, giới



**Biểu đồ 3.1: Phân bố bệnh nhân theo tuổi**

*Nhận xét:* HPQ có thể gặp ở mọi lứa tuổi, trong đó nhóm tuổi nhập viện hay gặp nhất là 2-5 tuổi chiếm tỷ lệ 46,5%. Nhóm trẻ trên 5 tuổi chiếm tỷ lệ 35,2%.



**Biểu đồ 3.2: Phân bố bệnh nhân theo giới**

*Nhận xét:* HPQ gặp ở trẻ nam nhiều hơn trẻ nữ với tỷ lệ trẻ nam là 65,6% và trẻ nữ là 34,4%. Tỷ lệ giữa trẻ nam/nữ là: 1,9/1.

### 3.1.2. Tiền sử

**Bảng 3.1. Tiền sử gia đình**

Tiền sử	Bố hen		Mẹ hen		Cả bố và mẹ bị hen	
	n	%	n	%	n	%
Có	26	20,8	15	12	5	4
Không	99	79,2	110	88	120	96

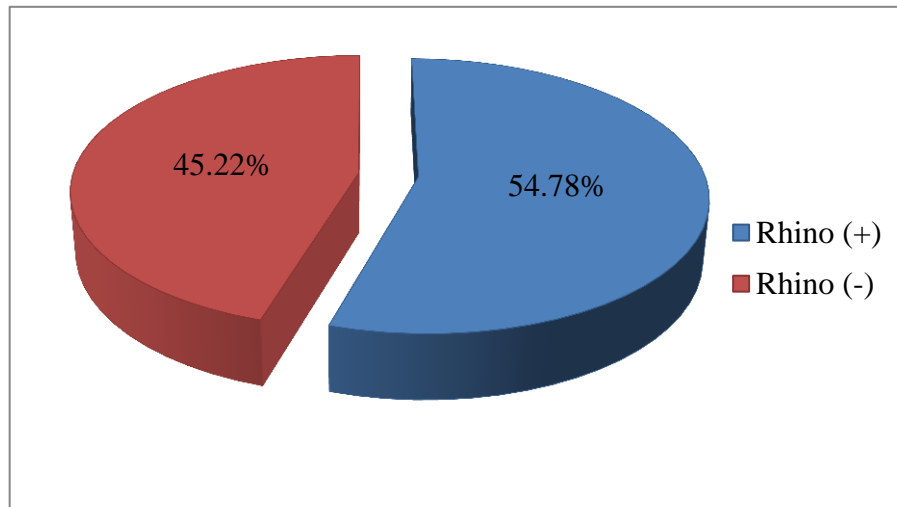
*Nhận xét:* 20,8% trẻ có bố bị hen phế quản và 12% trẻ có mẹ bị hen phế quản. Có 4% trẻ có cả bố và mẹ mắc hen phế quản.

**Bảng 3.2. Tiền sử bản thân**

	Viêm mũi dị ứng		Chàm		Dị ứng thức ăn	
	n	%	n	%	n	%
Có	87	69,6	47	37,6	14	11,2
Không	38	30,4	78	62,4	111	88,8

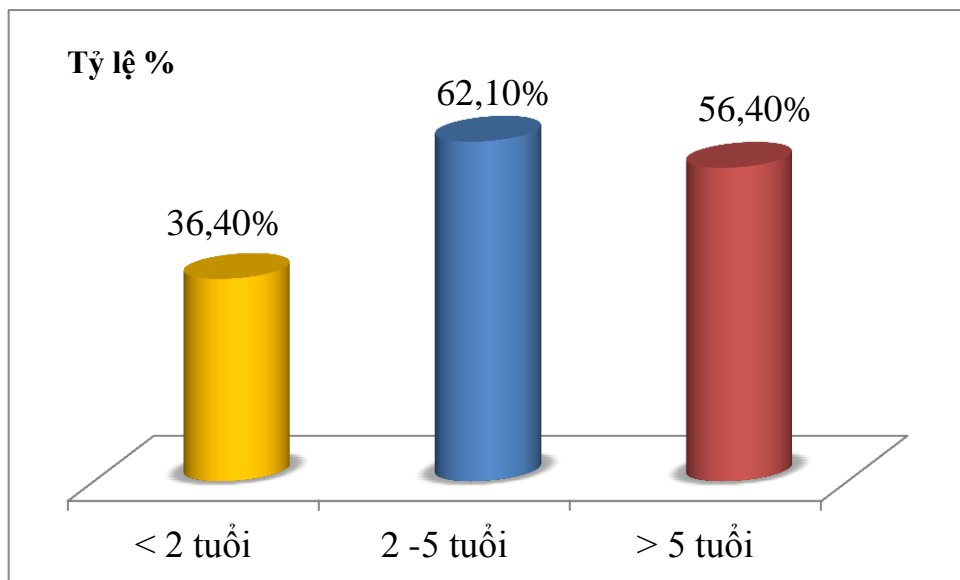
*Nhận xét:* 11,2% trẻ HPQ có tiền sử dị ứng thức ăn, 37,6% trẻ HPQ mắc chàm và 69,6% trẻ HPQ có kèm theo viêm mũi dị ứng.

### 3.1.3. Tỷ lệ trẻ HPQ nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp



**Biểu đồ 3.3. Tỷ lệ trẻ HPQ nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp**

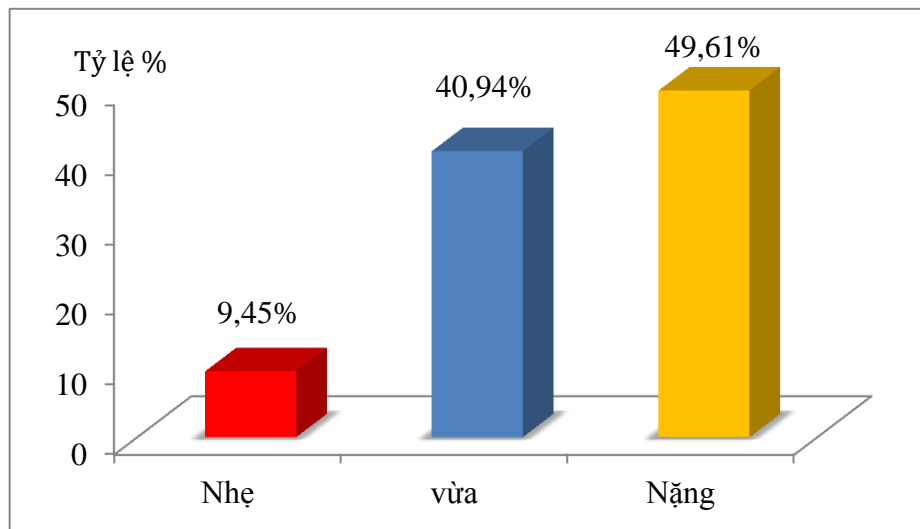
*Nhận xét:* Có 115/125 bệnh nhân trong cơn HPQ cấp được chỉ định làm xét nghiệm tìm Rhinovirus, trong đó 63 bệnh nhân tìm thấy Rhinovirus (RV) trong dịch tỵ hầu, chiếm tỷ lệ 54,8%.



**Biểu đồ 3.4. Tỷ lệ trẻ HPQ nhiễm Rhinovirus theo nhóm tuổi**

*Nhận xét:* Tỷ lệ trẻ nhiễm RV thay đổi theo từng nhóm tuổi. Nhóm trẻ 2-5 tuổi có tỷ lệ nhiễm RV trong cơn hen cấp cao nhất, chiếm 61,1%. Nhóm trẻ dưới 2 tuổi có tỷ lệ nhiễm RV thấp nhất, chiếm 36,4%.

### 3.1.4. Độ nặng của cơn hen cấp



**Biểu đồ 3.5. Phân loại độ nặng cơn hen cấp**

*Nhận xét:* Độ nặng cơn hen cấp được tính theo thang điểm PAS. Trẻ nhập viện chủ yếu là cơn hen cấp mức độ trung bình và nặng (90,55%), trong đó cơn hen cấp nặng chiếm gần 50% số bệnh nhân.

### 3.1.5. Mối tương quan giữa độ nặng cơn hen với tình trạng nhiễm *Rhinovirus*

**Bảng 3.3. Mối tương quan giữa độ nặng cơn hen cấp với tình trạng nhiễm *Rhinovirus***

Mức độ nặng Virus	Nhẹ		Trung bình		Nặng		p
	n	%	n	%	n	%	
Dương tính	7	33,3	27	62,7	29	56,9	0,022
Âm tính	14	66,7	16	36,3	22	43,1	
Tổng	21	100	43	100	51	100	

*Nhận xét:* Nhiễm *Rhinovirus* có liên quan rõ rệt với độ nặng của cơn hen cấp. Cơn hen cấp mức độ nhẹ ở trẻ có tỷ lệ nhiễm RV thấp hơn hẳn trẻ HPQ mức độ trung bình và nặng ( $p=0,022$ ).



### 3.2. Biến đổi tế bào viêm trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản

#### 3.2.1. Công thức bạch cầu ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp

**Bảng 3.4. Số lượng bạch cầu ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp**

Bạch cầu	Bình thường		Tăng	
	n	%	n	%
Số lượng bạch cầu	23	18,4	102	<b>81,6</b>
Bạch cầu ưa acid	85	68,0	40	<b>32,0</b>
Bạch cầu trung tính	42	33,6	83	<b>66,4</b>

*Nhận xét:* Trong các trẻ HPQ nhập viện, bệnh nhân có tăng số lượng bạch cầu trong cơn hen cấp là 81,6%, tăng bạch cầu ưa acid là 32,0% và tăng bạch cầu đa nhân trung tính là 66,4%.

#### 3.2.2. Số lượng tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+ trong cơn hen cấp

**Bảng 3.5. Số lượng tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+ trong cơn hen cấp**

Tế bào lympho T	Bình thường		Giảm	
	n	%	n	%
TCD3+	30	60	20	<b>40</b>
TCD4+	27	54	23	<b>46</b>
TCD8+	41	82	9	<b>18</b>

*Nhận xét:* Có 50 trẻ được định lượng tế bào lympho T trong cơn hen cấp. Trong đó số trẻ giảm tế bào TCD3+ là 40%, TCD4+ là 46% và TCD8+ là 18%.

### 3.2.3. Mối tương quan giữa số lượng tế bào lympho T với độ nặng cơn hen

**Bảng 3.6. Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD3+ với độ nặng cơn hen cấp**

TCD3+ Mức độ nặng	Bình thường		Giảm		Tổng số		p
	n	%	n	%	n	%	
Nhẹ, trung bình	15	75	5	25	20	100	0,059
Nặng	15	50	15	50	30	100	
Tổng	30	60	20	40	50	100	

*Nhận xét:* Nhóm bệnh nhân có cơn hen cấp nặng có tỷ lệ tế bào TCD3+ giảm rõ rệt so với bệnh nhân có cơn hen cấp mức độ trung bình và nhẹ (50% so với 25%,  $p=0,059$ ).

**Bảng 3.7. Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD4+ với độ nặng cơn hen cấp**

TCD4+ Mức độ nặng	Bình thường		Giảm		Tổng số		p
	n	%	n	%	n	%	
Nhẹ, trung bình	13	65,00	7	35,00	20	100	0,203
Nặng	14	46,67	16	53,33	30	100	
Tổng	27	54	23	39,22	50	100	

*Nhận xét:* Nhóm bệnh nhân cơn hen cấp nặng có tỷ lệ tế bào TCD4+ giảm hơn so với nhóm bệnh nhân có cơn hen nhẹ và trung bình, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê ( $p=0,203$ ).

**Bảng 3.8. Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD8+ với độ nặng cơn hen cấp**

TCD8+ / Mức độ nặng	Bình thường		Giảm		Tổng số		p
	n	%	n	%	n	%	
Nhẹ, trung bình	20	95,24	1	4,76	21	100	0,038
Nặng	21	72,41	8	27,59	29	100	
Tổng	41	60,78	9	39,22	50	100	

*Nhận xét:* Trẻ trong cơn hen cấp nặng có tỷ lệ TCD8+ giảm là 27,59%, trẻ có cơn hen cấp mức độ nhẹ hoặc trung bình có tỷ lệ TCD8+ giảm là 4,76%. Nhóm trẻ trong cơn hen cấp nặng có tỷ lệ TCD8+ giảm nhiều hơn trẻ trong cơn hen cấp mức độ trung bình và nhẹ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ( $p=0,038$ ).

#### 3.2.4. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với độ nặng cơn hen cấp.

**Bảng 3.9. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với độ nặng cơn hen cấp**

Mức độ nặng	Bạch cầu bình thường		Bạch cầu tăng		p
	n	%	n	%	
Nhẹ	4	17,39	8	7,84	0,149
Trung bình	11	47,82	39	38,23	
Nặng	8	34,47	55	53,92	

*Nhận xét:* Số lượng trẻ tăng bạch cầu trong máu ngoại vi ở nhóm cơn hen cấp nhẹ là 7,84%, cơn hen cấp trung bình là 38,23% và cơn hen cấp nặng là 53,92%, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

### 3.2.5. *Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với độ nặng cơn hen cấp*

**Bảng 3.10. *Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với độ nặng của cơn hen cấp***

Mức độ nặng	Bạch cầu ĐNTT bình thường		Bạch cầu ĐNTT tăng		p
	n	%	n	%	
Nhẹ	7	16,67	5	6,03	0,030
Trung bình	20	47,62	30	36,14	
Nặng	15	35,71	48	57,83	

*Nhận xét:* Có mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với mức độ nặng của cơn hen cấp. Nhóm bệnh nhân cơn hen cấp nặng có số lượng bạch cầu đa nhân trung tính cao hơn nhóm trung bình và nhẹ ( $p=0,03$ ).

### 3.2.6. *Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với độ nặng cơn hen*

**Bảng 3.11. *Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với độ nặng của cơn hen cấp***

BC ưa acid / Mức độ nặng	Bình thường		Tăng		p
	n	%	n	%	
Nhẹ	7	8,23	5	12,5	0,709
Trung bình	35	41,17	15	37,5	
Nặng	43	49,40	20	50	

*Nhận xét:* Không có mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với độ nặng của cơn hen cấp ( $p=0,709$ ).

### 3.2.7. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp

**Bảng 3.12. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với tình trạng nhiễm Rhinovirus**

<b>Rhinovirus</b> <b>Bạch cầu</b>	<b>Dương tính</b> <b>(n=63)</b>	<b>Âm tính</b> <b>(n=52)</b>	<b>p</b>
Bình thường	5 (7,94%)	16 (30,77%)	0,002
Tăng	58 (92,06%)	36 (69,23%)	

*Nhận xét:* Có mối tương quan giữa số lượng bạch cầu trong máu ngoại vi với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp. Trẻ nhiễm Rhinovirus có số lượng bạch cầu cao là 92,06% so với 69,23% ở nhóm không nhiễm Rhinovirus ( $p=0,002$ ).

**Bảng 3.13. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp**

<b>Rhinovirus</b> <b>BC trung tính</b>	<b>Dương tính</b> <b>(n=63)</b>	<b>Âm tính</b> <b>(n=52)</b>	<b>p</b>
Bình thường	21 (33,3%)	31 (59,6%)	0,02
Tăng	42 (66,7%)	21 (40,4%)	

*Nhận xét:* Bệnh nhân tăng bạch cầu đa nhân trung tính ở nhóm HPQ nhiễm RV là 66,7% so với 40,4% ở nhóm HPQ không nhiễm RV, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p=0,02$ ).

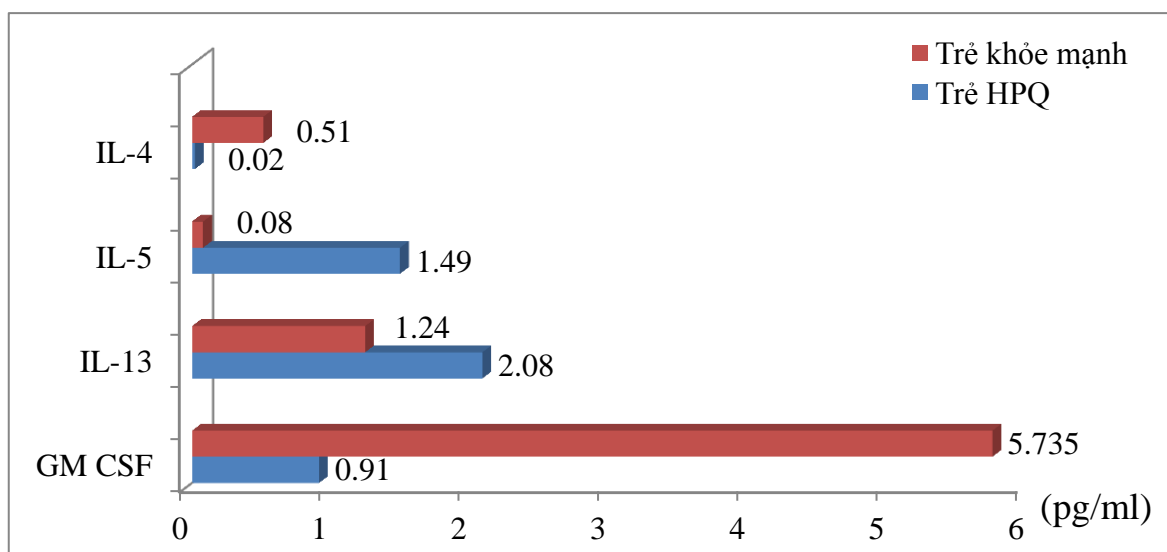
**Bảng 3.14. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp**

<b>Rhinovirus</b> <b>BC ưa acid</b>	<b>Dương tính</b> <b>(n=63)</b>	<b>Âm tính</b> <b>(n=52)</b>	<b>p</b>
Bình thường	41 (65,1%)	39 (75%)	0,03
Tăng	22 (34,9%)	13 (25%)	

*Nhận xét:* Bệnh nhân HPQ tăng bạch cầu ưa acid ở nhóm nhiễm RV là 34,9% so với 25% ở nhóm không nhiễm RV, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p=0,03$ ).

### **3.3. Biến đổi cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen phế quản cấp**

#### **3.3.1. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp**



**Biểu đồ 3.6. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp**

*Nhận xét:* Nồng độ các cytokine thuộc Th2 như IL-4, IL-5 và GMCSF có sự khác biệt có ý nghĩa giữa nhóm hen phế quản và nhóm trẻ khỏe mạnh. Trong cơn hen cấp, nồng độ IL-4 và GMCSF giảm so với trẻ khỏe mạnh, ngược lại nồng độ IL-5 và IL-13 trong cơn hen cấp cao hơn trẻ khỏe mạnh.

**3.3.2. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen phế quản.**

**Bảng 3.15. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản**

<b>Nhóm nghiên cứu</b> <b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>Trẻ HPQ</b>	<b>Trẻ khỏe mạnh</b>	<b>p</b>
IL-2 (n)	125	30	
Trung vị	0,16	0,51	0,27
(min-max)	(0,05- 44,02)	(0,105-67,86)	
IL-12(n)	55	15	
Trung vị	0,05	0,01	0,043
(min-max)	(0,01 -11,98)	(0,01- 1,83)	
IFN- $\gamma$ (n)	125	30	
Trung vị	12,41	12,41	0,46
(min-max)	(0,21 -1056,32)	(2,765- 1477,2)	
TNF- $\alpha$ (n)	125	30	
Trung vị	0,43	1,46	0,005
(min-max)	(0,21-249,91)	(0,32- 44,46)	

*Nhận xét:* Trong cơn hen cấp, nồng độ IL-12 cao hơn ở trẻ HPQ so với trẻ khỏe mạnh. Ngược lại, nồng độ TNF- $\alpha$  giảm rõ rệt ở trẻ HPQ so với trẻ khỏe mạnh ( $p=0,005$ ).

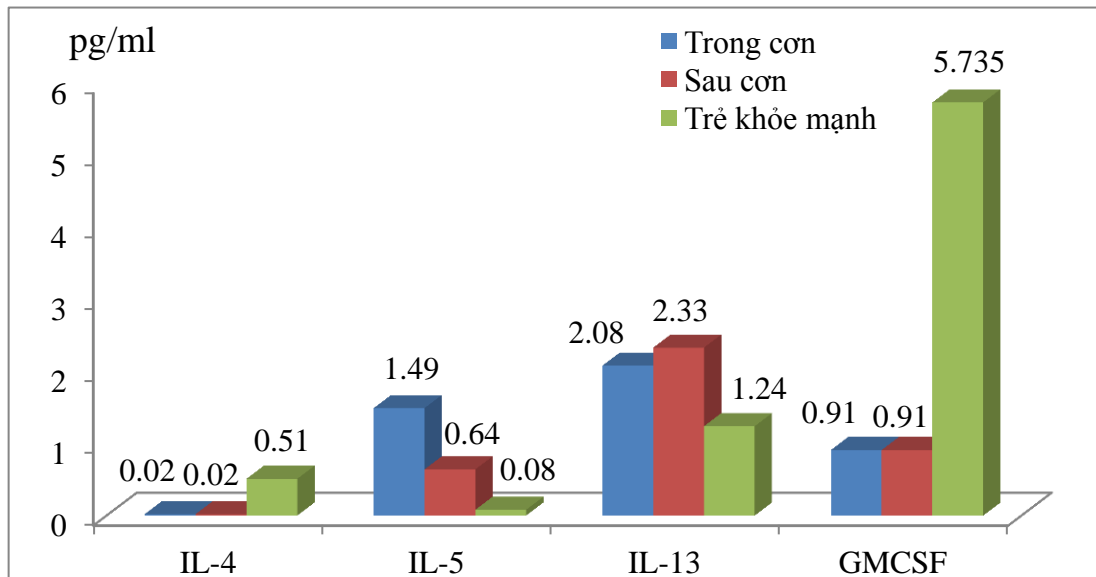
### 3.3.3. Nồng độ các cytokine khác trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản

**Bảng 3.16. Nồng độ các cytokine khác trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản**

Nhóm nghiên cứu Cytokine (pg/ml)	Trẻ HPQ	Trẻ khỏe mạnh	p
IL-10 (n) Trung vị (min-max)	125 2,35 (0,005 -399,78)	30 1,52 (0,35- 43)	0,25
IL-6 (n) Trung vị (min-max)	70 0,3 (0,03- 40,9)	15 1,03 (1,03- 36,63)	0,003
IL-8 (n) Trung vị (min-max)	70 5,07 (1,5- 88,37)	15 5,07 (0,75-29,62)	0,92

*Nhận xét:* Nồng độ IL-6 ở trẻ trong cơn hen cấp giảm có ý nghĩa so với trẻ khỏe mạnh ( $p=0,003$ ).

### 3.3.4. So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 ở trẻ hen phế quản trong cơn, sau cơn và trẻ khỏe mạnh



**Biểu đồ 3.7. Nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong cơn hen, sau cơn hen và trẻ khỏe mạnh**



*Nhận xét:* Nồng độ IL-5 ở nhóm trong cơn hen cao hơn nhóm trẻ sau cơn hen cấp và nhóm trẻ khỏe mạnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Nồng độ IL-13 ở nhóm trong cơn hen và sau cơn hen cấp cao hơn nhóm trẻ khỏe, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p < 0,05$ . Nồng độ IL-4 ở trẻ trong cơn hen cấp thấp hơn trẻ sau cơn hen cấp và nhóm trẻ khỏe, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,001$ .

### **3.3.5. So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 ở trẻ hen phế quản trong cơn, sau cơn hen và trẻ khỏe mạnh**

**Bảng 3.17. So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 trong cơn hen, sau cơn hen và trẻ khỏe mạnh**

<b>Nhóm nghiên cứu</b> <b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>Trong cơn</b>	<b>Ngoài cơn</b>	<b>Trẻ khỏe mạnh</b>	<b>p</b>
IL-2(n) Trung vị (min-max)	125 0,16 (0,05- 44,02)	59 0,16 (0,105-45,51)	30 0,51 (0,105- 67,86)	0,18
IL-12(n) Trung vị (min-max)	55 0,01 (0,01-11,98)	9 0,01 (0,01-1,38)	15 0,01 (0,01-1,83)	0,12
IFN- $\gamma$ (n) Trung vị (min-max)	125 12,41 (0,21-1056,32)	15 12,41 (2,765-895,51)	30 12,41 (2,765- 1477,2)	0,66
TNF- $\alpha$ (n) Trung vị (min-max)	125 0,43 (0,21- 249,91)	59 0,43 (0,02-95,03)	30 1,46 (0,32-44,46)	0,02

*Nhận xét:* Nồng độ TNF- $\alpha$  ở trẻ trong cơn hen cấp và trẻ sau cơn hen cấp thấp hơn so với trẻ khỏe mạnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p = 0,02$ . Nồng độ các cytokine khác như IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$  không có sự khác biệt giữa nhóm trong cơn hen cấp so với nhóm sau cơn hen cấp và trẻ khỏe mạnh.

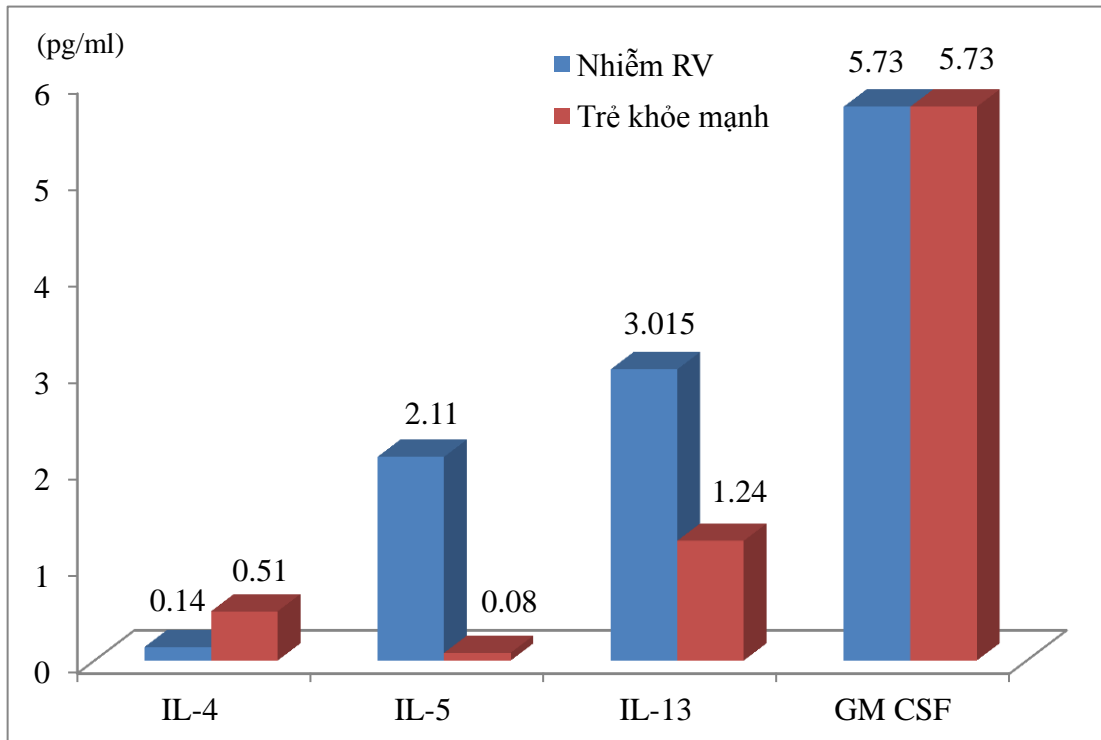
**3.3.6. So sánh nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 ở trẻ trong cơn, sau cơn hen phế quản và trẻ khỏe mạnh**

**Bảng 3.18. Nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 ở trẻ trong cơn, sau cơn hen và trẻ khỏe mạnh**

<b>Nhóm nghiên cứu</b> <b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>Trong cơn</b>	<b>Ngoài cơn</b>	<b>Trẻ khỏe mạnh</b>	<b>p</b>
IL-10(n)	125	59	30	
Trung vị	2,35	1,67	1,52	0,41
(min-max)	(0,005- 399,78)	(0,005-57,97)	(0,35- 43)	
IL-6 (n)	69	39	15	
Trung vị	0,3	0,18	1,03	0,01
(min-max)	(0,03- 40,9)	(0,03-7,32)	(1,03- 36,63)	
IL-8(n)	70	39	15	
Trung vị	5,07	4,77	5,07	0,85
(min-max)	(1,5- 88,37)	(2,08-592)	(0,75- 29,62)	

*Nhận xét:* Nồng độ IL- 6 ở trẻ hen phế quản thấp hơn trẻ khỏe mạnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p=0,01$ . Nồng độ IL-10 và IL-8 không có sự khác biệt giữa trẻ trong cơn hen cấp, sau cơn hen cấp và trẻ khỏe mạnh.

### 3.3.7. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm *Rhinovirus*



**Biểu đồ 3.8. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm *Rhinovirus***

*Nhận xét:* Nồng độ IL-4 trong nhóm hen nhiễm RV thấp hơn so với trẻ khỏe mạnh và ngược lại nồng độ IL-5 trong nhóm nhiễm RV cao hơn so với trẻ khỏe mạnh ( $p < 0,05$ ). Nồng độ IL-13 ở trẻ HPQ có nhiễm RV là 3,02 pg/ml so với 1,24 pg/ml ở trẻ khỏe mạnh, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Không có sự khác biệt về nồng độ GM-CSF giữa trẻ HPQ có nhiễm RV và trẻ khỏe mạnh.

### 3.3.8. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus

**Bảng 3.19. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus**

<b>Rhinovirus</b> <b>Cytokine</b> <b>(pg/ml)</b>	<b>Nhiễm RV</b>	<b>Trẻ khỏe mạnh</b>	<b>p</b>
IL-2(n) Trung vị (min-max)	63 0,25 (0,105 - 44,02)	30 0,51 (0,105 - 67,86)	0,71
IL-12(n) Trung vị (min-max)	26 0,81 (0,01 - 11,98)	15 0,01 (0,01 - 1,83)	0,008
TNF- $\alpha$ (n) Trung vị (min-max)	63 0,43 (0,21 - 230,2)	30 1,46 (0,32 - 44,46)	0,058
IFN- $\gamma$ (n) Trung vị (min-max)	63 12,41 (0,21 - 1056,3)	30 12,41 (2,76 - 1477,2)	0,645

*Nhận xét:* Nồng độ TNF- $\alpha$  trong nhóm hen nhiễm RV thấp hơn so với trẻ khỏe mạnh và ngược lại nồng độ IL-12 trong nhóm hen nhiễm RV cao hơn so với trẻ khỏe mạnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

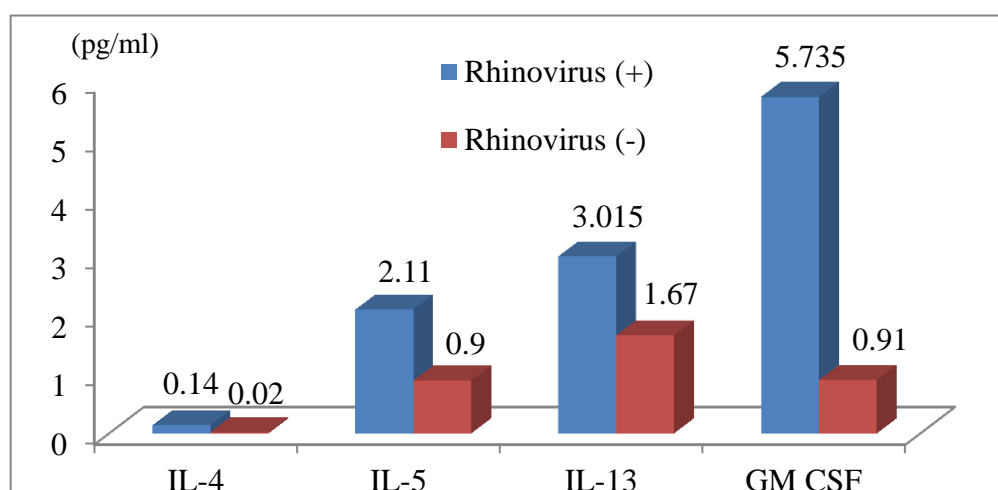
### 3.3.9. Nồng độ các cytokine (IL-10, IL-6, IL-8) khác ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus

**Bảng 3.20. Nồng độ các cytokine khác ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus**

<b>Virus</b> <b>Cytokine(pg/ml)</b>	<b>Nhiễm RV</b>	<b>Trẻ khỏe mạnh</b>	<b>p</b>
IL-10(n) Trung vị (min-max)	63 2,35 (0,035 - 48,6)	30 1,52 (0,035 - 43)	0,25
IL-6(n) Trung vị (min-max)	37 1,03 (0,03 - 7,24)	15 1,03 (1,03 - 36,63)	0,014
IL-8(n) Trung vị (min-max)	37 5,97 (2,1 - 88,37)	15 5,07 (0,75 - 29,62)	0,55

*Nhận xét:* Nồng độ IL-6 trong nhóm nhiễm RV thấp hơn so với trẻ khỏe mạnh, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p=0,014$ .

### 3.3.10. So sánh nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus và không nhiễm Rhinovirus.



**Biểu đồ 3.9. So sánh nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong con hen cấp**

*Nhận xét:* Nồng độ IL-4 trong nhóm nhiễm Rhinovirus cao hơn nhóm không nhiễm Rhinovirus, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p=0,0034$ . Nồng độ các cytokine như GM CSF, IL-5, IL-13 ở nhóm nhiễm RV cao hơn nhóm không nhiễm RV, tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

**3.3.11. So sánh nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus và không nhiễm Rhinovirus**

**Bảng 3.21. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp**

<b>Rhinovirus</b> <b>Cytokine(pg/ml)</b>	<b>Dương tính</b>	<b>Âm tính</b>	<b>P</b>
IL-2 (n)	63	51	
Trung vị	0,25	0,16	0,039
(min-max)	(0,105 -44,02)	(0,05 - 38,78)	
IL-12(n)	26	29	
Trung vị	0,81	0,01	0,029
(min-max)	(0,01 - 11,98)	(0,01 - 5,59)	
IFN- $\gamma$ (n)	63	51	
Trung vị	0,43	12,41	0,66
(min-max)	(0,21 - 230,19)	(2,43 - 642,5)	
TNF- $\alpha$ (n)	63	51	
Trung vị	0,43	0,63	0,3
(min-max)	(0,21 - 230,19)	(0,27- 149,91)	

*Nhận xét:* Nồng độ IL-2, IL-12 trong nhóm nhiễm Rhinovirus cao hơn nhóm không nhiễm Rhinovirus, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p<0,05$ . Không có sự khác biệt về nồng độ IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.

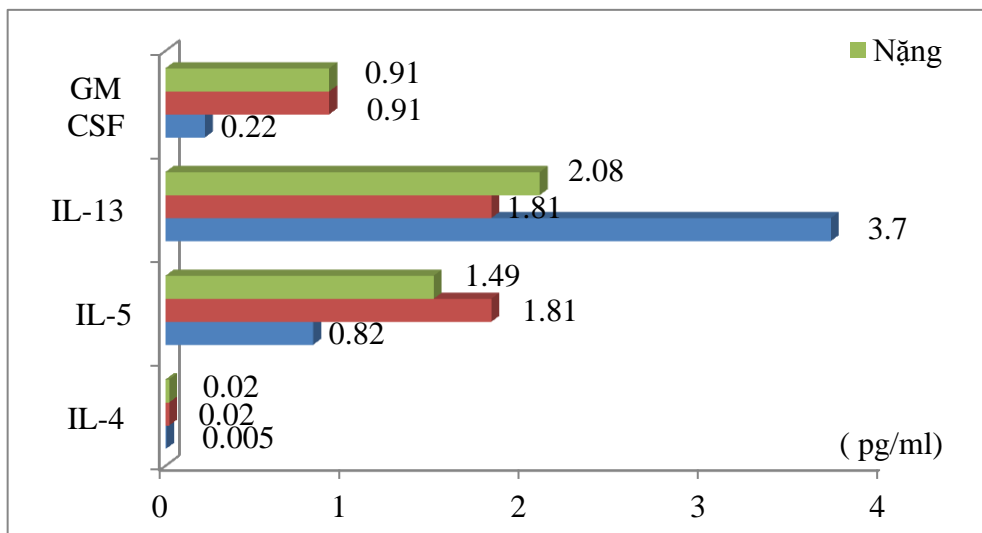
### 3.3.12. So sánh các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 trong nhóm nhiễm Rhinovirus và nhóm không nhiễm Rhinovirus

**Bảng 3.22. Nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 trong nhóm nhiễm Rhinovirus và nhóm không nhiễm Rhinovirus**

Cytokine(pg/ml)	Dương tính	Âm tính	p
IL-10(n)	63	51	
Trung vị (min-max)	2,35 (0,35 - 48,61)	2,75 (0,005- 399,78)	0,82
IL-6(n)	37	22	
Trung vị (min-max)	1,03 (0,03- 7,24)	0,06 (0,03-40,9)	0,3
IL-8 (n)	37	22	
Trung vị (min-max)	5,97 (2,08-88,37)	3,46 (1,5-21,96)	0,01

*Nhận xét:* Nồng độ IL-8 trong nhóm nhiễm Rhinovirus cao hơn nhóm không nhiễm Rhinovirus. Không có sự khác biệt về nồng độ IL-6, IL-10 với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp.

### 3.3.13. So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 với mức độ nặng của cơn hen cấp



**Biểu đồ 3.10. So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 với mức độ nặng của cơn hen cấp**

*Nhận xét:* Nồng độ IL-4, IL-5, GM CSF tăng ở nhóm có cơn hen nặng và trung bình so với nhóm có cơn hen nhẹ, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

### 3.3.14. So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 với mức độ nặng của cơn hen cấp

**Bảng 3.23. So sánh các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 với mức độ nặng của cơn hen cấp**

Mức độ nặng	Nhẹ	Trung bình	Nặng	p
IL-2(n)	11	51	63	
Trung vị (min-max)	0,16 (0,105-13,86)	0,16 (0,05-44,02)	0,16 (0,105-15,99)	0,51
IL-12(n)	3	25	27	
Trung vị (min-max)	0,45 (0,01-11,98)	0,01 (0,01-8,03)	0,02 (0,01- 9,56)	0,69
IFN- $\gamma$ (n)	11	51	63	
Trung vị (min-max)	12,41 (2,43-461,45)	22,41 (2,43- 642,5)	12,41 (0,21-1056,32)	0,52
TNF- $\alpha$ (n)	11	51	63	
Trung vị (min-max)	0,335 (0,32-95,7)	0,43 (0,27 - 249,91)	0,43 (0,21-230,19)	0,88

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 với độ nặng cơn hen cấp.



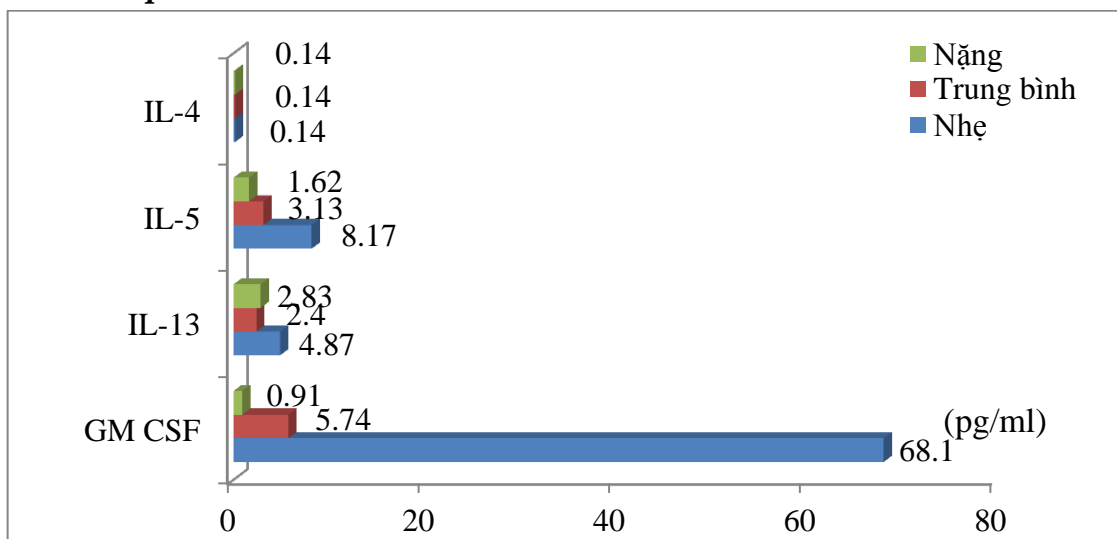
### 3.3.15. So sánh các cytokine thuộc nhóm IL-10, IL-6, IL-8 với độ nặng cơn hen cấp

**Bảng 3.24. So sánh các cytokine thuộc nhóm IL-10, IL-6, IL-8 với độ nặng cơn hen cấp**

Mức độ nặng Cytokine (pg/ml)	Nhẹ	Trung bình	Nặng	p
IL-10(n) Trung vị (min-max)	11 2,06 (0,07-78,07)	51 2,71 (2,68 - 21,96)	63 2,19 (0,035-48,61)	0,98
IL-6 (n) Trung vị (min-max)	8 0,53 (0,03-4,85)	25 0,06 (0,03-4,85)	36 0,725 (0,03-30,2)	0,97
IL-8(n) Trung vị (min-max)	8 5,205 (2,68-21,96)	26 5,005 (2,08-21,9)	36 5,07 (1,5-88,37)	0,82

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về nồng độ các cytokine IL-6, IL-8, IL-10 với độ nặng cơn hen cấp.

### 3.3.16. Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th2 với mức độ nặng cơn hen cấp ở trẻ nhiễm Rhinovirus



**Biểu đồ 3.11. Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th2 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus**

*Nhận xét:* Nồng độ GMCSF giảm rõ rệt ở nhóm có cơn hen nặng so với nhóm có cơn hen mức độ trung bình và nhẹ ở trẻ hen phế quản nhiễm Rhinovirus.

**3.3.17. Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th1 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus**

**Bảng 3.25. Mối liên quan giữa các cytokine thuộc tế bào Th1 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus**

<b>Mức độ nặng</b> <b>Cytokine</b> <b>(pg/ml)</b>	<b>Nhẹ</b>	<b>Trung bình</b>	<b>Nặng</b>	<b>p</b>
IL-2(n)	5	22	36	0,65
Trung vị	0,51	0,335	0,25	
(min-max)	(0,16-13,86)	(0,105-44,02)	(0,105-15,99)	
IL-12(n)	1	8	17	0,23
Trung vị	11,98	1,86	0,11	
(min-max)	(11,98)	(0,01-8,63)	(0,01-9,56)	
TNF- $\alpha$ (n)	5	22	36	0,74
Trung vị	0,335	0,43	0,645	
(min-max)	(0,32-5,07)	(0,335-14,42)	(0,21-230,19)	
IFN- $\gamma$ (n)	5	22	36	0,23
Trung vị	12,41	12,41	12,41	
(min-max)	(12,41 - 461,45)	(2,765 - 284,14)	(0,21-1056,3)	

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về nồng độ các cytokine thuộc nhóm Th1 với độ nặng cơn hen cấp ở trẻ hen nhiễm Rhinovirus.

**3.3.18. Mối liên quan giữa các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 với mức độ nặng cơn hen phế quản ở trẻ nhiễm Rhinovirus.**

**Bảng 3.26. Mối liên quan giữa các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 với mức độ nặng của cơn hen cấp ở trẻ có nhiễm Rhinovirus**

Cytokine (pg/ml)	Mức độ nặng			p
	Nhẹ	Trung bình	Nặng	
IL-10 (n)	5	22	36	0,94
Trung vị	2,06	2,64	2,27	
(min-max)	(0,07-8,49)	(0,035-15,82)	(0,21-48,61)	
IL-6(n)	4	14	19	0,3
Trung vị	1,79	1,03	1,03	
(min-max)	(0,03-4,85)	(0,03-7,24)	(0,03-5,68)	
IL-8(n)	4	14	19	0,49
Trung vị	7,03	8,09	5,07	
(min-max)	(4,44-13,48)	(2,08-21,9)	(2,9-88,37)	

*Nhận xét:* Không có sự khác biệt về nồng độ các cytokine IL-6, IL-8, IL-10 với độ nặng cơn hen cấp ở trẻ hen nhiễm Rhinovirus.

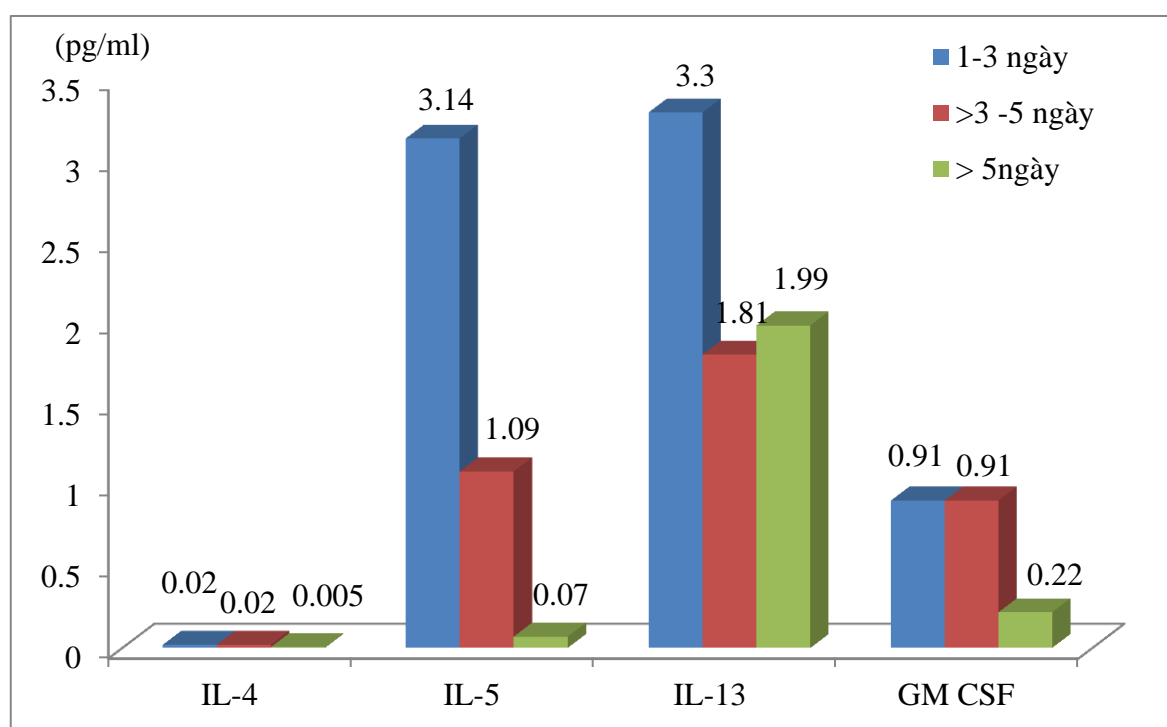
### 3.3.19. Thời gian nằm viện theo mức độ nặng cơn hen cấp

**Bảng 3.27. So sánh thời gian nằm viện với mức độ nặng cơn hen cấp**

Mức độ nặng Thời gian nằm viện	Nhẹ n = 12	Trung bình n = 51	Nặng n = 62	Chung n = 125
Ngày (SD)	4,75 1,76	4,37 1,96	4,82 2,05	4,632 1,99

*Nhận xét:* Không có mối liên quan giữa mức độ nặng của cơn hen cấp và thời gian nằm viện.

### 3.3.20. So sánh các cytokine thuộc tế bào Th2 với thời gian nằm viện



**Biểu đồ 3.12. So sánh các cytokine thuộc tế bào Th2 với thời gian nằm viện**

*Nhận xét:* Nồng độ IL-4 giảm ở nhóm nằm viện trên 5 ngày so với nhóm nằm viện dưới 5 ngày ( $p=0,03$ ). Nồng độ IL-5 giảm ở nhóm nằm viện kéo dài ( $p=0,02$ ).

### 3.3.21. So sánh các cytokine thuộc nhóm Th1 với thời gian nằm viện

**Bảng 3.28. So sánh các cytokine thuộc nhóm Th1 với thời gian nằm viện**

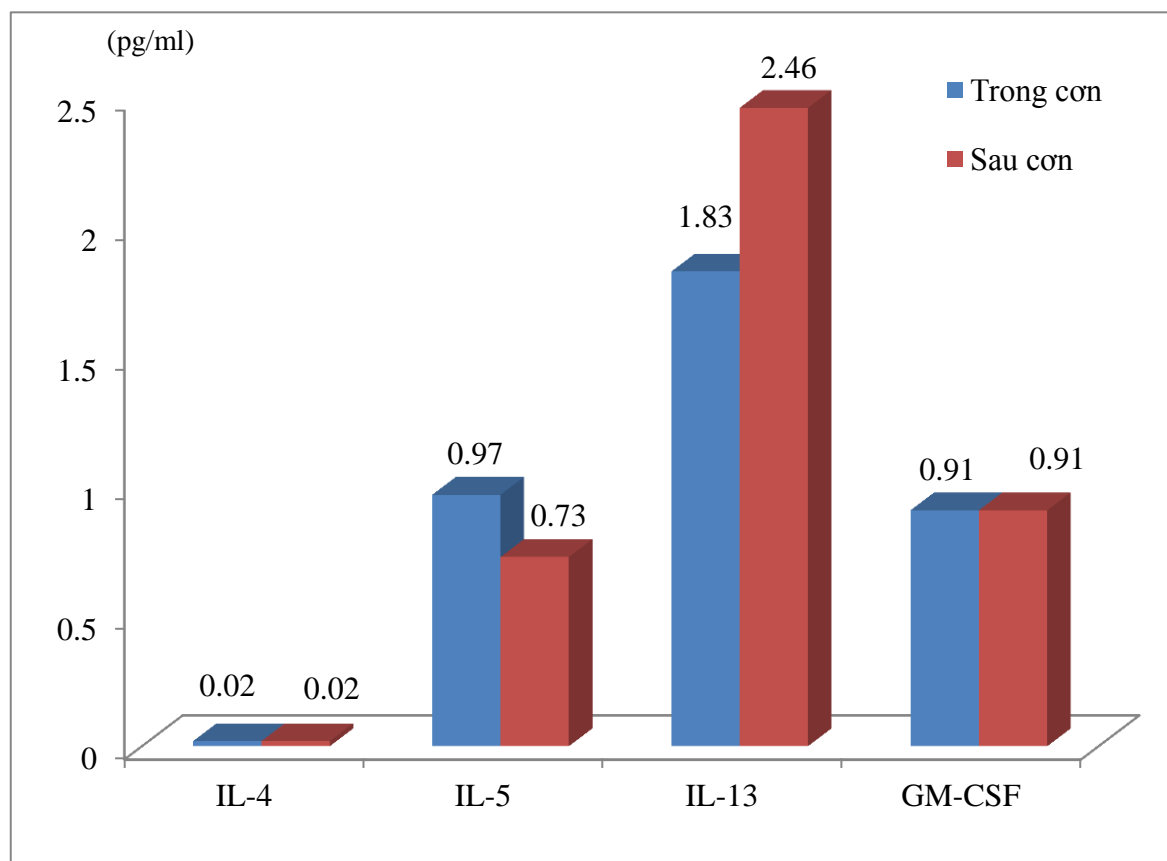
<b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>1-3 ngày</b>	<b>&gt; 3 -5 ngày</b>	<b>&gt; 5 ngày</b>	<b>p</b>
IL-2 (n)	40	57	26	
Trung vị	0,16	0,16	0,16	0,59
(min-max)	(0,105-13,86)	(0,05-38,78)	(0,105-44,02)	
IL-12 (n)	15	33	7	
Trung vị	0,11	0,01	0,01	0,74
(min-max)	(0,01-11,98)	(0,01-9,56)	(0,01-3,1)	
IFN- $\gamma$ (n)	40	57	26	
Trung vị	12,41	12,4	12,41	0,68
(min-max)	(2,43-461,45)	(0,2 - 1056,32)	(2,76-241,19)	
TNF- $\alpha$ (n)	40	57	26	
Trung vị	0,43	0,86	0,335	0,47
(min-max)	(0,27-14,42)	(0,21 - 249,91)	(0,27-95,7)	

*Nhận xét:* Không có mối liên quan giữa nồng độ các cytokine thuộc tế bào Th1 với thời gian nằm viện.

### 3.4. So sánh sự biến đổi cytokine trong máu ngoại vi trong và sau cơn hen cấp

#### 3.4.1. Biến đổi nồng độ các cytokine trong và sau cơn hen cấp

##### 3.4.1.1. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong và sau cơn hen cấp



**Biểu đồ 3.13. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong và sau cơn hen cấp**

*Nhận xét:* Nồng độ IL-4 có sự khác biệt trong và sau cơn hen. Khi bệnh nhân hồi phục sau cơn hen cấp, nồng độ IL-4 tăng lên. Các cytokine khác thuộc Th2 không có sự khác biệt trong và sau cơn hen cấp.

**3.4.1.2. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm Th1 trong và sau cơn hen cấp**

**Bảng 3.30. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 trong và sau cơn hen**

<b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>Trong cơn</b>	<b>Sau cơn</b>	<b>p</b>
IL-2 (n)	57	57	
Trung vị	0,10	0,16	0,0001
(Min - max)	(0,05 – 44,02)	(0,105 – 45,51)	
IL-12 (n)	20	20	
Trung vị	0,01	0,01	0,89
(Min - max)	(0,01 – 9,56)	(0,01 – 9,15)	
TNF- $\alpha$ (n)	57	57	
Trung vị	0,43	0,43	0,86
(Min - max)	(0,335 – 230,19)	(0,02 – 95,03)	
IFN- $\gamma$ (n)	57	57	
Trung vị	12,41	12,41	0,078
(Min - max)	(2,765 - 1056,32)	(2,765 – 895,51)	

*Nhận xét:* Trong cơn hen cấp nồng độ IL-2 thấp hơn sau cơn hen cấp, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với  $p= 0,0001$ .

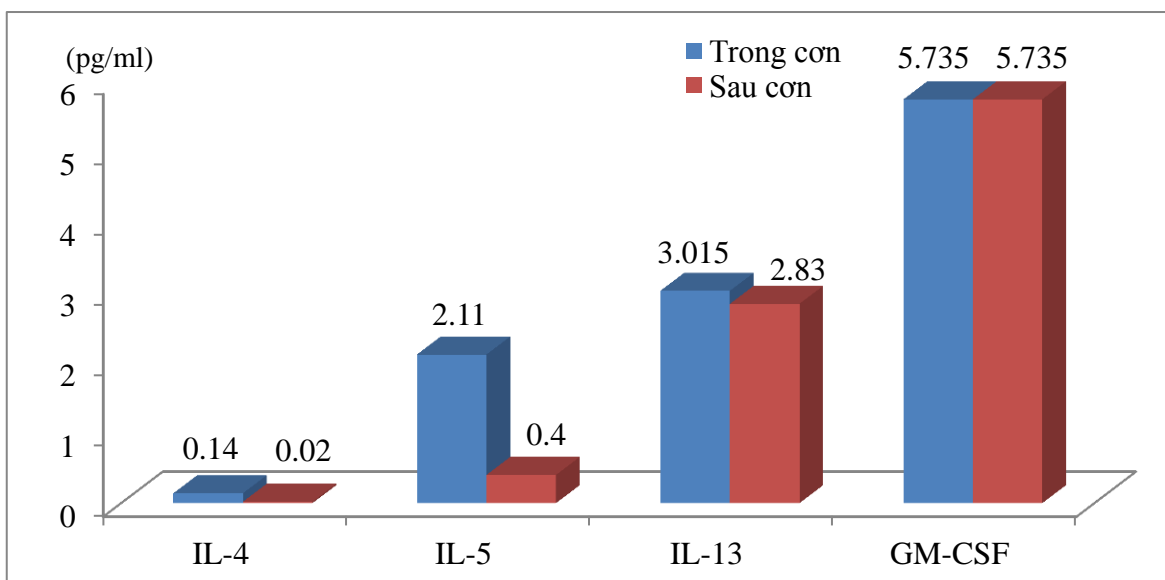
### 3.4.1.3. Biến đổi nồng độ các cytokine khác trong và sau cơn hen cấp

**Bảng 3.31. Biến đổi nồng độ các cytokine khác trong và sau cơn hen**

Cytokine (pg/ml)	Trong cơn	Sau cơn	p
IL-10(n) Trung vị (Min - max)	57 1,67 (0,005 – 81,31)	57 1,67 (0,005 – 57,97)	0,48
IL-6(n) Trung vị (Min - max)	37 0,06 (0,03 – 10)	37 0,69 (0,03 – 7,32)	0,86
IL-8(n) Trung vị (Min - max)	37 5,07 (2,08 – 88,37)	37 4,77 (2,08 – 592)	0,95

*Nhận xét:* Nồng độ các cytokine IL-6, IL-8, IL-10 không có sự khác biệt trong và sau cơn hen cấp.

### 3.4.2. Biến đổi nồng độ các cytokine trong và sau cơn hen ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus



**Biểu đồ 3.14. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong và sau cơn hen ở bệnh nhân hen nhiễm Rhinovirus.**



*Nhận xét:* Nồng độ IL-4 tăng lên trong cơn hen cấp, ( $p=0,08$ ). Các cytokine khác thuộc nhóm Th2 không có sự khác biệt trong và sau cơn hen ở nhóm nhiễm Rhinovirus.

**Bảng 3.32. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm Th1 trong và sau cơn hen cấp ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus.**

<b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>Trong cơn</b>	<b>Sau cơn</b>	<b>p</b>
IL-2 (n)	31	31	0,003
Trung vị	0,25	0,51	
(Min - max)	(0,105 – 44,02)	(0,105 – 44,13)	
IL-12 (n)	9	9	0,89
Trung vị	0,81	0,01	
(Min - max)	(0,01 – 11,98)	(0,01 – 9,15)	
INF- $\gamma$ (n)	31	31	0,53
Trung vị	12,41	12,41	
(Min - max)	(0,21 – 1056,32)	(2,765 – 895,51)	
TNF- $\alpha$ (n)	31	31	0,84
Trung vị	0,43	0,43	
(Min - max)	(0,21 – 230,19)	(0,335 – 95,03)	

*Nhận xét:* Qua bảng trên cho thấy nồng độ IL-2 có sự khác biệt trong và sau cơn hen cấp. Trong cơn hen nồng độ IL-2 thấp hơn sau cơn hen ở nhóm nhiễm Rhinovirus.

**Bảng 3.33. Biến đổi nồng độ các cytokine khác trong và sau cơn hen cấp ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus**

<b>Cytokine (pg/ml)</b>	<b>Trong cơn</b>	<b>Sau cơn</b>	<b>p</b>
IL-10 (n)	31	31	
Trung vị	2,35	2,29	0,37
(Min - max)	(0,035 – 48,61)	(0,035 – 57,97)	
IL-6 (n)	22	22	
Trung vị	1,03	1,03	0,8
(Min - max)	(0,03 – 7,24)	(0,03 – 7,32)	
IL-8 (n)	22	22	
Trung vị	5,97	8,09	0,13
(Min - max)	(2,08 – 88,37)	(2,38 – 592)	

*Nhận xét:* Nồng độ các cytokine IL-6, IL-8, IL-10 không có sự khác biệt trong và sau cơn hen ở nhóm nhiễm Rhinovirus.

## Chương 4

# BÀN LUẬN

### 4.1. Đặc điểm bệnh nhân hen phế quản điều trị tại Khoa Miễn dịch - Dịch ứng - Khớp Bệnh Viện nhi trung ương

Trong thời gian từ tháng 8-2013 đến tháng 8-2015, có 125 trẻ HPQ trong cơn hen cấp và 30 trẻ khỏe mạnh được mời tham gia nghiên cứu.

#### 4.1.1. Tuổi

Hen phế quản có thể gặp ở mọi lứa tuổi, tuy nhiên chẩn đoán hen phế quản ở trẻ nhỏ dưới 5 tuổi rất khó, vì triệu chứng lâm sàng không điển hình, các kỹ thuật thăm dò chức năng hô hấp khó thực hiện, nên chủ yếu dựa vào tiền sử bệnh và khám lâm sàng. Tuy nhiên, hiện nay hen phế quản được chẩn đoán sớm hơn do chương trình khởi động phòng chống hen toàn cầu (GINA) đã thống nhất tiêu chuẩn chẩn đoán hen ở trẻ nhỏ, trong đó có tiêu chuẩn dựa vào chỉ số tiên đoán hen (Pediatrics Asthma Index) [58-63].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trong 125 bệnh nhân hen phế quản nhập viện, có 18,4% trẻ HPQ dưới 2 tuổi, 46,4% ở lứa tuổi từ 2 - 5 tuổi và 35,2 % trẻ > 5 tuổi. Lam và cộng sự nghiên cứu trên 942 trẻ hen phế quản nhập viện cho thấy phần lớn trẻ hen phế quản phát hiện trước 6 tuổi, tuổi trung bình khởi phát hen phế quản ở trẻ là 3 tuổi [64].

#### 4.1.2. Giới

Ảnh hưởng của giới tính lên sự phát triển bệnh hen đã được chứng minh qua nhiều nghiên cứu. Các nghiên cứu đều chỉ ra tỷ lệ hen ở trẻ nam cao hơn trẻ nữ. Năm 2000, Cagney tiến hành một nghiên cứu ước tính vào năm 2020 tại Úc tỷ lệ hen mắc ở trẻ nam cao gấp 1,5 lần so với trẻ nữ [65]. Tuy nhiên ở người lớn, nữ có nguy cơ mắc hen cao hơn so với nam [66]. Theo Soto-

Quiros và cộng sự, ở giai đoạn 6-7 tuổi, trẻ trai có tiền sử khò khè, hiện đang khò khè cao hơn trẻ gái, nhưng ngược lại trẻ gái thường có triệu chứng nặng hơn trẻ trai [67].

Lý do cho sự khác biệt về tỷ lệ mắc hen theo giới chưa được giải thích một cách rõ ràng. Tuy nhiên trẻ trai thường có tỷ lệ dị ứng cao hơn trẻ gái. Đường kính đường thở ở trẻ trai giảm hơn so với trẻ gái [68]. Đường kính đường thở nhỏ hơn có thể góp phần làm tăng nguy cơ khò khè sau nhiễm virus ở trẻ trai so với trẻ gái. Sự khác nhau về triệu chứng và độ nặng của hen giữa trẻ trai và trẻ gái đã được nhiều công trình ghi nhận [69].

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy hen phế quản gặp ở trẻ trai nhiều hơn trẻ gái. Tỷ lệ nam/nữ là 1,9/1. Kết quả nghiên cứu này tương tự như nghiên cứu của Lê Thị Hồng Hanh tại bệnh viện Nhi Trung Ương với tỷ lệ nam/nữ bị HPQ là 2/1 và nghiên cứu của Lê Thị Minh Hương với tỷ lệ nam/nữ 1,9/1 [70-71].

#### **4.1.3. Tiền sử dị ứng**

Tiền sử gia đình có người mắc các bệnh dị ứng và hen là yếu tố nguy cơ tiến triển bệnh hen ở trẻ em [72]. Một nghiên cứu trên 3024 bố mẹ và con cho thấy rằng tỷ lệ hen, viêm mũi dị ứng và chàm ở bố mẹ tương tự như ở con của họ [73]. Tiền sử gia đình dị ứng gặp ở 90% trẻ bị hen [74]. Mẹ có cơ địa dị ứng là yếu tố nguy cao gây hen và bệnh dị ứng ở trẻ em [75]. Tỷ suất chênh gây tiến triển bệnh hen ở trẻ có tiền sử gia đình hen thay đổi từ 2–27 lần [76]. Ở trẻ nhạy cảm với các dị nguyên hô hấp, nguy cơ tiến triển hen tăng chỉ khi cha mẹ của trẻ bị hen hoặc cơ địa dị ứng (OR= 15,56; 95% CI: 5,78 - 41,83); nguy cơ mạnh nhất là mẹ bị hen phế quản [77].

Trong nghiên cứu của chúng tôi 37,6% trẻ HPQ mắc chàm, và 69,6% trẻ HPQ có kèm theo viêm mũi dị ứng và 11,2% trẻ HPQ có tiền sử dị ứng thức ăn, 20,8% trẻ hen phế quản có bố bị hen phế quản và 12% có mẹ bị hen phế quản.

Bố mẹ và/hoặc anh chị em ruột có tiền sử hen và dị ứng liên quan chặt chẽ với biểu hiện hen sớm dai dẳng. Tỷ suất chênh của hen khởi phát sớm dai dẳng, hen khởi phát sớm thoáng qua và hen khởi phát muộn ở trẻ mà có cả bố và mẹ bị hen lần lượt là 12,1 (95% CI: 7,91 - 18,7); 7,51 (95% CI: 2,62 - 21,5) và 5,38 (95% CI: 3,40 - 8,50) [78].

#### **4.1.4. Nhiễm virus trong cơn hen cấp**

Nhiễm virus đường hô hấp là nguyên nhân hàng đầu gây khởi phát cơn hen cấp. RSV và á cúm là yếu tố kích thích chính gây khò khè liên quan đến viêm nhiễm đường hô hấp ở giai đoạn sớm của trẻ; Rhinovirus và cúm là nguyên nhân phổ biến gây khởi phát cơn hen cấp ở trẻ lớn [79].

Nhiễm RSV làm tăng tình trạng khò khè nặng ở trẻ nhũ nhi và trẻ nhỏ. Những trẻ này dường như có khuynh hướng phát triển khò khè và hen ở tuổi lớn so với những trẻ không nhiễm RSV. Nhiễm Rhinovirus là nguyên nhân chính gây khò khè ở trẻ em và người lớn, gặp ở khoảng 60% trong các đợt khò khè. Các nghiên cứu gần đây gợi ý rằng Rhinovirus là tác nhân bệnh lý hô hấp chủ yếu, thậm chí từ những năm đầu đời của trẻ. Rhinovirus có thể kích thích tế bào biểu mô phế quản sản xuất các cytokine và chemokine tiền viêm cả in vivo và in vitro. Chúng có thể kích thích cả hệ thần kinh cholinergic và non-cholinergic, tăng sản xuất ICAM-1 và tăng đáp ứng không đặc hiệu tế bào lympho T. Những phát hiện này gợi ý nhiễm Rhinovirus có thể gây khởi phát cơn hen cấp do kích thích theo con đường đa tế bào [79].

Theo Holgate, phần lớn các cơn hen cấp khởi phát bởi virus đường hô hấp, mà Rhinovirus dường như thường gặp nhất [80]. Jackson và cộng sự nhận thấy rằng virus được tìm thấy ở 90% trẻ trong các giai đoạn khò khè. Nghiên cứu trên 259 trẻ có khò khè trong giai đoạn từ khi sinh đến 3 tuổi cho thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa nhiễm virus đường hô hấp và nguy cơ khởi phát hen. Nhiễm RSV làm tăng nguy cơ khởi phát cơn hen cấp cao gấp

2,6 lần và nhiễm Rhinovirus là 9,8 lần. Ở trẻ trên 3 tuổi, khò khè liên quan với nhiễm RV có nguy cơ khởi phát hen là 25,6 lần, so với khò khè do tiếp xúc với dị nguyên dạng hít có nguy cơ khởi phát hen là 3,6 lần [81].

Theo nghiên cứu của chúng tôi, trong 125 bệnh nhi trong cơn HPQ cấp có 63 bệnh nhi nhiễm Rhinovirus, chiếm tỷ lệ 54,78%. Nghiên cứu của Lê Thị Lệ Thảo về tình hình nhiễm Rhinovirus trong cơn hen cấp ở trẻ em tại viện Nhi Trung ương cho thấy tỷ lệ nhiễm Rhinovirus là 72,6% [82]. Một nghiên cứu trên 142 trẻ hen phế quản tại Anh gồm 65 trẻ trong cơn hen cấp và 77 trẻ sau cơn hen cấp cho thấy 60% trẻ thuộc nhóm trong cơn hen cấp và 18% trẻ thuộc nhóm sau cơn hen cấp nhiễm Rhinovirus [83]. Mak tiến hành phân lập virus trên 128 trẻ trong cơn hen cấp và 192 trẻ khỏe mạnh trong cùng một thời gian cho thấy 84,9% trẻ trong nhóm hen dương tính với Rhinovirus so với 33% ở nhóm chứng [84]. Điều này chứng tỏ Rhinovirus có một vai trò nhất định trong khởi phát cơn hen cấp.

Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả trên 50% bệnh nhân nhiễm RV trong cơn hen cấp. Hơn nữa, nhiễm RV còn làm tăng nguy cơ gây cơn hen cấp nặng.

## **4.2. Đặc điểm tế bào viêm của bệnh nhân trong cơn hen phế quản cấp**

### **4.2.1. Biến đổi bạch cầu trong máu ngoại vi trong cơn hen cấp**

Hen phế quản là bệnh viêm mạn tính đường thở mà trước đây được cho có liên quan đến tích lũy và hoạt hoá bạch cầu ưa acid, tiếp đó là sự phá huỷ tế bào biểu mô đường thở. Phá huỷ tế bào biểu mô liên quan đến tăng đáp ứng đường thở. Những nghiên cứu lâm sàng gần đây cho thấy có sự tích lũy và hoạt hoá bạch cầu trung tính tại đường thở là đặc tính đặc trưng trong giai đoạn cơn hen cấp ở trẻ em cũng như ở người lớn [85-87]. Bạch cầu đa nhân trung tính có thể gây ảnh hưởng lên chức năng đường thở và phổi.

Một số nghiên cứu ở người lớn cho thấy bạch cầu đa nhân trung tính có thể là tế bào viêm nổi trội ở đường thở trong cơn hen cấp. Norzila và cộng sự đã đưa ra bằng chứng về sự hoạt hoá cả bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ưa acid, tăng bài tiết các cytokine hấp dẫn bạch cầu đa nhân trung tính (IL-8) và bạch cầu ưa acid (IL-5) trong cơn hen cấp [88]. Viêm đường thở được cải thiện sau hai tuần khi triệu chứng lâm sàng cải thiện, tuy nhiên bạch cầu ưa acid trong đờm vẫn tồn tại dai dẳng. Mặc dù viêm do tăng bạch cầu ưa acid được chấp nhận như tiêu chuẩn của hen phế quản, nhưng cũng có bằng chứng về sự tham gia của bạch cầu đa nhân trung tính trong cơn hen cấp.

Nhiễm virus thường gây khởi phát cơn hen cấp và có thể dẫn đến tăng thâm nhiễm bạch cầu đa nhân trung tính ở niêm mạc đường thở. Nhiễm virus đường hô hấp kích hoạt cơn hen cấp đã được ghi nhận, trẻ viêm tiểu phế quản do virus có thể tiến triển thành khò khè mạn tính độc lập với cơ địa dị ứng [89-90].

Ở người lớn, trong cơn hen phế quản số lượng bạch cầu thường tăng cao hơn so với sau cơn hen [91-92]. Nghiên cứu cho thấy trong cơn hen cấp quá trình viêm không đồng nhất với sự thâm nhiễm của các loại tế bào, đặc biệt bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ưa acid [88]. Ngoài đáp ứng viêm tăng bạch cầu ưa acid, viêm tăng bạch cầu trung tính được quan sát trong cơn hen cấp qua bằng chứng tăng nồng độ IL-8, là cytokine hấp dẫn và hoạt hóa bạch cầu đa nhân trung tính. Tăng nổi trội bạch cầu đa nhân trung tính cho thấy đợt hen cấp khởi phát bởi nhiễm virus. Những nghiên cứu trước đây cũng khẳng định hầu hết cơn hen cấp được khởi phát liên quan đến nhiễm virus đường hô hấp [89]. Một nghiên cứu giả định rằng nhiễm virus đường hô hấp kích thích tế bào biểu mô bài tiết IL-8, đây là cytokine hấp dẫn bạch cầu đa nhân trung tính từ máu tới đường thở [93-94]. Nghiên cứu của Mike cho thấy số lượng bạch cầu ưa acid và bạch cầu trung tính trong đờm ở bệnh nhân

hen nặng khó trị tăng hơn bệnh nhân hen nhẹ và trung bình [95]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân trong cơn hen cấp có số lượng bạch cầu tăng là 81,6%, tăng bạch cầu đa nhân trung tính là 66,4%, tăng bạch cầu ưa acid là 32% và cũng phù hợp bởi tỷ lệ nhiễm Rhinovirus là 54,78%. Kết quả nghiên cứu của Lê Thị Lệ Thảo trong cơn hen cấp có 62,33% bệnh nhân tăng bạch cầu trong máu. Trong đó tỷ lệ tăng bạch cầu đa nhân trung tính là 71,92%, tăng bạch cầu ưa acid chiếm 29,5% [82].

Trong giai đoạn hen ổn định, phân tích đờm cho thấy chủ yếu tăng bạch cầu ưa acid, không phải bạch cầu đa nhân trung tính và tổng số tế bào bạch cầu không tăng [96-97]. Kiểu hình và đặc tính của viêm đường thở ở trẻ trong cơn hen cấp vẫn chưa được mô tả đầy đủ, và có nhiều khác biệt so với kiểu viêm điển hình là tăng bạch cầu ưa acid và tế bào mast tại đường thở ở trẻ sau cơn hen cấp, với vai trò của các cytokine được bài tiết bởi tế bào Th2 như interleukine-5 chiếm ưu thế.

Theo nghiên cứu của Yoshihara và cộng sự, trong cơn hen cấp ở trẻ em có sự phá huỷ tế bào biểu mô, tiết ra các chất gây hoá hướng động và kích hoạt bạch cầu đa nhân trung tính chứ không phải bạch cầu ưa acid ở đường thở nhưng không phải tình trạng nhiễm trùng, những phát hiện này cho thấy khả năng huy động bạch cầu trung tính như là một yếu tố quan trọng cho tiến trình lâm sàng cơn hen cấp ở trẻ em [85]. Nghiên cứu của Lamblin chỉ ra tình trạng viêm đường thở ở trẻ có cơn hen nặng khác với cơn hen nhẹ, với sự tồn tại dai dẳng bạch cầu đa nhân trung tính ở đường thở, cùng với sự tăng bạch cầu ưa acid và tế bào mast ở pha sớm của cơn hen nặng [86]. Thực tế bạch cầu đa nhân trung tính có thể giải phóng các cytokine có khả năng tuyển dụng và hấp dẫn bạch cầu trung tính như TNF- $\alpha$  và IL-8, cả hai cytokine này có thể gây ra tăng đáp ứng phế quản [87]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân trong cơn hen cấp tăng bạch cầu trung tính ở máu ngoại vi, đặc biệt cơn



hen cấp nặng (bạch cầu trung tính tăng 57,83% ở trẻ trong cơn hen cấp nặng so với 36,14% ở trẻ trong cơn hen cấp mức độ trung bình và 6,03% ở trẻ có cơn hen cấp nhẹ với  $p=0,03$ ). Hơn nữa, một số nghiên cứu lâm sàng trong cơn hen cấp ở người lớn cũng cho thấy có sự huy động bạch cầu đa nhân trung tính, thậm trí khi đó không có dấu hiệu nhiễm trùng [87]. Tăng huy động bạch cầu đa nhân trung tính liên quan đến khò khè nặng tái diễn ở trẻ dưới ba tuổi, dựa vào xét nghiệm tế bào viêm và các chất trung gian gây viêm [98]. Các nghiên cứu đã giả thiết rằng viêm tăng bạch cầu đa nhân trung tính liên quan đến phá hủy biểu mô đường thở ở trẻ hen. Những nghiên cứu về cơn hen cấp của trẻ không có dấu hiệu nhiễm trùng, với các bằng chứng trực tiếp về việc phá hủy tế bào biểu mô đường thở liên quan đến huy động bạch cầu đa nhân trung tính, ngụ ý đây là dấu hiệu làm cho đường thở viêm nặng hơn [85]. Các nghiên cứu cho thấy bạch cầu đa nhân trung tính là tế bào chủ yếu bị kích hoạt trong giai đoạn cảm lạnh, hậu quả làm tăng số lượng bạch cầu đa nhân trung tính và các cytokine như IL-8 và leukotriene B4 [99]. Trong nghiên cứu về viêm đường thở ở trẻ hen phế quản, Angelo Barbato và cộng sự thấy tăng về số lượng bạch cầu ưa acid ở nhóm hen nhẹ và trung bình so với nhóm chứng, nhưng không có sự khác biệt về bạch cầu trung tính, tế bào mast, tế bào lympho T CD4+ [100].

Ở bệnh nhân sau cơn hen cấp thường giảm đáng kể về số lượng tế bào, bạch cầu đa nhân trung tính, bạch cầu ưa acid tại đường thở. Điều này góp phần khẳng định viêm đường thở đóng vai trò quan trọng trong đợt hen phế quản cấp. Corticosteroid có vai trò duy trì hiệu quả điều trị chống viêm ở trong và ngoài đợt hen cấp [88]. Một số nghiên cứu cho thấy corticosteroid đường uống làm giảm số lượng bạch cầu ưa acid trong đờm ở bệnh nhân hen người lớn, nhưng không ảnh hưởng đến tổng số tế bào, tế bào biểu mô, bạch cầu đa nhân trung tính hoặc tế bào lympho [91-101].

#### **4.2.2. Giá trị tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+**

Hen phế quản đặc trưng bởi viêm mạn tính niêm mạc phế quản, và tế bào lympho T có vai trò chính trong điều hòa quá trình bệnh thông qua bài tiết các cytokine [102]. Tăng số lượng tế bào lympho TCD4+ ở đường thở bệnh nhân hen cho thấy dấu hiệu hoạt động và giảm tế bào TCD4+ ngăn cản bạch cầu ưa acid ở phế quản và ngăn tăng đáp ứng đường thở [103-104]. Tế bào lympho T CD4+ đóng vai trò chủ chốt trong điều hoà đáp ứng miễn dịch dưới nền viêm dị ứng [105]. Tế bào lympho TCD8+ dường như đóng vai trò bảo vệ trong hen phế quản vì nó làm ức chế cả tăng đáp ứng đường thở do kích thích bởi dị nguyên và viêm do bạch cầu ưa acid [106-107].

Trong nghiên cứu của chúng tôi tế bào lympho TCD3+ TCD4+ TCD8+ giảm trong cơn hen cấp, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu Marcircin Moniuszko [108]. Giảm các tế bào lympho TCD3+ TCD4+ TCD8+ trong cơn hen cấp, đặc biệt cơn hen cấp nặng chúng tôi giảm khả năng điều hòa miễn dịch của trẻ bị cơn hen cấp nặng. Nghiên cứu của Norbert Krug chỉ ra không có sự khác biệt về tỷ lệ phần trăm tế bào lympho TCD3+ TCD4+ TCD8+ ngoài cơn và trong cơn hen cấp ở bệnh nhân có cơn hen cấp nhẹ [109]. Khi so sánh với mức độ nặng của cơn hen cấp trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tế bào lympho TCD8+ giảm có ý nghĩa trong cơn hen cấp nặng so với cơn hen nhẹ và trung bình.

#### **4.2.3. Biến đổi số lượng bạch cầu trong máu ở trẻ hen phế quản nhiễm Rhinovirus**

Rhinovirus là virus chủ yếu gây cảm lạnh, là một trong các tác nhân chủ yếu gây khởi phát cơn hen cấp. Nghiên cứu sự thay đổi tế bào trong đờm ở bệnh nhân trong cơn hen cấp cho thấy tăng rõ rệt cả số lượng bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ưa acid khi nhiễm Rhinovirus [110].

Mặc dù vai trò của Rhinovirus trong khởi phát cơn hen cấp được nhận thấy từ rất lâu, tuy nhiên cơ chế Rhinovirus gây khởi phát cơn hen còn chưa rõ ràng. Các nghiên cứu đều chỉ ra Rhinovirus làm tăng tính miễn cảm đường thở, tăng giải phóng các chất trung gian hóa học và kích ứng tình trạng viêm tại đường thở. Rhinovirus làm tăng sự hóa ứng động và tích tụ tế bào viêm tại niêm mạc và lớp dưới niêm mạc đường hô hấp, bao gồm bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ưa acid [111]. Rhinovirus kích ứng viêm mạnh, tăng tích tụ tế bào viêm trên bệnh nhân có cơ địa quá miễn hoặc bị hen phế quản so với người bình thường [110]. Điều này phần nào giải thích tình trạng tăng bạch cầu đa nhân trung tính ở bệnh nhân hen phế quản. Hơn nữa, Rhinovirus cư trú tại mũi, trong điều kiện thuận lợi Rhinovirus hoạt động gây các triệu chứng viêm mũi họng cấp, trước khi khởi phát cơn hen cấp. Viêm mũi họng cấp do Rhinovirus thường không làm biến đổi tế bào máu trong ngoại biên, tuy nhiên Rhinovirus hoạt động tạo điều kiện cho vi khuẩn thâm nhập và hoạt động, gây viêm mũi họng cấp nhiễm khuẩn. Điều này lý giải một phần việc tăng bạch cầu và bạch cầu đa nhân trung tính ở bệnh nhân nhiễm Rhinovirus. Trong nghiên cứu này, ở trẻ HPQ có nhiễm RV, tỷ lệ tăng bạch cầu trung tính là 66,7% so với 40,4% ở nhóm HPQ không nhiễm RV ( $p=0,02$ ).

Đặc điểm tế bào viêm trong cơn hen cấp khác với sau cơn hen cấp. Yếu tố khởi phát cơn hen cấp ở trẻ em thường là do virus, và bạch cầu trung tính là tế bào có vai trò quan trọng trong đáp ứng với virus nên vai trò của nó trong cơn cấp được khẳng định [89]. Các quan sát này gợi ý vai trò tiềm năng khi điều trị trực tiếp vào bạch cầu trung tính hoặc chemokine của bạch cầu trung tính như IL-8 trong cơn hen cấp nặng ở trẻ em.

### **4.3. Biến đổi cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp**

Hen phế quản đặc trưng bởi co thắt phế quản, tăng đáp ứng phế quản, giảm đáp ứng với  $\beta$ -adrenergic và viêm. Viêm thể hiện bởi tăng bạch cầu ưa acid tại đường thở, tăng oxit nitric khí thở ra, và tăng tiết các cytokine của tế bào Th2 bao gồm Interleukin-4 (IL-4), IL-5, IL-9 và IL-13.

Có hai loại dòng tế bào Th1 và Th2, chúng khác nhau về loại cytokine bài tiết và khác nhau về chức năng. Tế bào Th1 bài tiết cytokine IL-2 và IFN- $\gamma$  có tác dụng hoạt hoá đại thực bào và tế bào T độc để giết mầm bệnh trong tế bào, trong khi đó tế bào Th2 bài tiết IL-4, IL-9, IL-10 và IL-13 giúp tế bào lympho B bài tiết kháng thể bảo vệ cơ thể [112].

#### **4.3.1. Sự biến đổi các cytokine liên quan đến tế bào Th2**

Viêm đường thở là cơ sở của bệnh học HPQ. Các nghiên cứu trên động vật cũng như trên người chỉ ra vai trò quan trọng của tế bào Th2 sản sinh ra IL-4, IL-5, IL-13, các cytokine duy trì tình trạng viêm trong bệnh học dị ứng nói chung và hen dị ứng nói riêng.

IL-4 đóng vai trò chủ chốt biệt hoá tế bào Th0 thành tế bào Th2 và có thể đóng vai trò quan trọng giai đoạn nhạy cảm với dị nguyên. IL-4 cũng cần để chuyển tế bào lympho B từ dạng sản xuất IgG sang sản xuất IgE. Ở bệnh nhân hen nặng, nồng độ IL-4 cao hơn so với bình thường và đặc biệt là rất cao ở bệnh nhân hen nặng kháng với corticoid. Việc điều trị bằng corticoid làm giảm nồng độ của IL-4 ở nhóm bệnh nhân hen nặng có đáp ứng với điều trị bằng corticoid [24-53].

Mặc dù IL-4 rất quan trọng trong chuyển tế bào lympho B sang hướng tổng hợp IgE, vai trò của nó với dị nguyên gây hấp dẫn bạch cầu ưa acid và tăng đáp ứng phế quản còn nhiều tranh cãi. Một số nghiên cứu trên động vật gợi ý rằng IL-4 quan trọng trong vai trò thu hút bạch cầu ưa acid tới đường

thở, trong khi một số nghiên cứu khác báo cáo rằng việc thu hút bạch cầu ưa acid đến đường thở độc lập với IL-4 [113-114]. Các nghiên cứu trên bệnh nhân hen chỉ ra rằng nồng độ IL-4 ở trẻ hen phế quản cao hơn so với nhóm chứng, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [115]. Điều này có thể giải thích do nồng độ IL-4 chịu điều hoà bởi cả tế bào mast và tế bào T lympho, cũng như ảnh hưởng của điều trị bằng corticosteroid và  $\beta$  agonist. Bệnh nhân hen phế quản thường được sử dụng corticosteroid để điều trị dự phòng, điều này giải thích lý do nồng độ IL-4 thường không khác biệt so với nhóm chứng vì corticosteroid làm giảm bạch cầu ưa acid, giảm nồng độ IL-4 [116-118].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-4 trong cơn hen cấp giảm có ý nghĩa so với nhóm chứng [0,02 pg/ml (0,005- 2,8) so với 0,51pg/ml (0,105 - 67,86 )  $p < 0,001$ ]. Theo Muratov và cộng sự nghiên cứu gây cơn hen bằng kích thích dị nguyên cho thấy giảm nồng độ IL-4 [119].

Sự khác biệt về nồng độ IL-4 dường như phụ thuộc vào mức độ nặng của bệnh hen. Nồng độ IL-4 ở nhóm có cơn hen nặng thường cao hơn nhóm có cơn hen mức độ vừa [112]. Nghiên cứu ở trẻ Arab cho thấy nồng độ IL-4 tăng đáng kể ở nhóm trẻ hen so với nhóm chứng [112]. Nghiên cứu của Al-Daghri cho kết quả tương tự, nồng độ IL-4 cao hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân hen so với nhóm chứng khoẻ mạnh  $\{(26,2 \pm 2,6 \text{ so với } 18,2 \pm 1,3 \text{ ng/ml})\}$  II'm [120]. Trong nghiên cứu của Wong và cộng sự, nồng độ IL-4 không có sự khác biệt giữa nhóm bệnh nhân hen và nhóm chứng [121]. Một số nghiên cứu cho thấy nồng độ IL-4 phụ thuộc vào điều trị corticoid trước đó. Nghiên cứu của Lama chỉ ra nồng độ IL-4 ở nhóm hen chưa sử dụng corticoid cao hơn nhóm chứng  $(52,25 \pm 21,91 \text{ so với } 32,81 \pm 16,28 \text{ pg/ml; } p < 0,001)$  và nồng độ IL-4 thấp khi so sánh ở nhóm đã sử dụng thuốc corticosteroid so với nhóm

chưa sử dụng thuốc corticosteroid ( $40,80 \pm 17,77$  so với  $52,25 \pm 21,91$  pg/ml,  $p=0,054$ ) [122]. Ở nghiên cứu của chúng tôi, hầu hết bệnh nhân đã được xử trí cơn hen cấp tại khoa cấp cứu, đã được dùng Corticoid đường toàn thân hoặc tại chỗ nên có thể ảnh hưởng đến kết quả nồng độ IL-4.

IL-5 đóng vai trò chủ chốt trong viêm gián tiếp qua bạch cầu ưa acid, vì nó liên quan chủ yếu tới sự biệt hoá từ tế bào tiền tuỷ xương cũng như kéo dài đời sống của bạch cầu ưa acid. Sử dụng IL-5 tại chỗ hoặc toàn thân ở những bệnh nhân hen làm tăng bạch cầu ưa acid và tiền bạch cầu ưa acid TCD34 trong máu ngoại biên. Ở thực nghiệm trên động vật, ức chế kháng thể đặc hiệu IL-5 làm giảm số lượng bạch cầu ưa acid và ức chế quá trình đáp ứng với dị nguyên. Ngoài ra có sự liên quan có ý nghĩa giữa nồng độ IL-5 trong đờm ở bệnh nhân hen nặng với tần suất các cơn hen kịch phát trong năm ở những bệnh nhân này. Do vậy, IL-5 được xem như là chất chỉ điểm sinh học giúp tiên đoán tần suất các cơn hen kịch phát ở bệnh nhân hen [24-123].

Interleukine-5 gây ra viêm dị ứng bởi kích hoạt bạch cầu ưa acid. Số lượng cao bạch cầu ưa acid được thấy ở niêm mạc và dịch rửa phế quản ở cả hen dị ứng và hen không dị ứng. Kết quả này cũng ủng hộ giả thuyết hen không dị ứng gây ra bởi viêm do dị nguyên liên quan đến bạch cầu ưa acid mà không liên quan đến sản xuất IgE. Vì IL-4 và IL-5 điều hoà biệt hoá khác nhau, nên quá trình viêm gián tiếp qua bạch cầu ưa acid có thể không cần tăng IgE [124]. Kết quả này cũng gợi ý rằng IL-5 là cytokine có mối quan hệ với cả hen dị ứng và hen không dị ứng.

Bottcher và cộng sự thấy rằng nồng độ IL-5 tăng cả ở nhóm trẻ hen dị ứng và không dị ứng so với nhóm chứng sau khi kích thích với dị nguyên. Trong nghiên cứu của chúng tôi nồng độ IL-5 ở trẻ trong cơn hen phế quản tăng có ý nghĩa so với nhóm trẻ khỏe mạnh [ $1,49$ pg/ml ( $0,005- 2,8$ ) so với  $0,08$  ( $0,02- 14,58$ ),  $p=0,0001$ ].

IL-4, IL-5 là các cytokine hấp dẫn bạch cầu ưa acid và các receptor của chúng tại niêm mạc đường thở và dịch rửa phế quản ở bệnh nhân hen dị ứng và không dị ứng [125]. Theo Shahid và cộng sự, nồng độ IL-5 tăng ở nhóm trẻ có cơn hen cấp nặng so với nhóm chứng, mặc dù nồng độ IL-4 không có sự khác biệt. Một nghiên cứu khác cũng có kết quả tương tự như nghiên cứu của chúng tôi, với nồng độ IL-4 giảm ở nhóm có cơn hen cấp so với nhóm chứng và nồng độ IL-5 tăng ở nhóm cơn hen nặng [126-127].

IL-13 được cho là trung tâm gây viêm cũng như là đích điều trị. IL-13 gây co cơ trơn và tăng tiết đờm [128]. IL-4 và IL-13 do tế bào mast sản xuất gây tăng đáp ứng phế quản, tăng canxi cơ trơn gây co thắt phế quản [129]. Berry và cộng sự nghiên cứu thấy nồng độ IL-13 tăng ở bệnh nhân hen so với nhóm chứng [130]. Nghiên cứu của Will-Karp chỉ ra IL-13 liên quan đến mức độ nặng của bệnh và mức độ tăng đáp ứng đường thở ở bệnh nhân hen [131]. Gần đây, sự gia tăng biểu hiện protein IL-13 cũng được tìm thấy ở những bệnh nhân hen kháng corticoid [124-132].

IL-13 cũng giống với IL-4 tác dụng kích thích tương bào chuyển dạng, sản xuất IgE và thay đổi cấu trúc đường hô hấp, nhưng không đóng vai trò biệt hoá Th2. Vai trò của IL-13 trong hen, đặc biệt hen nặng đã được chứng minh. Ở mẫu mô phế quản được sinh thiết từ bệnh nhân hen nặng, Naseer và cộng sự đã quan sát thấy rất nhiều loại tế bào viêm có tăng biểu hiện ARN thông tin của IL-13 và sự gia tăng biểu hiện này giảm khi điều trị bằng corticoid ở nhóm bệnh nhân có đáp ứng. IL-13 gây ra tăng đáp ứng đường thở và giảm đáp ứng với thuốc giãn phế quản chọn lọc  $\beta$  (beta-adrenergic agonists) và corticosteroids.

IL-13 của Th2 tăng có ý nghĩa trong dịch rửa phế quản của bệnh nhân hen và có liên quan đến bạch cầu ưa acid [133]. IL-13 có nhiều điểm tương đồng với IL-4 và là cytokine quan trọng trong đường thở của bệnh nhân hen

[134]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-13 trong con hen cao hơn so với nhóm chứng, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

GM-CSF (granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor) là các cytokine được sản xuất từ các tế bào tủy và tế bào mô đệm rất cần cho quá trình sinh trưởng và trưởng thành của tế bào gốc tạo máu. GM-CSF kích thích sự trưởng thành của cả bạch cầu đa nhân trung tính và đại thực bào. GM-CSF còn được sản xuất từ đại thực bào phế nang.

Mặt khác, GM-CSF là một cytokine có vai trò làm thay đổi bệnh học của HPQ. Con hen cấp thường liên quan đến tăng bạch cầu ưa acid, tuy nhiên con hen cấp nặng lại liên quan đến tăng bạch cầu đa nhân trung tính. GM-CSF gợi ý con hen nặng kháng thuốc. Có rất ít tài liệu nói về vai trò của GMCSF ở trẻ hen phế quản, tuy nhiên một số nghiên cứu giả thiết có thể nó là biểu hiện dưới nhóm của cả Th1 và Th2. Nghiên cứu nồng độ IL-5 và GM-CSF trong đờm ở trẻ HPQ cho thấy nồng độ của các cytokine này tương tự như nhóm chứng [135].

Trong nghiên cứu của chúng tôi nồng độ GM-CSF thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm có cơn hen so nhóm chứng {0,91 pg/ml (0,21 - 717,85) so với 5,74 pg/ml (0,91, 198,3) p=0,008}.

#### **4.3.2. Sự biến đổi các cytokine liên quan đến tế bào Th1**

IFN- $\gamma$  được sản xuất bởi các tế bào lympho TCD4+ và TCD8+ dưới tác động của IL-12, IL-18, nội độc tố và bị ức chế sản xuất bởi IL-10. Đây là cytokine tiền viêm có tác dụng kích thích bạch cầu và tế bào nội mạc làm tăng sản xuất các phân tử kết dính, IL-1, IL-12 và TNF- $\alpha$ . IFN- $\gamma$  là cytokine được bài tiết bởi tế bào Th1 và thường giảm trong HPQ. Giảm IFN- $\gamma$  làm giảm khả năng ức chế tổng hợp IgE và các phản ứng viêm dị ứng [136].



Tăng nồng độ IFN- $\gamma$  được ghi nhận ở bệnh nhân cơn hen cấp nặng, và mức độ tăng liên quan đến tăng đáp ứng đường thở với methacholin [137-138]. Theo Brown và cộng sự, nồng độ IFN- $\gamma$  thường tăng ở bệnh nhân hen dị ứng, gợi ý rằng trong một số kiểu hình hen nhất định, cơ chế bệnh sinh của hen không phải khuynh hướng Th2 đơn thuần [139].

Ngược lại, một số nghiên cứu chỉ ra giảm nồng độ IFN- $\gamma$  trong máu ngoại vi ở trẻ khò khè, hen dị ứng so với trẻ hen không dị ứng và trẻ khỏe mạnh, tuy nhiên trẻ dị ứng mức độ nhẹ có nồng độ IFN- $\gamma$  tương tự như nhóm chứng [140-141]. Theo Nasser và cộng sự, nồng độ IFN- $\gamma$  giảm có ý nghĩa ở bệnh nhân hen so với nhóm chứng  $\{1,6 \pm 0,69 \text{ pg/ml}$  so với  $2,4 \pm 0,74 \text{ pg/ml}$ ;  $p=0,03\}$ . Nghiên cứu của Al-Daghricho kết quả tương tự, với nồng độ IFN- $\gamma$  thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm bệnh nhân hen so với nhóm chứng  $\{(1,8 \pm 0,69)$  với  $2,4 \pm 0,74 \text{ ng/ml}\}$  [120]. Muratov trong nghiên cứu gây cơn hen bằng kích thích dị nguyên thấy rõ sự giảm nồng độ IFN- $\gamma$  [119].

Nghiên cứu của Wong cho thấy nồng độ IFN- $\gamma$  cao hơn có ý nghĩa ở nhóm chứng so với nhóm hen dị ứng  $\{23,46\%$  ( $14,59 - 27,47 \text{ pg/ml}$ ) so với  $5,72\%$  ( $3,48 - 12,57 \text{ pg/ml}$ ),  $p < 0,001\}$  [121]. Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương tự, với nồng độ IFN- $\gamma$  trong cơn hen cấp thấp hơn một cách có ý nghĩa so với nhóm trẻ khỏe mạnh  $\{0,43 \text{ pg/ml}$  ( $0,21 - 249,91$ ) và  $1,46 \text{ pg/ml}$  ( $0,32; 44,46$ )  $p=0,005\}$ .

Yếu tố hoại tử u (TNF- $\alpha$ ) là một cytokine tiền viêm và có vai trò quan trọng trong đáp ứng viêm nhiễm trùng [142]. TNF- $\alpha$  do nhiều tế bào bài tiết, bao gồm đại thực bào, dưỡng bào, tế bào T, tế bào biểu mô, và tế bào cơ trơn đường dẫn khí. TNF- $\alpha$  tác động trực tiếp lên cơ trơn đường dẫn khí làm tăng co thắt phế quản và do đó nó đóng vai trò quan trọng làm tăng đáp ứng phế quản [1-24]. Ở bệnh nhân trong cơn hen cấp nặng phải thông khí hỗ trợ, dịch

rửa phế quản có tăng bạch cầu trung tính và cytokine tiền viêm bao gồm TNF- $\alpha$  [143].

Nghiên cứu của Chkhaidze và cộng sự chỉ ra mối liên quan chặt chẽ giữa nồng độ TNF- $\alpha$  với mức độ tiến triển khò khè tái diễn và hen sau này [144]. Sự hoạt động của TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi ở bệnh nhân hen liên quan đến tính tăng hoạt động TNF- $\alpha$  và sự khác biệt về gene liên quan đến điều hoà sản xuất TNF- $\alpha$ . Trong nghiên cứu của Mike về vai trò của TNF- $\alpha$  cho thấy TNF- $\alpha$  tăng rõ rệt ở bệnh nhân hen nặng, không có bằng chứng tăng TNF- $\alpha$  trong máu ngoại vi ở bệnh nhân hen nhẹ và trung bình [95]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ TNF- $\alpha$  trong nhóm có cơn hen nặng và trung bình cao hơn nhóm cơn hen nhẹ.

IL-2 được sản xuất chủ yếu bởi tế bào Th1 và được coi như yếu tố phát triển cho Th1 và kích thích Th2 tăng sinh [145]. Tăng nồng độ IL-2 chỉ ra tăng hoạt động của tế bào Th1. Thông thường, bệnh học miễn dịch của bệnh dị ứng liên quan đến Th2 và các cytokine thuộc Th2. Tuy nhiên, trong các bệnh dị ứng mạn tính, đáp ứng của tế bào Th khá phức tạp, liên quan đến sự tương tác hoạt động của cả hai tế bào Th1 và Th2 [146]. Trên hệ thống thực nghiệm khác nhau, tế bào Th1 cung cấp các tín hiệu cần thiết cho tế bào Th2 di cư hiệu quả đến đường thở [147].

Viêm tăng bạch cầu ưa acid là một đặc tính cơ bản trong hen; tuy nhiên, cơ chế hoạt hoá, tăng sinh và di cư của bạch cầu ưa acid chưa được hiểu biết đầy đủ và nó được điều hoà bởi các cytokine giải phóng từ các tế bào khác nhau. Nghiên cứu của Rand chỉ ra IL-2 là cytokine tiềm năng hấp dẫn bạch cầu ưa acid [148]. Những nghiên cứu khác cũng chỉ ra IL-2 hoạt động kích thích tế bào T tăng sản xuất IL-5 [149]. Lampinen kết luận ảnh hưởng trực tiếp của IL-2 đến sự di cư của bạch cầu ưa acid còn chưa được giải thích rõ

ràng nhưng không loại trừ khả năng IL-2 có thể góp phần kích thích tế bào lympho T sản xuất IL-5 [150]. Tuy nhiên, người ta không tìm thấy mối tương quan giữa nồng độ IL-2 và bạch cầu ưa acid trong máu ngoại vi. Pumputiene quan sát thấy viêm tăng bạch cầu ưa acid và tế bào lympho T ở đường thở tồn tại dai dẳng mặc dù trên lâm sàng các triệu chứng hen đã thuyên giảm, điều này chỉ ra chiến lược điều trị hen nên tập trung vào đích hiện tượng viêm hơn là chỉ tập trung vào triệu chứng [151].

Nghiên cứu của Walker cho thấy tăng sản xuất tăng IL-2 ở bệnh nhân hen không dị ứng [152]. Pumputiene quan sát thấy nồng độ IL-2 tăng có ý nghĩa ở nhóm hen trung bình so với nhóm chứng [151]. Các kết quả nghiên cứu này gợi ý rằng bệnh học của hen có thể bao gồm cả hoạt động của tế bào Th1.

IL-12 là một cytokine cần thiết cho biệt hoá Th1 từ Th0 và ức chế biệt hoá tế bào Th2 [153]. IL-12 ức chế đợt bùng phát và tiến triển bệnh dị ứng. IL-12 làm tế bào T giải phóng IFN- $\gamma$ . IL-12 được giải phóng từ toàn bộ tế bào máu, với nồng độ thấp ở những bệnh nhân hen [153-154]. Theo Zhang và cộng sự, nhóm trẻ hen có nồng độ IL-12 thấp hơn so với nhóm chứng ( $35,33 \pm 8,5$  pg/ml so với  $61,23 \pm 11,51$  pg/ml) [155]. Nghiên cứu của chúng tôi không thấy sự khác biệt về nồng độ IL-12 giữa nhóm trẻ có cơn hen cấp so với nhóm chứng.

#### **4.3.3. Sự biến đổi các cytokine khác**

Ở người, tế bào Th0, Th1, và Th2 thuộc dòng tế bào TCD4+, tế bào T độc, tế bào mono hoạt hoá và tế bào T trong máu ngoại vi bao gồm tế bào T CD4+ và TCD8+ đều có khả năng sản xuất IL-10.

Interleukin-10 là một cytokine kháng viêm ức chế cả tế bào Th1 và Th2 tổng hợp IgE cũng như làm ngắn đời sống của bạch cầu ưa acid [124]. Tuy nhiên, có mối liên quan giữa tăng nồng độ IL-10 và tăng đáp ứng đường thở ở

bệnh nhân HPQ, vì IL-10 làm tăng co thắt cơ trơn đường thở. Điều này gợi ý tăng sản xuất IL-10 tại chỗ góp phần tác động trực tiếp vào biểu hiện tăng đáp ứng đường thở [156-157]. Tuy nhiên vai trò của IL-10 trên tăng đáp ứng đường thở vẫn còn nhiều tranh cãi [1-158].

Interleukin-10 có vai trò chính điều hoà viêm đường thở, tăng bài tiết IL-10 trong cơn hen giúp kiểm soát quá trình viêm [159]. Tuy nhiên điều hòa sản xuất IL-10 cả tăng và giảm ở bệnh nhân hen, và sự khác biệt này có thể do biểu hiện đa dạng của kiểu hình lâm sàng ở những bệnh nhân tham gia nghiên cứu [160-161]. IL-10 có thể ức chế bài tiết các cytokine tiền viêm (IL-1, IL-6, IL-12 và TNF- $\alpha$ ) bởi ức chế đại thực bào và bạch cầu mono. Các kết quả nghiên cứu chỉ ra IL-10 có hoạt tính kháng viêm và có thể hoạt động như yếu tố chính trong phản ứng dị ứng. Nồng độ thấp IL-10 có thể có tiên lượng tốt trong điều trị hen [162].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-10 trong cơn hen cấp cao hơn sau cơn hen cấp và nhóm chứng, nhưng sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Wei cho kết quả tương tự, với nồng độ IL-10 trong máu ở trẻ hen tương tự như nhóm chứng [163]. Theo Zhang và cộng sự, nhóm trẻ hen có nồng độ IL-10 cao hơn so với nhóm chứng ( $45,13 \pm 7,1\text{pg/ml}$  so với  $13,91 \pm 2,75\text{pg/ml}$ ) [155]. Các nghiên cứu khác cho kết quả tương tự, với nồng độ IL-10 trong máu ngoại vi ở nhóm hen phế quản cao hơn nhóm chứng [121-164]. Tuy nhiên, trong nghiên cứu của Moniuszko, nồng độ IL-10 ở nhóm có cơn hen phế quản thấp hơn nhóm không có cơn hen cấp [108].

Các kết quả về sự thay đổi nồng độ IL-10 và IL-12 trong cơn hen cấp chỉ ra sự mất cân bằng Th1/Th2, xác định vai trò quan trọng cân bằng Th1/Th2 trong cơ chế sinh bệnh học hen phế quản. Nồng độ IL-10 cao quan sát được ở bệnh nhân hen nhiễm virus; tuy nhiên, IL-10 cũng có vai trò ức chế cơn hen

do ức chế sản xuất các cytokine của tế bào Th2 và sự tập chung bạch cầu ưa acid tại đường thở, và giảm nồng độ IL-10 dẫn đến tăng tỷ số IL-4/ IFN- $\gamma$  , hậu quả dẫn đến cơn hen nặng.

IL-8 là cytokine được sản xuất bởi đại thực bào và các tế bào khác như tế bào biểu mô, tế bào cơ trơn đường thở và tế bào nội mô. IL-8 là yếu tố hấp dẫn bạch cầu đa nhân trung tính và các tế bào chứa hạt khác di cư tới ổ viêm. IL-8 cũng kích ứng quá trình thực bào. Khi vi khuẩn xâm nhập vào cơ thể, đại thực bào là tế bào đầu tiên tiếp xúc và tiêu diệt vi khuẩn. Nó cũng là tế bào đầu tiên bài tiết ra IL-8 để hấp dẫn bạch cầu đa nhân trung tính tới ổ viêm. IL-8 giải phóng với số lượng lớn ở bệnh nhân hút thuốc lá chủ động [165]. IL-8 là cytokine tiền viêm liên quan đến các bệnh nhiễm khuẩn hoặc hen kháng thuốc.

Viêm đường thở trong hen phế quản huy động bởi cả bạch cầu ưa acid và bạch cầu đa nhân trung tính, IL-8 có tính hoá ứng động bạch cầu đa nhân trung tính tới vị trí viêm trong quá trình viêm, nồng độ IL-5 và IL-8 đều tăng trong cơn hen cấp và nồng độ IL-8 giảm khi hết cơn hen cấp. Kết quả trong nghiên cứu của Norrzila và cộng sự cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của chúng tôi [166].

IL-6 là interleukine đa chức năng tham gia vào giai đoạn cấp của quá trình viêm, biệt hóa tế bào lympho B, và tạo kháng thể. IL-6 được tổng hợp và bài tiết bởi rất nhiều tế bào khác nhau như tế bào đơn nhân, đại thực bào, tế bào lympho T và tế bào lympho B, tế bào nội mô và nguyên bào sợi. IL-6 được xem là yếu tố tiên lượng viêm phổi nặng do vi khuẩn.

IL-6 có hiệu quả kháng viêm, ức chế giải phóng IL-1 và TNF- $\alpha$  từ đại thực bào [39]. IL-6 điều hoà hoạt động tế bào TCD4+, kích thích IL-4 sản xuất trong quá trình biệt hoá Th2, ức chế biệt hoá Th1. IL-6 cũng là yếu tố biệt hoá tế bào lympho B và sản xuất các globulin miễn dịch. Bản chất tính nhiều hướng

của IL-6 trong vai trò điều hoà miễn dịch gợi ý rằng IL-6 có vai trò trong cơ chế bệnh sinh HPQ [68].

Trong hen tăng bạch cầu đa nhân trung tính, nồng độ IL-8 và IL-6 liên quan đến số lượng bạch cầu đa nhân trung tính, vì các cytokine này được giải phóng bởi tế bào biểu mô và gợi ý nó có vai trò quan trọng trong hen nặng [167]. Theo Nakamoto, nồng độ IL-8 và IL-6 trong cơn hen cấp cao hơn so với sau cơn hen cấp nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [168]. Nghiên cứu của Wei cho thấy nồng độ IL-6 trong máu của trẻ hen phế quản cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng [163].

Ngược lại, nghiên cứu của Nasser và cộng sự cho thấy giảm nồng độ các cytokine như GMCSF, IFN- $\gamma$ , IL-5, IL-6, IL-8 ở trẻ hen so với nhóm chứng. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về nồng độ TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-10, IL-13 giữa nhóm hen và nhóm chứng [112]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ IL-6 trong cơn hen cấp thấp hơn có ý nghĩa so với sau cơn hen, và nồng độ IL-8 không có sự khác biệt giữa trong và sau cơn hen cấp. Kết quả này cho thấy có sự mất cân bằng giữa các cytokine của tế bào lympho T ở trẻ hen. Hơn nữa kết quả nghiên cứu cũng ủng hộ vai trò của GMCSF và IFN- $\gamma$  ở trẻ hen và mối liên quan với nồng độ IL-4 và IL-5 là các cytokine được bài tiết bởi tế bào Th2. Phần lớn các nghiên cứu đều đưa ra bằng chứng gợi ý rằng các cytokine của Th2 tăng điều hoà trong hen ở trẻ em. Tuy nhiên, một số nghiên cứu gần đây cho rằng các cytokine của tế bào Th1 cũng phản ánh tình trạng viêm ở trẻ hen phế quản, đặc biệt vai trò của IFN- $\gamma$  đã được ghi nhận. Nghiên cứu của Nasser gợi ý rằng, GMCSF, IFN- $\gamma$ , IL4 và IL-5 có thể được sử dụng như là marker sinh học để nhận biết hen nặng [112].

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tăng nồng độ các cytokine được bài tiết từ tế bào Th2 cùng với giảm bài tiết các cytokine có nguồn gốc từ tế bào

Th1, biểu hiện sự tăng nồng độ IL-5 và giảm nồng độ IFN- $\gamma$  so với nhóm chứng. Điều này cho thấy sự suy yếu hoạt động miễn dịch theo hướng tế bào Th1 và tăng cường hoạt động theo hướng tế bào Th2. Tuy nhiên, tăng nồng độ các cytokine như GMCSF, IL-12 cho thấy tính đáp ứng viêm đa dạng trong hen phế quản, với sự phối hợp cả Th1/Th2 trong cơ chế bệnh sinh.

#### **4.3.4. Sự biến đổi các cytokine ở trẻ hen phế quản nhiễm Rhinovirus**

Cơ chế Rhinovirus gây khởi phát cơn hen cấp còn chưa rõ ràng. Rhinovirus có thể gây khởi phát cơn hen cấp thông qua nhiều cơ chế khác nhau, như xâm nhập đường hô hấp dưới, kích ứng đáp ứng viêm đối với virus, giảm chức năng hô hấp, tăng phản ứng phế quản và tăng ICAM-1 trên bề mặt của biểu mô phế quản.

Martinez và cộng sự tiến hành thực nghiệm trên hai lô chuột, một nhóm chuột bình thường và một nhóm chuột đã được gây mẫn cảm với dị nguyên đường hô hấp từ trước. Cả hai nhóm này đều được cho tiếp xúc với RV. Tiến hành phân lập đại thực bào trong dịch rửa phế quản cho thấy đáp ứng viêm có sự khác biệt giữa hai nhóm này. Ở nhóm chuột không có tiếp xúc với dị nguyên từ trước, đáp ứng viêm nghiêng về phía tế bào Th1, với sự tăng bài tiết các cytokine như TNF- $\alpha$ , IL-12 và không có sự thay đổi các cytokine thuộc tế bào Th2. Ngược lại, ở nhóm đã có tiếp xúc với dị nguyên từ trước, đáp ứng viêm sau nhiễm RV nghiêng theo hướng tế bào Th2, với tăng bài tiết IL-4, IL-13 và giảm đáp ứng theo hướng Th1 [169].

Một nghiên cứu khác tiến hành nuôi cấy tế bào biểu mô phế quản nhiễm RV cho thấy tế bào này sản xuất ra nhiều cytokines và chemokines gây viêm như IL-6, IL-8, GMCSF, IL-16. Tăng nồng độ IL-6 được quan sát thấy trong trường hợp hen nhiễm Rhinovirus [39]. Fraenkel và cộng sự nghiên cứu trên mảnh sinh thiết phế quản của người bình thường và người mắc hen cùng nhiễm RV. Nghiên cứu chỉ ra tăng số lượng tế bào lympho ở lớp dưới niêm mạc và

giảm sự luân chuyển tế bào lympho, điều này có liên quan đến thay đổi tính phản ứng phế quản ở người mắc HPQ. Tác giả kết luận nhiễm RV đường hô hấp dẫn đến đáp ứng viêm qua trung gian tế bào lympho T, hậu quả giảm chức năng đường hô hấp. RV phát hiện ở 50% mảnh sinh thiết phế quản, phù hợp với giả thiết rằng RV có thể gây đáp ứng viêm tại đường hô hấp dưới [170].

Như vậy, đáp ứng miễn dịch với Rhinovirus có sự khác biệt giữa người HPQ và người khỏe mạnh. Trong HPQ, tế bào biểu mô đường thở bị tổn thương, tăng tiết chất nhầy. Chính điều này làm Rhinovirus dễ dàng tiếp cận vào màng đáy của phế quản, tế bào goblet và nhân lên ở đây. Đáp ứng viêm theo hướng tế bào Th2 là cơ chế bệnh sinh chủ yếu trong HPQ. IL-4 được bài tiết bởi tế bào Th2 ức chế sự biệt hóa theo hướng tế bào Th1. Vào mùa lạnh, ở các cá thể khỏe mạnh thường tăng nồng độ IFN- $\gamma$  trong đờm nhằm tiêu diệt Rhinovirus tại đường thở. Tuy nhiên ở cá thể HPQ bị nhiễm Rhinovirus, tế bào biểu mô đường thở giảm đáp ứng viêm theo hướng Th1 mà lại ưu thế theo hướng Th2 để chống lại Rhinovirus [171]. Barends và cộng sự thấy rằng nhiễm Rhinovirus sau khi tiếp xúc với dị nguyên làm tăng tiết các cytokines của tế bào Th2 tại phổi, gây tổn thương phổi, tăng mãn cảm đường thở, nhưng không gây đáp ứng viêm theo hướng Th1 [32].

IFN- $\gamma$  có vai trò quan trọng trong bệnh học nhiễm virus đường hô hấp. Chức năng bảo vệ của IFN- $\gamma$  đã được chứng minh khi nhiễm virus đường hô hấp lần đầu tiên và các lần tiếp theo. Cung cấp IFN- $\gamma$  ngăn ngừa khả năng phát triển tăng mãn cảm đường thở. Bệnh nhân hen và cơ địa dị ứng thường giảm nồng độ IFN- $\gamma$ , và nồng độ này giảm đáng kể ngay từ lúc mới sinh [172].

Nhiễm virus đường hô hấp kích hoạt cơn hen cấp được quan sát ở nhiều nghiên cứu [89-90]. Tuy nhiên đáp ứng viêm trong máu ngoại vi sau nhiễm virus có sự khác biệt giữa người bình thường và người mắc hen. Người bình thường, IFN- $\gamma$  và IL-10 được sản sinh từ tế bào lympho TCD4<sup>+</sup> liên quan đến



cơ chế bảo vệ, đáp ứng diễn ra mạnh mẽ khi tải lượng virus thấp và triệu chứng cảm lạnh ở mức độ nhẹ. Ở các cá thể HPQ, sau nhiễm RV có mối liên quan tuyến tính ngược giữa tải lượng virus và tế bào lympho T CD4<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$  và IL-10. Đồng thời có mối liên quan tuyến tính ngược giữa tế bào lympho T CD4<sup>+</sup>, IFN- $\gamma$  và giảm cung lượng đỉnh, cũng như mối tương quan tuyến tính thuận giữa tế bào lympho LYMPHO T, IL-4, IL-5 và các triệu chứng của đường hô hấp dưới [55]. IL-4 chỉ tăng ở người bị hen và tỷ số IFN- $\gamma$ /IL-4 thấp ở người mắc hen so với người bình thường. Người mắc hen có tăng nồng độ IL-10 và giảm nồng độ IL-12 so với người bình thường, chứng tỏ sự đáp ứng viêm với RV khác nhau giữa người bình thường và người hen [173]. Một số nghiên cứu đã gợi ý đáp ứng theo hướng Th2 có thể tiên tri ở trẻ hen dị ứng mặc dù IFN- $\gamma$  tăng cao [174]. Hơn nữa, một số nghiên cứu trên chuột cho thấy IFN- $\gamma$  là yếu tố cần thiết để di cư tế bào Th2 đến đường thở [175].

Giảm nồng độ IFN- $\gamma$  liên quan đến tình trạng cảm lạnh nặng và giảm khả năng ức chế sự nhân lên của Rhinovirus. Thực nghiệm vào ngày thứ 4, bệnh nhân HPQ nhiễm RV giảm rõ tế bào lympho T nhóm TCD4<sup>+</sup>, TCD8<sup>+</sup> và tế bào lympho B trong máu so với người bình thường [110]. Brooks tiến hành nghiên cứu trên 19 cá thể HPQ, các cá thể này được nuôi cấy với RV16 trong 6 ngày. Kết quả nghiên cứu cho thấy Rhinovirus 16 làm giảm nồng độ IFN- $\gamma$  và có liên quan chặt chẽ với test kích thích phế quản bằng methacholine ( $r = 0,50$ ,  $p = 0,03$ ). Tỷ số IFN- $\gamma$ / IL-5 liên quan đến % FEV1 tiên đoán ( $r = 0,53$ ,  $p = 0,02$ ). Như vậy nhiễm Rhinovirus làm suy yếu đáp ứng cơ thể theo hướng Th1 [44].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-2 trong cơn hen cấp không có sự khác biệt so với nhóm trẻ khỏe mạnh. Tuy nhiên trong nhóm nhiễm Rhinovirus, nồng độ IL-2 tăng cao có ý nghĩa so với nhóm không nhiễm

Rhinovirus, điều này cho thấy nhiễm virus làm tăng hoạt động của Th1 tương tự như các nghiên cứu khác.

IL-10 có thể ức chế sản xuất của các cytokine tiền viêm (IL-1, IL-6, IL-12 và TNF- $\alpha$ ) bởi đại thực bào và bạch cầu mono. Các kết quả nghiên cứu chỉ ra IL-10 có hoạt tính kháng viêm. Ở bệnh nhân HPQ nhiễm Rhinovirus, nồng độ IL-10 thường tăng, điều này có thể giảm hiệu quả chống viêm và làm chậm quá trình làm sạch virus [176]. Điểm đáng lưu ý là có mối liên quan giữa tăng nồng độ IL-10 và tăng đáp ứng đường thở ở bệnh nhân HPQ, vì IL-10 làm tăng co thắt cơ trơn đường thở, tăng sản xuất IL-10 tại chỗ góp phần tác động trực tiếp làm tăng đáp ứng đường thở [156-157].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-10 ở nhóm HPQ có nhiễm Rhinovirus thấp hơn nhóm HPQ không nhiễm Rhinovirus (4,57 pg/ml so với 13,44 pg/ml,  $p= 0,045$ ). Van Benten và cộng sự nhận thấy nồng độ IL-10 giảm ở trẻ nhiễm virus đường hô hấp trên như Rhinovirus và Virus hợp bào hô hấp so với trẻ không nhiễm virus đường hô hấp [78]. Nồng độ IL-10 thấp có thể có lợi trong điều trị hen [162].

#### ***4.3.5. Mối liên quan giữa nồng độ các cytokine với độ nặng cơn hen cấp***

Các marker viêm giúp tiên đoán mức độ nặng của viêm đường thở. Nghiên cứu của Meyer chỉ ra chemokine và cytokine tiền viêm trong máu là những marker quan trọng để xác định mức độ nặng của cơn hen cấp, tình trạng kiểm soát hen, và đáp ứng với điều trị. Đánh giá đáp ứng miễn dịch hệ thống qua nồng độ các cytokine và chemokine có vai trò quan trọng cho theo dõi bệnh nhân hen và tối ưu hoá điều trị hen [177].

Hoekstra chỉ ra sự khác biệt về nồng độ IL-4 dường như phụ thuộc vào mức độ nặng của cơn hen cấp [173]. Nghiên cứu của Bogie cho thấy ở trẻ có cơn hen cấp mức độ trung bình và nặng, nồng độ IL-4 cao hơn trẻ trong cơn hen cấp mức độ nhẹ [178]. Tuy nhiên, một nghiên cứu khác chỉ

ra không có sự khác biệt về nồng độ IL-4 giữa nhóm chứng với trẻ hen mức độ nhẹ và trung bình [173]. Sự khác nhau về kết quả IL-4 giữa các nghiên cứu khác nhau có thể do sự khác nhau về yếu tố kích hoạt tế bào và thời điểm kích hoạt tế bào cũng như độ nặng của cơn hen cấp.

Nồng độ IL-5 ở trẻ HPQ trung bình và nặng cao hơn rõ rệt so với nhóm hen mức độ nhẹ. Tuy nhiên, nghiên cứu của Dagabri chỉ ra rằng IL-5 giảm ở nhóm trẻ hen nặng so với nhóm chứng, nhưng IL-4 lại tăng đáng kể [179]. Tương tự IL-4, sự khác biệt về nồng độ IL-5 giữa các nghiên cứu là do cỡ mẫu khác nhau, thời gian lấy bệnh phẩm khác nhau và các yếu tố kích hoạt hoạt động tế bào của các nghiên cứu cũng khác nhau.

Nghiên cứu của Machura chỉ ra nồng độ IL-13 của tế bào TCD4 thường tăng trong cơn hen cấp nặng, không có sự biến đổi ở trẻ có cơn hen cấp nhẹ và có tương quan tuyến tính thuận với thời gian mắc bệnh HPQ.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi không thấy mối tương quan giữa nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 như IL-4, IL-5, IL-13 với độ nặng của cơn hen cấp.

Tăng TNF- $\alpha$  là yếu tố tiên lượng cơn hen cấp nặng. Ở bệnh nhân cơn hen cấp nặng đòi hỏi phải thông khí hỗ trợ, dịch rửa phế quản có tăng bạch cầu đa nhân trung tính và cytokine tiền viêm bao gồm TNF- $\alpha$  [79]. TNF- $\alpha$  tăng phản ánh tình trạng hen kháng corticosteroids.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ các cytokine có liên quan đến tế bào Th1 như IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  không có sự khác biệt theo độ nặng cơn hen cấp. Đồng thời nồng độ các cytokine thuộc nhóm này cũng không liên quan đến độ nặng của cơn hen cấp ở cả nhóm HPQ nhiễm RV cũng như nhóm HPQ không nhiễm RV.

Interleukine-10 gây đáp ứng viêm có tính hai chiều trong HPQ. Câu hỏi nghiên cứu ở đây là liệu IL-10 ức chế đáp ứng viêm trong hen hay làm bệnh

nặng lên. Thực tế quan sát cho thấy ở bệnh nhân HPQ có nhiễm virus đường hô hấp, nồng độ IL-10 thường tăng cao. Vai trò của IL-10 trong phản ứng viêm tại đường thở phụ thuộc vào thời gian tăng IL-10 tại phổi [180]. Ngược lại, Message và cộng sự thấy rằng IL-10 liên quan đến cơ chế bảo vệ tại đường thở sau nhiễm RV, và sự đáp ứng diễn ra mạnh mẽ khi tải lượng virus thấp và triệu chứng cảm lạnh ở mức độ nhẹ [110]. Trên các cá thể bị HPQ, sau nhiễm RV có mối liên quan tuyến tính ngược giữa tải lượng virus và nồng độ IL-10 [110], nghĩa là trẻ nhiễm virus càng nặng, nồng độ IL-10 càng thấp.

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nhóm trẻ HPQ nhiễm RV có nồng độ IL-10 không khác biệt so với nhóm trẻ HPQ không nhiễm RV. Tuy nhiên trẻ có cơn hen cấp nặng có nồng độ IL-10 thấp hơn trẻ có cơn hen mức độ nhẹ hoặc trung bình, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê.

Điều trị glucocorticoid làm ảnh hưởng đến các marker viêm của đợt hen cấp. Sahid và cộng sự đã chứng minh điều trị bằng glucocorticoid đường uống làm cải thiện triệu chứng lâm sàng, làm giảm đáng kể nồng độ IL-5 (từ 5,59 xuống 2,19 pg/ml,  $p=0,0001$ ) [181]. Hơn nữa, nồng độ IFN- $\gamma$  thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm hen đã sử dụng và chưa sử dụng corticoid so với nhóm chứng [122]. Shao và cộng sự nghiên cứu cho thấy nồng độ IFN- $\gamma$  ở nhóm hen nhiễm mycoplasma và nhóm không nhiễm mycoplasma đều giảm so với nhóm chứng  $\{(19,20 \pm 4,47 \text{ pg/ml}) \text{ và } (22,9 \pm 3,85 \text{ pg/ml}) \text{ so với } (93,05 \pm 37,55 \text{ pg/ml})\}$  [182]. Những nghiên cứu trước đây chứng minh rằng corticosteroid ức chế tổng hợp cả IL-4 và IFN- $\gamma$  nhưng ức chế IFN- $\gamma$  thì kém hơn. Do đó, việc phát hiện nồng độ IL-4 thấp hơn ở nhóm hen đã điều trị bằng corticosteroid ủng hộ cho những phát hiện trước đây và gợi ý rằng điều trị bằng corticosteroid làm giảm điều hoà nồng độ IL-4 trong hen.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ các cytokine không khác biệt theo độ nặng cơn hen cấp. Như vậy, mọi cytokine đều có vai trò quan trọng trong việc duy trì tình trạng viêm ở trẻ hen phế quản, và đáp ứng viêm trong HPQ là đáp ứng phối hợp của cả tế bào Th1 và Th2.

#### **4.4. So sánh giá trị cytokine trong máu ngoại vi trong và sau cơn hen cấp**

Hen phế quản là bệnh viêm mạn tính đường thở. Nghiên cứu của Van và cộng sự cho thấy ngay cả khi bệnh nhân không có các triệu chứng lâm sàng, tình trạng viêm đường thở và tái cấu trúc đường thở vẫn tồn tại và tiếp diễn thông qua biểu hiện tăng nồng độ IL-5, FeNO, bạch cầu ưa acid ở bệnh nhân sau cơn hen cấp so với nhóm chứng [183].

Theo Minako và cộng sự, nồng độ IL-5 trong cơn hen cấp cao hơn so với sau cơn hen cấp và nồng độ IL-5 sau cơn hen cao hơn nhóm chứng. Ngược lại, nồng độ IL-10 ở nhóm trong cơn cấp thấp hơn nhóm sau cơn hen cấp. Kết quả nghiên cứu gợi ý rằng tình trạng viêm dị ứng vẫn tiếp tục xảy ra mặc dù triệu chứng lâm sàng đã hết [184].

Một nghiên cứu khác của Caldereron và cộng sự cho thấy nồng độ IL-4 không thay đổi giữa các bệnh nhân trong cơn hen cấp và sau cơn hen cấp, trong khi đó nồng độ IL-13 trong cơn hen cấp cao hơn so với sau cơn hen cấp, và nồng độ IFN- $\gamma$  trong cơn hen thấp hơn sau cơn hen. Kết quả nghiên cứu giả định vai trò quan trọng của IL-13 trong cơn hen cấp nặng, trong khi đó IFN- $\gamma$  liên quan đến khỏi cơn hen cấp, và tình trạng làm sạch virus sau giai đoạn cấp của hen phế quản [185].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-4 trong cơn hen cấp thấp hơn có ý nghĩa so với sau cơn hen cấp, nồng độ IL-5 trong cơn hen cao hơn sau cơn hen và trẻ khỏe mạnh. Nồng độ IL-2 trong cơn hen thấp hơn có ý nghĩa so với sau cơn hen. Các biến đổi cytokine trong và sau cơn hen cấp chúng tôi tình trạng viêm được phát động trong cơn hen cấp và vẫn duy trì sau cơn hen.

## **KẾT LUẬN**

Qua nghiên cứu 125 bệnh nhi hen phế quản điều trị nội trú tại khoa Miễn dịch- Dị ứng Bệnh viện Nhi Trung Ương từ tháng 8/2013 đến tháng 8/2015, chúng tôi rút ra một số kết luận sau:

### **1. Biến đổi tế bào viêm trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản**

- 81,6% trẻ có tăng bạch cầu trong cơn hen phế quản cấp, với 66,4% tăng bạch cầu đa nhân trung tính và 32% tăng bạch cầu ưa acid.

- Có mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với độ nặng của cơn hen cấp.

- Ở nhóm hen phế quản nhiễm Rhinovirus, có mối tương quan giữa số lượng bạch cầu, bạch cầu đa nhân trung tính và bạch cầu ưa acid với độ nặng của cơn hen cấp.

- Nhiễm Rhinovirus làm tăng độ nặng của cơn hen phế quản cấp.

- Trong cơn hen cấp, 40% bệnh nhân giảm tế bào TCD3+, 46% giảm tế bào TCD4+ và 18% giảm tế bào TCD8+.

- Có mối tương quan giữa giảm tế bào TCD8+ với độ nặng của cơn hen cấp.

### **2. Sự thay đổi một số cytokine trong máu ngoại vi ở bệnh nhi trong cơn hen cấp**

- Trẻ trong cơn hen cấp có tăng nồng độ IL-5, IL-13 so với nhóm trẻ khỏe mạnh, điều này chứng tỏ trẻ hen phế quản tăng đáp ứng viêm theo hướng tế bào Th2.

- Trẻ trong cơn hen cấp giảm nồng độ TNF- $\alpha$ , IL-6 so với nhóm trẻ khỏe mạnh, điều này chứng tỏ trẻ hen phế quản có sự ức chế theo hướng tế bào Th1.

- Nồng độ cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 (IL-13) tăng trong cơn hen cấp so với sau cơn hen cấp và nhóm chứng. Các cytokine (IL-5, IL-13) tăng ở

nhóm trẻ sau cơn hen cấp so với nhóm chứng → chứng tỏ đáp ứng viêm vẫn duy trì sau cơn hen cấp.

- Trong nhóm hen phế quản nhiễm Rhinovirus có ưu thế đáp ứng viêm theo hướng hỗn hợp cả tế bào Th1 và Th2 (tăng nồng độ IL-4, IL-2 và IL-12, IL-8) so với nhóm hen phế quản không nhiễm Rhinovirus.

- Không có mối liên quan giữa nồng độ các cytokine với độ nặng cơn hen cấp.

### **3. Sự thay đổi nồng độ các cytokine trong và sau cơn hen cấp**

- Trong cơn hen cấp, nồng độ IL-4 thấp hơn so với sau cơn ở cả nhóm hen chung và nhóm hen nhiễm Rhinovirus.

- Trong cơn hen cấp nồng độ IL-2 thấp hơn so với sau cơn ở cả nhóm hen chung và nhóm hen nhiễm Rhinovirus.

Đáp ứng viêm trong hen phế quản là một cơ chế phức tạp, với sự tham gia của nhiều loại tế bào và các cytokine khác nhau. Phản ứng viêm mạn trong hen luôn được duy trì gây hậu quả giảm chức năng hô hấp, tăng phản ứng phế quản, tái tạo lại đường thở theo thời gian.

## **KIẾN NGHỊ**

Đáp ứng viêm trong hen phế quản là một cơ chế phức tạp, cơ chế đáp ứng thay đổi tùy thuộc vào từng cá thể và yếu tố gây khởi phát cơn hen cấp. Ngày nay mặc dù đã có các khuyến cáo về điều trị hen nhưng vẫn có nhiều bệnh nhân không kiểm soát được hen mặc dù tuân thủ phác đồ điều trị. Định lượng cytokine trong hen phế quản giúp hiểu rõ cơ chế bệnh sinh hen phế quản ở từng cá thể, từ đó giúp lựa chọn đích điều trị phù hợp.



## **DANH MỤC CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN**

1. Le Thi Thu Huong, Nguyen Thi Dieu Thuy (2016), Study of the cytokine concentrations in unselected peripheral blood in children with asthma, *Journal of French - Vietnamese Association of Pulmonology*, 22(7): 49 - 53.
2. Le Thi Thu Huong, Nguyen Thi Van Anh, Thuc Thi Thanh Huyen, Nguyen Thi Dieu Thuy, Le Minh Huong (2014), Role of cytokines in asthma, *Journal of French - Vietnamese Association of Pulmonology*, 05(14): 25-31.
3. Nguyen Thi Dieu Thuy, Le Thi Thu Huong, Dương Quy Sy (2016), The profile of leucocytes, CD3+, CD4+, and CD8+ T cells, and cytokine concentrations in peripheral blood of children with acute asthma exacerbation, *Journal of International Medical Research*, Date received: 7 July 2016; accepted: 1 November 2016, 1 – 12.
4. Lê Thị Thu Hương, Nguyễn Thị Diệu Thúy (2017), Nghiên cứu vai trò của một số tế bào viêm và cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 3 (2): 84-84.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Barnes P. J. (2008). The cytokine network in asthma and chronic obstructive pulmonary disease. *J Clin Invest*, 118 (11), 3546-3556.
2. Levine S. J., Wenzel S. E. (2010). Narrative review: the role of Th2 immune pathway modulation in the treatment of severe asthma and its phenotypes. *Ann Intern Med*, 152 (4), 232-237.
3. Hamid Q., Tulic M. (2009). Immunobiology of asthma. *Annu Rev Physiol*, 71, 489-507.
4. Lourenco O., Mafalda Fonseca A., Taborda-Barata L. (2009). T cells in sputum of asthmatic patients are activated independently of disease severity or control. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 37 (6), 285-292.
5. Nguyen Thi Dieu Thuy (2007). A thesis for degree of Doctor of Philosophy. Faculty of Health school of Medicine and Public Health University of Newcastle.
6. Seneviratne S. L., Jones L., King A. S., et al (2002). Allergen-specific CD8(+) T cells and atopic disease. *J Clin Invest*, 110 (9), 1283-1291.
7. Lloyd C. M., Hawrylowicz C. M. (2009). Regulatory T cells in asthma. *Immunity*, 31 (3), 438-449.
8. Sears M. R. (2000). Consequences of long-term inflammation. The natural history of asthma. *Clin Chest Med*, 21 (2), 315-329.
9. Bateman E. D., Hurd S. S., Barnes P. J., et al (2008). Global strategy for asthma management and prevention: GINA executive summary. *Eur Respir J*, 31 (1), 143-178.
10. Mark FitzGerald H. R. J, Louis-Philippe Boulet (2016). Global Strategy for Asthma Management and Prevention 14.

11. Cirillo I., Vizzaccaro A., Crimi E. (2003). Airway reactivity and diving in healthy and atopic subjects. *Med Sci Sports Exerc*, 35 (9), 1493-1498.
12. Subbarao P., Mandhane P. J., Sears M. R. (2009). Asthma: epidemiology, etiology and risk factors. *CMAJ*, 181 (9), E181-190.
13. Pattemore P. K., Ellison-Loschmann L., Asher M. I., et al (2004). Asthma prevalence in European, Maori, and Pacific children in New Zealand: ISAAC study. *Pediatr Pulmonol*, 37 (5), 433-442.
14. Ellison-Loschmann L., Pattemore P. K., Asher M. I., et al (2009). Ethnic differences in time trends in asthma prevalence in New Zealand: ISAAC Phases I and III. *Int J Tuberc Lung Dis*, 13 (6), 775-782.
15. Mallol J. (2004). [Satellite symposium: Asthma in the World. Asthma among children in Latin America]. *Allergol Immunopathol (Madr)*, 32 (3), 100-103.
16. Greenfield R. O., Lee A. C., Tang R., et al (2005). Screening for asthma in Cantonese-speaking immigrant children. *BMC Public Health*, 5, 48.
17. El-Sharif N. A., Nemery B., Barghuthy F., et al (2003). Geographical variations of asthma and asthma symptoms among schoolchildren aged 5 to 8 years and 12 to 15 years in Palestine: the International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC). *Ann Allergy Asthma Immunol*, 90 (1), 63-71.
18. Trần Quy, Ngô Quý Châu, Nguyễn Tiến Dũng và cs (2008). Dịch tễ học chẩn đoán, điều trị và phòng bệnh hen. 188-189.
19. Nga N. N., Chai S. K., Bihn T. T., et al (2003). ISAAC-based asthma and atopic symptoms among Ha Noi school children. *Pediatr Allergy Immunol*, 14 (4), 272-279.
20. Trần Thúy Hạnh, Nguyễn Văn Đoàn (2011). Nghiên cứu thực trạng hen phế quản ở việt nam năm 2010 - 2011, 51-56.

21. David Strachan E. L., Neil Pearce, Guy Marks (2014). Asthma Mortality. *The Global Asthma Report*.
22. Eric D. Bateman., Louis-Philippe Boule A. A. C., Mark FitzGerald, et al (2011). Global strategy for Asthma management and prevention.
23. Chinen J., Fleisher T. A., Shearer W. T. (2014). Middleton's Allergy Principles and Practice 8th 2014(1), 20-28.
24. Renauld J. C. (2001). New insights into the role of cytokines in asthma. *J Clin Pathol*, 54 (8), 577-589.
25. Cohen L., Castro M. (2003). The role of viral respiratory infections in the pathogenesis and exacerbation of asthma. *Semin Respir Infect*, 18 (1), 3-8.
26. Gern J. E., Rosenthal L. A., Sorkness R. L., et al (2005). Effects of viral respiratory infections on lung development and childhood asthma. *J Allergy clin immunol*, 115 (4), 668-674; quiz 675.
27. Sigurs N. (2002). A cohort of children hospitalised with acute RSV bronchiolitis: impact on later respiratory disease. *Paediatr Respir Rev*, 3 (3), 177-183.
28. Stein R. T., Sherrill D., Morgan W. J., et al (1999). Respiratory syncytial virus in early life and risk of wheeze and allergy by age 13 years. *Lancet*, 354 (9178), 541-545.
29. Kotaniemi-Syrjanen A., Vainionpaa R., Reijonen T. M., et al (2003). Rhinovirus-induced wheezing in infancy--the first sign of childhood asthma? *J Allergy Clin Immunol*, 111 (1), 66-71.
30. Openshaw P. J., Yamaguchi Y., Tregoning J. S. (2004). Childhood infections, the developing immune system, and the origins of asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 114 (6), 1275-1277.

31. Lemanske R. F., Busse W. W. (2010). Asthma: clinical expression and molecular mechanisms. *J Allergy Clin Immunol*, 125 (2 Suppl 2), S95-102.
32. Barends M., Boelen A., de Rond L., et al (2002). Influence of respiratory syncytial virus infection on cytokine and inflammatory responses in allergic mice. *Clin Exp Allergy*, 32 (3), 463-471.
33. Shifren A., Witt C., Christie C., et al (2012). Mechanisms of remodeling in asthmatic airways. *J Allergy (Cairo)*, 2012, 316049.
34. Holgate S. T., Holloway J., Wilson S., et al (2006). Understanding the pathophysiology of severe asthma to generate new therapeutic opportunities. *J Allergy Clin Immunol*, 117 (3), 496-506; quiz 507.
35. Makoto Kudo Y. I., and Ichiro Aoki (2013). Pathology of asthma. *frontier in microbiology*, 4 (263).
36. Janeway T. P. CA Jr, Walport M, et al (2001). The Development and Survival of Lymphocytes. *Immunobiology*, chapter 7.
37. Chinen J., Fleisher T. A., Shearer W. T. (2014). Middleton's Allergy Principles and Practice 8th 1, 20-28.
38. Tucker W F. T. a., LeBiencorresponding author (2008). B lymphocytes: how they develop and function. *Blood*, 112, 1570 - 1580.
39. Shailaja Maihaja A. A. M. (2006). Role of Cytokines in Pathophysiology of Asthma. *Iranian journal of pharmacology & therapeutics*, 5, 1-14.
40. Shannon J, Yamauchi Y, et al (2008). Differences in airway cytokine profile in severe asthma compared to moderate asthma. *Chest*, 33(2), 420-426.
41. Desai D., Brightling C. (2009). Cytokine and anti-cytokine therapy in asthma: ready for the clinic? *Clin Exp Immunol*, 158 (1), 10-19.
42. Zhu J., Paul W. E. (2008). CD4 T cells: fates, functions, and faults. *Blood*, 112 (5), 1557-1569.

43. Zhu J., Yamane H., Paul W. E. (2010). Differentiation of effector CD4 T cell populations (\*). *Annu Rev Immunol*, 28, 445-489.
44. Brooks G. D., Buchta K. A., Swenson C. A., et al (2003). Rhinovirus-induced interferon-gamma and airway responsiveness in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 168 (9), 1091-1094.
45. Richard B. Johnston (2014). Middleton's Allergy Principles and Practice. 1 (8), 2-15.
46. Novak N B. T. (2008). Dendritic cells as regulators of immunity and tolerance. *J Allergy Clin Immunol*, 121 (2), S370-S374.
47. Michael M. J Morris, FACP, FCCP (2016). Asthma Practice Essentials.
48. Nirav R. Bhakta, Woodruff P. G. (2011). Human asthma phenotypes: from the clinic, to cytokines, and back again. *Immunology*, 242 (1), 220-232.
49. Broide D. H., Lotz M., Cuomo A. J., et al (1992). Cytokines in symptomatic asthma airways. *J Allergy Clin Immunol*, 89 (5), 958-967.
50. Shannon J., Ernst P., Yamauchi Y., et al (2008). Differences in airway cytokine profile in severe asthma compared to moderate asthma. *Chest*, 133 (2), 420-426.
51. Giuffrida M. J., Valero N., Mosquera J., et al (2014). Increased cytokine/chemokines in serum from asthmatic and non-asthmatic patients with viral respiratory infection. *Influenza Other Respir Viruses*, 8 (1), 116-122.
52. Gallelli L., Busceti M. T., Vatrella A., et al (2013). Update on anticytokine treatment for asthma. *Biomed Res Int*, 2013, 104315.
53. Steinke J. W., Borish L. (2001). Th2 cytokines and asthma. Interleukin-4: its role in the pathogenesis of asthma, and targeting it for asthma treatment with interleukin-4 receptor antagonists. *Respir Res*, 2 (2), 66-70.

54. Kau A. L., Korenblat P. E. (2014). Anti-interleukin 4 and 13 for asthma treatment in the era of endotypes. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 14 (6), 570-575.
55. Mukherjee M., Sehmi R., Nair P. (2014). Anti-IL5 therapy for asthma and beyond. *World Allergy Organ J*, 7 (1), 32.
56. Zhou Y., McLane M., Levitt R. C. (2001). Th2 cytokines and asthma. Interleukin-9 as a therapeutic target for asthma. *Respir Res*, 2 (2), 80-84.
57. Bhowmick B., Singh D. (2008). Novel anti-inflammatory treatments for asthma. *Expert Rev Respir Med*, 2 (5), 617-629.
58. Castro-Rodriguez J. A. (2011). The Asthma Predictive Index: early diagnosis of asthma. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 11 (3), 157-161.
59. Nguyễn Công Khanh, Lê Nam Trà, Nguyễn Thu Nhạn, Nguyễn Văn Lộc (2003). Hướng dẫn chẩn đoán, điều trị bệnh trẻ em. 115-116.
60. Nguyễn Công Khanh (2008). Huyết học lâm sàng nhi khoa. 28-29.
61. Picard C. (2013). When should immunologic explorations be carried out in children with suspicion of primary immunodeficiency?. *Archives de Pédiatrie*, 20, 412-417.
62. Trần Thị Chi Mai, Trần Minh Điền, Lê Thanh Hải và cs (2014). Sổ tay khoảng tham chiếu. *Bệnh Viện Nhi Trung Ương, Khối Xét Nghiệm*.
63. Castro-Rodriguez J. A., Cifuentes L., Rodriguez-Martinez C. E. (2011). The asthma predictive index remains a useful tool to predict asthma in young children with recurrent wheeze in clinical practice. *J Allergy Clin Immunol*, 127 (4), 1082-1083.
64. DSY Lam S. L., So KT (2007). Age of Onset of Asthma Symptoms. *HK J Paediatr*, 12, 11 - 14.

65. Cagney M., MacIntyre C. R., McIntyre P. B., et al (2005). Childhood asthma diagnosis and use of asthma medication. *Aust Fam Physician*, 34 (3), 193-196.
66. Nicolai T, Illi S, Reinhardt D, von Mutius E (2003). Longitudinal follow-up of the changing gender ratio in asthma from childhood to adulthood: role of delayed manifestation in girls. *Pediatr Allergy Immunol*, 14 (4), 280 - 283.
67. Soto-Quiros M. E., Soto-Martinez M. Hanson L. A. (2002). Epidemiological studies of the very high prevalence of asthma and related symptoms among school children in Costa Rica from 1989 to 1998. *Pediatr Allergy Immunol*, 13 (5), 342-349.
68. Weiss S. T., Gold D. R. (1995). Gender differences in asthma. *Pediatr Pulmonol*, 19 (3), 153-155.
69. Sennhauser F. H., Kuhni C. E. (1995). Prevalence of respiratory symptoms in Swiss children: is bronchial asthma really more prevalent in boys? *Pediatr Pulmonol*, 19 (3), 161-166.
70. Lê Thị Hồng Hanh (2007). Một số nhận xét về tình hình hen phế quản trẻ em tại khoa hô hấp-Viện Nhi Trung ương. *Tạp chí Y học thực hành*, 5 (47 - 49).
71. Lê Thị Minh Hương (2007). Đánh giá bước đầu tình hình quản lý hen trẻ em tại bệnh viện Nhi trung Ương. *157-163*, 332.
72. Bener A., Janahi I. A., Sabbah A. (2005). Genetics and environmental risk factors associated with asthma in schoolchildren. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*, 37 (5), 163-168.
73. Mercer M. J., van Niekerk C. H. (1991). Clinical characteristics of childhood asthma. *S Afr Med J*, 79 (2), 77-79.



74. Forastiere F., Sunyer J., Farchi S., et al (2005). Number of offspring and maternal allergy. *Allergy*, 60 (4), 510-514.
75. Wickens K., Crane J., Kemp T., et al (2001). A case-control study of risk factors for asthma in New Zealand children. *Aust N Z J Public Health*, 25 (1), 44-49.
76. Schonberger H., van Schayck O., Muris J., et al (2004). Towards improving the accuracy of diagnosing asthma in early childhood. *Eur J Gen Pract*, 10 (4), 138-145, 151.
77. Illi S., von Mutius E., Lau S., et al (2001). The pattern of atopic sensitization is associated with the development of asthma in childhood. *J Allergy Clin Immunol*, 108 (5), 709-714.
78. London S. J., James Gauderman W., Avol E., et al (2001). Family history and the risk of early-onset persistent, early-onset transient, and late-onset asthma. *Epidemiology*, 12 (5), 577-583.
79. Kakumanu S. (2016). Virus - induced wheezing and asthma. *UpToDate.com*.
80. Holgate S. T. (2005). Exacerbations: the asthma paradox. *Am J Respir Crit Care Med*, 172 (8), 941-943.
81. Jackson D. J., Johnston S. L. (2010). The role of viruses in acute exacerbations of asthma. *J allergy clin immunol*, 125 (6), 1178-1187; quiz 1188-1179.
82. Lê Thị Lê Thảo (2012). Đặc điểm cơn hen cấp ở trẻ hen phế quản điều trị nội trú tại Bệnh Viên Nhi Trung ương, *Y học Việt Nam*, 397, 92-98.
83. Khetsuriani N., Lu X., Teague W. G., et al (2008). Novel human rhinoviruses and exacerbation of asthma in children. *Emerg Infect Dis*, 14 (11), 1793-1796.

83. Mak R. K., Tse L. Y., Lam W. Y., et al (2011). Clinical spectrum of human rhinovirus infections in hospitalized Hong Kong children. *Pediatr Infect Dis J*, 30 (9), 749-753.
85. Yoshihara S., Yamada Y., Abe T., et al (2006). Association of epithelial damage and signs of neutrophil mobilization in the airways during acute exacerbations of paediatric asthma. *Clin Exp Immunol*, 144 (2), 212-216.
86. Lamblin C., Gosset P., Tillie-Leblond I., et al (1998). Bronchial neutrophilia in patients with noninfectious status asthmaticus. *Am J Respir Crit Care Med*, 157 (2), 394-402.
87. Linden A., Adachi M. (2002). Neutrophilic airway inflammation and IL-17. *Allergy*, 57 (9), 769-775.
88. Norzila M. Z., Fakes K., Henry R. L., et al (2000). Interleukin-8 secretion and neutrophil recruitment accompanies induced sputum eosinophil activation in children with acute asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 161 (3 Pt 1), 769-774.
89. Johnston S. L., Pattemore P. K., Sanderson G., et al (1995). Community study of role of viral infections in exacerbations of asthma in 9-11 year old children. *BMJ*, 310 (6989), 1225-1229.
90. Sigurs N. (2001). Epidemiologic and clinical evidence of a respiratory syncytial virus-reactive airway disease link. *Am J Respir Crit Care Med*, 163 (3 Pt 2), S2-6.
91. Pizzichini M. M., Pizzichini E., Clelland L., et al (1997). Sputum in severe exacerbations of asthma: kinetics of inflammatory indices after prednisone treatment. *Am J Respir Crit Care Med*, 155 (5), 1501-1508.
92. Fahy J. V., Kim K. W., Liu J., et al (1995). Prominent neutrophilic inflammation in sputum from subjects with asthma exacerbation. *J Allergy clin immunol*, 95 (4), 843-852.

93. Pizzichini M. M., Pizzichini E., Efthimiadis A., et al (1998). Asthma and natural colds. Inflammatory indices in induced sputum: a feasibility study. *Am J Respir Crit Care Med*, 158 (4), 1178-1184.
94. Corne J. M., Holgate S. T. (1997). Mechanisms of virus induced exacerbations of asthma. *thorax*, 52 (4), 380-389.
95. Mike A. Berry, Beverley Hargadon, Maria Shelley, et al (2006). Evidence of a Role of Tumor Necrosis Factor alpha in Refractory Asthma. *N Engl J Med*, 354, 697-708.
96. Pin I., Gibson P. G., Kolendowicz R., et al (1992). Use of induced sputum cell counts to investigate airway inflammation in asthma. *thorax*, 47 (1), 25-29.
97. Cai Y., Carty K., Henry R. L., et al (1998). Persistence of sputum eosinophilia in children with controlled asthma when compared with healthy children. *Eur Respir J*, 11 (4), 848-853.
98. Le M. Bourgeois, Goncalves M., Le Clainche L., et al (2002). Bronchoalveolar cells in children < 3 years old with severe recurrent wheezing. *Chest*, 122 (3), 791-797.
99. Gern J. E., Calhoun W., Swenson C., et al (1997). Rhinovirus infection preferentially increases lower airway responsiveness in allergic subjects. *Am J Respir Crit Care Med*, 155 (6), 1872-1876.
100. Angeolo Barbato G. T., Simonetta Baraldo, Erica Bazzan., et al (2003). Airway Inflammation in childhood Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 168, 798-803.
101. Claman D. M., Boushey H. A., Liu J., et al (1994). Analysis of induced sputum to examine the effects of prednisone on airway inflammation in asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol*, 94 (5), 861-869.

102. Djukanovic R., Roche W. R., Wilson J. W., et al (1990). Mucosal inflammation in asthma. *Am Rev Respir Dis*, 142 (2), 434-457.
103. Wilson J. W., Djukanovic R., Howarth P. H., et al (1992). Lymphocyte activation in bronchoalveolar lavage and peripheral blood in atopic asthma. *Am Rev Respir Dis*, 145 (4 Pt 1), 958-960.
104. Gavett S. H., Chen X., Finkelman F., et al (1994). Depletion of murine CD4<sup>+</sup> T lymphocytes prevents antigen-induced airway hyperreactivity and pulmonary eosinophilia. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 10 (6), 587-593.
105. Robinson D. S. (2009). Regulatory T cells and asthma. *Clin Exp Allergy*, 39 (9), 1314-1323.
106. Huang T. J., MacAry P. A., Kemeny D. M., et al (1999). Effect of CD8<sup>+</sup> T-cell depletion on bronchial hyper-responsiveness and inflammation in sensitized and allergen-exposed Brown-Norway rats. *Immunology*, 96 (3), 416-423.
107. Suzuki M., Taha R., Ihaku D., et al (1999). CD8<sup>+</sup> T cells modulate late allergic airway responses in Brown Norway rats. *J Immunol*, 163 (10), 5574-5581.
108. Moniuszko M., Grubczak K., Kowal K., et al (2014). Development of asthmatic response upon bronchial allergen challenge is associated with dynamic changes of interleukin-10-producing and interleukin-10-responding CD4<sup>+</sup> T cells. *Inflammation*, 37 (6), 1945-1956.
109. Norbert Krug V. J. E., Kerstin Balke, Jan Petschallies, Thomas Tschernig, Jens M. Hohlfeld, and Helmut Fabel (2001). Cytokine Profile of Bronchoalveolar Lavage-Derived CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, and  $\gamma\delta$  T Cells in People with Asthma after Segmental Allergen Challenge. *ATS*, 25 (01, 2001).
110. Message S. D., Laza-Stanca V., Mallia P., et al (2008). Rhinovirus-induced lower respiratory illness is increased in asthma and related to virus load and Th1/2 cytokine and IL-10 production. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 105 (36), 13562-13567.

111. Yamaya M. và Sasaki H. (2003). Rhinovirus and asthma. *Viral Immunol*, 16 (2), 99-109.
112. Al-Daghri N. M., Alokail M. S., Draz H. M., et al (2014). Th1/Th2 cytokine pattern in Arab children with severe asthma. *Int J Clin Exp Med*, 7 (8), 2286-2291.
113. Cohn L., Tepper J. S., Bottomly K. (1998). IL-4-independent induction of airway hyperresponsiveness by Th2, but not Th1, cells. *J Immunol*, 161 (8), 3813-3816.
114. Gavett S. H., O'Hearn D. J., Karp C. L., et al (1997). Interleukin-4 receptor blockade prevents airway responses induced by antigen challenge in mice. *Am J Physiol*, 272 (2 Pt 1), L253-261.
115. Krug N., Madden J., Redington A. E., et al (1996). T-cell cytokine profile evaluated at the single cell level in BAL and blood in allergic asthma. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 14 (4), 319-326.
116. Bentley A. M., Hamid Q., Robinson D. S., et al (1996). Prednisolone treatment in asthma. Reduction in the numbers of eosinophils, T cells, tryptase-only positive mast cells, and modulation of IL-4, IL-5, and interferon-gamma cytokine gene expression within the bronchial mucosa. *Am J Respir Crit Care Med*, 153 (2), 551-556.
117. Sewell W. A., Scurr L. L., Orphanides H., et al (1998). Induction of interleukin-4 and interleukin-5 expression in mast cells is inhibited by glucocorticoids. *Clin Diagn Lab Immunol*, 5 (1), 18-23.
118. Robinson D., Hamid Q., Ying S., et al (1993). Prednisolone treatment in asthma is associated with modulation of bronchoalveolar lavage cell interleukin-4, interleukin-5, and interferon-gamma cytokine gene expression. *Am Rev Respir Dis*, 148 (2), 401-406.

119. Muratov V., Barck C., Bylin G., et al (2005). Allergen challenge alters intracellular cytokine expression. *Scand J Immunol*, 62 (2), 161-167.
120. Al-Daghri N. M., Abd-Alrahman S., Draz H., et al (2014). Increased IL-4 mRNA expression and poly-aromatic hydrocarbon concentrations from children with asthma. *BMC Pediatr*, 14, 17.
121. Wong C. K., Ho C. Y., Ko F. W., et al (2001). Proinflammatory cytokines (IL-17, IL-6, IL-18 and IL-12) and Th cytokines (IFN-gamma, IL-4, IL-10 and IL-13) in patients with allergic asthma. *Clin Exp Immunol*, 125 (2), 177-183.
122. Lama M., Chatterjee M., Nayak C. R., et al (2011). Increased interleukin-4 and decreased interferon-gamma levels in serum of children with asthma. *Cytokine*, 55 (3), 335-338.
123. Greenfeder S., Umland S. P., Cuss F. M., et al (2001). Th2 cytokines and asthma. The role of interleukin-5 in allergic eosinophilic disease. *Respir Res*, 2 (2), 71-79.
124. Bottcher M. F., Bjurstrom J., Mai X. M., et al (2003). Allergen-induced cytokine secretion in atopic and non-atopic asthmatic children. *Pediatr Allergy Immunol*, 14 (5), 345-350.
125. Walker C B. E., Boder L, Hansel TT, Blase K, Virchow JC. (1992). Allergic and non allergic asthmatics have distinct patterns of T cell activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage. *Am Rev Resir Dis*, 146, 109-115.
126. Matsumoto K., Taki F., Miura M., et al (1994). Serum levels of soluble IL-2R, IL-4, and soluble Fc epsilon RII in adult bronchial asthma. *Chest*, 105 (3), 681-686.

127. Hashimoto S., Amemiya E., Tomita Y., et al (1993). Elevation of soluble IL-2 receptor and IL-4, and nonelevation of IFN-gamma in sera from patients with allergic asthma. *Ann Allergy*, 71 (5), 455-458.
128. Commins S. P., Borish L., Steinke J. W. (2010). Immunologic messenger molecules: cytokines, interferons, and chemokines. *J Allergy clin immunol*, 125 (2 Suppl 2), S53-72.
129. Peter Bradding D., Andrew F. Walls, PhD, Stephen T. Holgate, MD, DScb (2006). Mechanisms of asthma and allergic inflammation The role of the mast cell in the pathophysiology of asthma. *Allergy clin immunol*, 117, 1277 - 1284.
130. Berry M. A., Parker D., Neale N., et al (2004). Sputum and bronchial submucosal IL-13 expression in asthma and eosinophilic bronchitis. *J Allergy Clin Immunol*, 114 (5), 1106-1109.
131. M. Wills-Karp (2004). Interleukin-13 in asthma pathogenesis. *Immunol Rev*, 202, 175-190.
132. Naseer T., Minshall E. M., Leung D. Y., et al (1997). Expression of IL-12 and IL-13 mRNA in asthma and their modulation in response to steroid therapy. *Am J Respir Crit Care Med*, 155 (3), 845-851.
133. Humbert M., Durham S. R., Kimmitt P., et al (1997). Elevated expression of messenger ribonucleic acid encoding IL-13 in the bronchial mucosa of atopic and nonatopic subjects with asthma. *J Allergy Clin Immunol*, 99 (5), 657-665.
134. Huang S. K., Xiao H. Q., Kleine-Tebbe J., et al (1995). IL-13 expression at the sites of allergen challenge in patients with asthma. *J Immunol*, 155 (5), 2688-2694.

135. Oh J. W., Lee H. B., Kim C. R., et al (1999). Analysis of induced sputum to examine the effects of inhaled corticosteroid on airway inflammation in children with asthma. *Ann Allergy Asthma Immunol*, 82 (5), 491-496.
136. Aberle J. H., Aberle S. W., Dworzak M. N., et al (1999). Reduced interferon-gamma expression in peripheral blood mononuclear cells of infants with severe respiratory syncytial virus disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 160 (4), 1263-1268.
137. Corrigan C. J., Kay A. B. (1990). CD4 T-lymphocyte activation in acute severe asthma. Relationship to disease severity and atopic status. *Am Rev Respir Dis*, 141 (4 Pt 1), 970-977.
138. Hacken N. H., Oosterhoff Y., Kauffman H. F., et al (1998). Elevated serum interferon-gamma in atopic asthma correlates with increased airways responsiveness and circadian peak expiratory flow variation. *Eur Respir J*, 11 (2), 312-316.
139. Brown V., Warke T. J., Shields M. D., et al (2003). T cell cytokine profiles in childhood asthma. *thorax*, 58 (4), 311-316.
140. Leech S. C., Price J. F., Holmes B. J., et al (2000). Nonatopic wheezy children have reduced interferon-gamma. *Allergy*, 55 (1), 74-78.
141. Tang M. L., Coleman J., Kemp A. S. (1995). Interleukin-4 and interferon-gamma production in atopic and non-atopic children with asthma. *Clin Exp Allergy*, 25 (6), 515-521.
142. Despotovic M., Stoimenov T. J., Stankovic I., et al (2015). Gene polymorphisms of tumor necrosis factor alpha and antioxidant enzymes in bronchial asthma. *Adv Clin Exp Med*, 24 (2), 251-256.
143. Wasserman S., Dolovich J., Conway M., et al (2000). TNF-alpha dysregulation in asthma: relationship to ongoing corticosteroid therapy. *Can Respir J*, 7 (3), 229-237.



144. Ivane Chkhaidze D. Z., Natalia Shavshvishvili, Neli Barnabishvili (2016). Prognostic value of Th1/Th2 cytokines in infants with wheezing in a three year follow-up study. *pneumonol Alergol pol*, 84, 145-150.
145. Abbas A. K., Murphy K. M., Sher A. (1996). Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*, 383 (6603), 787-793.
146. de Blic J., Tillie-Leblond I., Tonnel A. B., et al (2004). Difficult asthma in children: an analysis of airway inflammation. *J Allergy Clin Immunol*, 113 (1), 94-100.
147. Castro M., Chaplin D. D., Walter M. J., et al (2000). Could asthma be worsened by stimulating the T-helper type 1 immune response? *Am J Respir Cell Mol Biol*, 22 (2), 143-146.
148. Rand T. H., Silberstein D. S., Kornfeld H., et al (1991). Human eosinophils express functional interleukin 2 receptors. *J Clin Invest*, 88 (3), 825-832.
149. Yang J. P., Renzi P. M. (1993). Interleukin-2 and lymphocyte-induced eosinophil proliferation and survival in asthmatic patients. *J Allergy Clin Immunol*, 91 (3), 792-801.
150. Lampinen M., Hakansson L., Venge P. (2001). Interleukin-2 inhibits eosinophil migration but is counteracted by IL-5 priming. *Clin Exp Allergy*, 31 (2), 249-258.
151. Pumputiene I., Emuzyte R., Dubakiene R., et al (2006). T cell and eosinophil activation in mild and moderate atopic and nonatopic children's asthma in remission. *Allergy*, 61 (1), 43-48.
152. Walker C., Bode E., Boer L., et al (1992). Allergic and nonallergic asthmatics have distinct patterns of T-cell activation and cytokine production in peripheral blood and bronchoalveolar lavage. *Am Rev Respir Dis*, 146 (1), 109-115.

153. Chen T., Liang W., Gao L., et al (2011). Association of single nucleotide polymorphisms in interleukin 12 (IL-12A and -B) with asthma in a Chinese population. *Hum Immunol*, 72 (7), 603-606.
154. Trinchieri G., Pflanz S., Kastelein R. A. (2003). The IL-12 family of heterodimeric cytokines: new players in the regulation of T cell responses. *Immunity*, 19 (5), 641-644.
155. Zhang Y. L., Luan B., Wang X. F., et al (2013). Peripheral blood MDSCs, IL-10 and IL-12 in children with asthma and their importance in asthma development. *PLoS One*, 8 (5), e63775.
156. Heaton T., Rowe J., Turner S., et al (2005). An immunoepidemiological approach to asthma: identification of in-vitro T-cell response patterns associated with different wheezing phenotypes in children. *Lancet*, 365 (9454), 142-149.
157. Grunstein M. M., Hakonarson H., Leiter J., et al (2001). Autocrine signaling by IL-10 mediates altered responsiveness of atopic sensitized airway smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 281 (5), L1130-1137.
158. Chung F. (2001). Anti-inflammatory cytokines in asthma and allergy: interleukin-10, interleukin-12, interferon-gamma. *Mediators Inflamm*, 10 (2), 51-59.
159. Umetsu D. T., DeKruyff R. H. (1999). Interleukin-10: The missing link in asthma regulation? *Am J Respir Cell Mol Biol*, 21 (5), 562-563.
160. Colavita A. M., Hastie A. T., Musani A. I., et al (2000). Kinetics of IL-10 production after segmental antigen challenge of atopic asthmatic subjects. *J Allergy Clin Immunol*, 106 (5), 880-886.
161. John M L. S., Seybold J, et al (1998). Inhaled corticosteroids increase interleukine-10 but reduced macrophage inflammatory protein-1a, granulocyte-macrophage colonu-stimulating factor, and interferon-gama release from alveolar macrophages in asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 157, 256-263.

162. Wang M. F. (2009). Sleep quality and immune mediators in asthmatic children. *Pediatr Neonatol*, 50 (5), 222-229.
163. Wei B., Zhang H., Li L., et al (2011). T helper 17 cells and regulatory T-cell imbalance in paediatric patients with asthma. *J Int Med Res*, 39 (4), 1293-1305.
164. Matsumoto K., Gauvreau G. M., Rerecich T., et al (2002). IL-10 production in circulating T cells differs between allergen-induced isolated early and dual asthmatic responders. *J Allergy Clin Immunol*, 109 (2), 281-286.
165. Sunaga N., Kaira K., Tomizawa Y., et al (2014). Clinicopathological and prognostic significance of interleukin-8 expression and its relationship to KRAS mutation in lung adenocarcinoma. *Br J Cancer*, 110 (8), 2047-2053.
166. Townley R. G. (2008). The Role of Cytokines in the Inflammatory Process of Asthma and Response to Therapy.
167. Heijink I., van Oosterhout A., Kliphuis N., et al (2014). Oxidant-induced corticosteroid unresponsiveness in human bronchial epithelial cells. *thorax*, 69 (1), 5-13.
168. Nakamoto K., Watanabe M., Sada M., et al (2016). Serum Reactive Oxygen Metabolite Levels Predict Severe Exacerbations of Asthma. *PLoS One*, 11 (10), e0164948.
169. Martinez F. O., Helming L., Gordon S. (2009). Alternative activation of macrophages: an immunologic functional perspective. *Annu Rev Immunol*, 27, 451-483.
170. Fraenkel D. J., Bardin P. G., Sanderson G., et al (1995). Lower airways inflammation during rhinovirus colds in normal and in asthmatic subjects. *Am J Respir Crit Care Med*, 151 (3 Pt 1), 879-886.

171. Hershenson M. B. (2013). Rhinovirus-Induced Exacerbations of Asthma and COPD. *Scientifica (Cairo)*, 2013, 405876.
172. Colin G. A. R. (2015). Infantile respiratory syncytial virus and human rhinovirus infections: respective role in inception and persistence of wheezing. *Eur Respir*, 45, 774 - 789.
173. Hoekstra M. O., Hoekstra Y., De Reus D., et al (1997). Interleukin-4, interferon-gamma and interleukin-5 in peripheral blood of children with moderate atopic asthma. *Clin Exp Allergy*, 27 (11), 1254-1260.
174. van der Velden V. H., Laan M. P., Baert M. R., et al (2001). Selective development of a strong Th2 cytokine profile in high-risk children who develop atopy: risk factors and regulatory role of IFN-gamma, IL-4 and IL-10. *Clin Exp Allergy*, 31 (7), 997-1006.
175. Randolph D. A., Stephens R., Carruthers C. J., et al (1999). Cooperation between Th1 and Th2 cells in a murine model of eosinophilic airway inflammation. *J Clin Invest*, 104 (8), 1021-1029.
176. Papadopoulos NG S. L., Papi A, Holgate ST, Johnston SL (2002). A defective type 1 response to rhinovirus in atopic asthma. *thorax*, 57, 328-332.
177. Meyer N., Nuss S. J., Rothe T., et al (2014). Differential serum protein markers and the clinical severity of asthma. *J Asthma Allergy*, 7, 67-75.
178. Mirjana Bogi N. S., ikica Jovi, Vesna Tomi Spiri, et al (2004). Clinical Significance Of Measurement Of Interleukin 4 And Interleukin 5 Serum Concentrations In Bronchial Asthma *Jugoslov Med Biohem*, 23, 51–54.
179. Machura E., Mazur B., Rusek-Zychma M., et al (2010). Cytokine production by peripheral blood CD4+ and CD8+ T cells in atopic childhood asthma. *Clin Dev Immunol*, 2010, 606139.

180. Sun L., Cornell T. T., LeVine A., et al (2013). Dual role of interleukin-10 in the regulation of respiratory syncytial virus (RSV)-induced lung inflammation. *Clin Exp Immunol*, 172 (2), 263-279.
181. Sahid El-Radhi A., Hogg C. L., Bungre J. K., et al (2000). Effect of oral glucocorticoid treatment on serum inflammatory markers in acute asthma. *Arch Dis Child*, 83 (2), 158-162.
182. Shao L., Cong Z., Li X., et al (2015). Changes in levels of IL-9, IL-17, IFN-gamma, dendritic cell numbers and TLR expression in peripheral blood in asthmatic children with *Mycoplasma pneumoniae* infection. *Int J Clin Exp Pathol*, 8 (5), 5263-5272.
183. Van den Toorn O., de Jongste, et al (2001). Airway Inflammation Is Present during Clinical Remission of Atopic Asthma. *Am J Respir Crit Care Med*, 164, pp 2107–2113.
184. Minako Tomiita E. C.-A., Masayuki Shima, et al (2015). Interleukin-10 and interleukin-5 balance in patients with active asthma, those in remission, and healthy controls. *Asia Pacific Allergy*, 5, 210-215.
185. Calderon C., Rivera L., Hutchinson P., et al (2009). T-cell cytokine profiles are altered in childhood asthma exacerbation. *Respirology*, 14 (2), 264-269.

## PHỤ LỤC

Mã số nghiên cứu:.....

Mã số bệnh án:.....

### BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

#### I. HÀNH CHÍNH

Họ và tên: Giới: Nam  Nữ Ngày tháng năm sinh:

Địa chỉ: ..... Điện thoại liên lạc: .....

Ngày vào viện:.....

Ghi chú:.....

#### II. TIỀN SỬ

##### A. Bản thân

##### 1. Sản khoa

Con thứ: \_\_\_\_ Cân nặng lúc sinh: (g)

Sinh: Đủ tháng  Non tháng  (tuần)

Cách sinh: Đẻ thường  Đẻ phẫu thuật

Đẻ chỉ huy  Forceps  Giác hút

##### 2. Dinh dưỡng:

Sữa

Sữa mẹ hoàn toàn

Sữa ngoài

Hỗn hợp

### 3. Bệnh lý

#### a. Khò khè - ho

Ho <input type="checkbox"/> < 2 lần / tuần Ho <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần đỡ nhanh sau xịt thuốc giãn phế quản Ho <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần đỡ chậm sau xịt thuốc giãn phế quản	Khò khè <input type="checkbox"/> < 2lần/tuần Khò khè <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần đỡ nhanh sau xịt thuốc giãn phế quản Khò khè <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần đỡ chậm sau xịt thuốc giãn phế quản
Khó thở <input type="checkbox"/> < 2 lần/tuần Khó thở <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần, đỡ nhanh sau xịt thuốc giãn phế quản Khó thở <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần, đỡ chậm sau xịt thuốc giãn phế quản	Không <input type="checkbox"/> có triệu chứng ban đêm Có triệu chứng ban đêm <input type="checkbox"/>
Cần <input type="checkbox"/> dùng Ventolin $\leq$ 2 lần/tuần Cần dùng Ventolin <input type="checkbox"/> > 2 lần/tuần	Không hạn <input type="checkbox"/> chế vận động (chạy, đi bộ, chơi mạnh) Có hạn chế vận động (chạy, <input type="checkbox"/> đi bộ, chơi mạnh)

#### b. Dị ứng: Chàm Viêm mũi dị ứng - viêm kết mạc

Dị ứng thuốc  Dị ứng thức ăn

Dị ứng khác: \_\_\_\_\_

#### c. Xét nghiệm dị ứng

D.Pter  Phấn  hoa

D.Far  Nấm

Blomia  Tropicalis Chó

Gián  Mèo

#### d. Tiền sử hen

Chẩn đoán hen lúc: \_\_\_\_\_ tuổi

Trong năm qua: ICU: \_\_ lần Nhập viện: \_\_\_\_ lần Cấp cứu: \_\_\_\_\_ lần

**\* Yếu tố khởi phát hen**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Thay đổi thời tiết    | <input type="checkbox"/> Hay hen mùa XUÂN |
| <input type="checkbox"/> Cúm, viêm hô hấp trên | <input type="checkbox"/> Hay hen mùa HÈ   |
| <input type="checkbox"/> Khói thuốc lá         | <input type="checkbox"/> Hay hen mùa THU  |
| <input type="checkbox"/> Gắng sức              | <input type="checkbox"/> Hay hen mùa ĐÔNG |
| <input type="checkbox"/> Thức ăn               |   |
| <input type="checkbox"/> Vật nuôi có lông      |   |

Khác: \_\_\_\_\_

**\* Tuân thủ điều trị**

- |  |   |  |
|--|---|--|
| <input type="checkbox"/> Không dự phòng            | <input type="checkbox"/> Dùng thuốc hàng ngày |  |
| <input type="checkbox"/> Không liên tục            | <input type="checkbox"/> Tự ý giảm liều       | <input type="checkbox"/> Tự ý ngưng điều trị |
| <input type="checkbox"/> Sáng nay không dùng thuốc |   |  |
| <input type="checkbox"/> Hôm qua không dùng thuốc  |   |  |

Tác dụng phụ:  Nám miệng  Khàn tiếng  Run tay

**\* Cách sử dụng thuốc xịt**

- |  |   |
|--|---|
| <input type="checkbox"/> Không buông đệm     | <input type="checkbox"/> Babyhaler không mask |
| <input type="checkbox"/> Babyhaler có mask   | <input type="checkbox"/> Xịt đúng cách        |
| <input type="checkbox"/> Xịt không đúng cách |   |

**e. Bệnh lí khác**

- |   |  |
|---|--|
| <input type="checkbox"/> Bệnh tim bẩm sinh  | <input type="checkbox"/> Trào ngược dạ dày thực quản |
| <input type="checkbox"/> Mềm sụn thanh quản | <input type="checkbox"/> Loạn sản phế quản phổi      |
| <input type="checkbox"/> Lao                | <input type="checkbox"/> Khác                        |

**B. Gia đình**

**1. Hút thuốc**

- Cha  Mẹ hút thuốc trước khi mang thai
- Mẹ hút  Thuốc sau sinh Hút thuốc thụ động





## IV. KHÁM

### A. Dấu hiệu sinh tồn

Cân nặng:.....kg Chiều cao.....cm BMI:

Nhịp thở:.....l/phút Rút lõm lồng ngực: .....

Tím tái..... SpO2 .....%

Mạch ..... l/p Nhiệt độ.....<sup>0</sup>C Huyết áp:

### B. Ngực

#### *Ngực*

Biên dạng  lồng ngực Lồng  ngực bình thường

Rút lõm lồng ngực

#### *Phổi*

Bình thường  Ran rít  Ran ngáy

Ran ẩm  Ran nổ  Rì rào phế nang giảm

#### *Tai mũi họng*

Họng đỏ  Amidal sưng to  Chảy mũi thành sau họng

Viêm tai giữa  Ngứa mũi

### C. Cơ quan khác \_\_\_\_\_

## V. CẬN LÂM SÀNG

### A. Công thức máu

Bạch cầu /mm<sup>3</sup> Đa nhân \_\_\_\_\_ % Ura acid \_\_\_\_\_ %

Số lượng BC ura acid tuyệt đối \_\_\_\_\_/mm<sup>3</sup>

### B. Xquang phổi

Bình thường  Tăng đậm nhánh phổi

Tràn khí màng phổi  Tràn dịch màng phổi



**C. Cytokines :** IL-2, TNF- $\alpha$ , IFN-  $\gamma$ , IL-4, IL-5, IL- 13, GM-CSF, IL-10, IL-6, IL-8.

**D. Virus**

## **VI. CHẨN ĐOÁN**

**Hen**

*Mức độ nặng*

PAS  PAS  $\leq$  6đ  PAS 7 or 8đ  PAS 9 or 10đ  PAS  $\geq$  11đ

*Mức độ kiểm soát*

Không kiểm soát  Kiểm soát 1 phần  Kiểm soát hoàn toàn

**Bệnh kèm theo:**

VMDU

Viêm kết mạc dị ứng

Chàm

Trào ngược DD-TQ<sup>i</sup>

---

---