

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN ĐẶT VẤN ĐỀ

Hen phế quản (HPQ) 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.

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) 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.

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.

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 trước và sau cơn hen cấp.*

1. Tính cấp thiết của đề tài

Hen phế quản là bệnh mạn tính tỷ lệ mắc ngày càng tăng, bệnh nếu được điều trị đúng và đầy đủ có thể giảm tỷ lệ tử vong và nâng cao chất lượng cuộc sống cho người bệnh.

Cytokine đóng vai trò chủ chốt trong phản ứng viêm ở bệnh nhân hen đặc biệt cơn hen cấp. Bởi vậy nghiên cứu về cytokine trong hen phế quản góp phần đánh giá và tiên lượng mức độ nặng của cơn hen cũng như hỗ trợ trong điều trị cơn hen cấp là cần thiết.

2. Những đóng góp mới của luận án

- Thay đổi tế bào viêm trong cơn hen cấp: giảm các tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+, trong cơn hen cấp so với ngoài cơn hen cấp. Tăng bạch cầu đa nhân trung tính trong cơn hen cấp ở trẻ nhiễm Rhinovirus

- Thay đổi cytokine trong máu ngoại biên ở trẻ hen phế quản: các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 (IL-5, IL-13) tăng trong cơn hen cấp so

với ngoài con hen cấp và nhóm chúng. Các cytokine (IL-5, IL-13) tăng ở nhóm trẻ ngoài con hen cấp so với nhóm chúng → chúng tỏ đáp ứng viêm vẫn duy trì ngoài con hen cấp.

- Nhóm con hen cấp nhiễm Rhinovirus đáp ứng viêm mạnh hơn so với nhóm không nhiễm Rhinovirus

3. Bố cục luận án

Luận án 107 trang bao gồm 6 phần: Đặt vấn đề (2 trang), chương 1: Tổng quan (24 trang), chương 2: Đối tượng và phương pháp nghiên cứu (20 trang), chương 3: Kết quả nghiên cứu (30 trang), chương 4: Bàn luận (27 trang), kết luận (2 trang), kiến nghị (1 trang).

Trong luận án có 33 bảng, 14 biểu đồ, 10 hình và 2 sơ đồ, 1 phụ lục.

Luận án có 185 tài liệu tham khảo, trong đó có 8 tài liệu tiếng Việt, 177 tài liệu tiếng Anh.

Chương 1: TỔNG QUAN

1.1. Vai trò cytokine trong hen phế quản

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. 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.

Hen 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. 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.

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.

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- γ tăng trong khi đó IL-4 giảm ở nhóm hen nặng so với nhóm hen trung bình.

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.

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.

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

1.2. Nhiễm virus và hen phế quản

Vai trò của Rhinovirus trong tiến triển bệnh hen được đề cập ở nhiều nghiên cứu. Nhóm trẻ khỏe 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). 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.

Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Đối tượng nghiên cứu 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.
- 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 chứng: 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: theo GINA 2011

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.

2.3. 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.

2.4. Cỡ mẫu nghiên cứu

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

2.5. Quy trình 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 con hen cấp khi nhập viện.
- Trẻ HPQ được lấy dịch tỵ hầu để xác định có nhiễm Rhinovirus trong con 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 ở -80°C và chuyển đến phòng xét nghiệm của bộ môn Miễn dịch, Học Viện Quân Y để định lượng cytokine.

- 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

- Xét nghiệm cytokine trong huyết thanh: được làm tại phòng xét nghiệm của bộ môn Miễn dịch, Học Viện Quân Y.

- Định lượng các cytokine phụ thuộc tế bào Th1 (IL-2, TNF- α , IFN- γ), 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.

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.

Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

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

3.1. Đặc điểm chung trẻ con hen phế quản

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

HPQ gặp ở trẻ nam nhiều hơn trẻ nữ với tỷ lệ trẻ nam là 65,35% và trẻ nữ 34,65%. Tỷ số giữa nam/nữ là: 1,95/1.

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

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

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 con hen phế quản cấp

Bảng 3.1. Số lượng bạch cầu ở trẻ trong con hen phế quản cấp

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

Nhận xét: Trong các trẻ HPQ nhập viện, bệnh nhân có tăng số lượng bạch cầu trong con 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+ ở trẻ hen phế quản

Bảng 3.2. Số lượng tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+ ở trẻ hen phế quản

Tế bào TCD+	Bình thường		Giảm	
	n	%	n	%
TCD3+	30	60	20	40
TCD4+	27	54	23	46
TCD8+	41	82	9	18

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

3.2.3. Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD⁺ với độ nặng cơn hen

Bảng 3.3. Mối tương quan giữa số lượng tế bào TCD⁺ với độ nặng cơn hen cấp

Mức độ nặng \ TCD ⁺	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 có cơn hen cấp nặng có tỷ lệ TCD⁺ giảm là 27,59%, trẻ có cơn hen cấp mức độ nhẹ hoặc trung bình có tỷ lệ TCD⁺ giảm là 4,76%. Nhóm trẻ cơn hen cấp nặng có tỷ lệ TCD⁺ giảm nhiều hơn trẻ 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 3.4. 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).

Số lượng bạch cầu và bạch cầu ưa acid tăng trong cơn hen cấp nặng nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê

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

Bảng 3.5. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu với tình trạng nhiễm Rhinovirus

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

Nhận xét: 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 3.6. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu đa nhân trung tính với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong con hen cấp

Rhinovirus BC trung tính	Có (n=63)	Không (n=52)	p
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 Rhinovirus (RV) là 66,7% so với 40,4% ở nhóm HPQ không nhiễm RV, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ($p=0,02$).

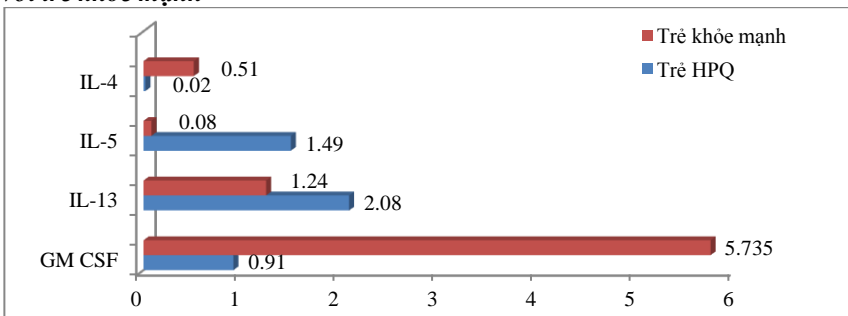
Bảng 3.7. Mối tương quan giữa số lượng bạch cầu ưa acid với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong con hen cấp

Rhinovirus BC ưa acid	Có (n=63)	Không (n=52)	p
Bình thường	41 (65,1%)	39 (75%)	0,03
Tăng	22 (34,9%)	13 (25%)	

Nhận xét: Bệnh nhân HPQ có 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 có con hen phế quản cấp

3.3.1. Biến đổi cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ có con hen phế quản cấp so với trẻ khỏe mạnh



Biểu đồ 3.1. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản

Nhận xét: Nồng độ các cytokine thuộc tế bào 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 con hen cấp, nồng độ IL-4 và GMCSF giảm so với trẻ khỏe mạnh, ngược lại nồng độ IL-5 trong con hen cấp cao hơn trẻ khỏe mạnh.

Bảng 3.8. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản

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

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

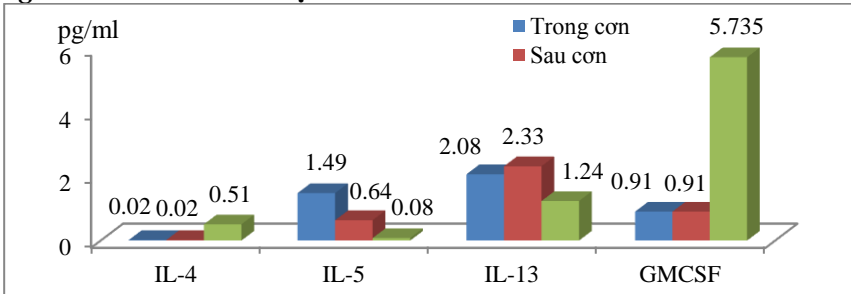
Bảng 3.9. Nồng độ các cytokine khác trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản

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 con hen cấp giảm có ý nghĩa so với trẻ khỏe mạnh ($p=0,003$).

Nồng độ các cytokine khác như IL-2, IL-12, IFN- γ không có sự khác biệt giữa nhóm trong con hen cấp so với nhóm ngoài con hen cấp và trẻ khỏe mạnh.

3.3.2. So sánh nồng độ các cytokine ở trẻ hen phế quản trong con, ngoài con và trẻ khỏe mạnh



Biểu đồ 3.2. Nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th2 trong con hen, ngoài con hen và trẻ khỏe mạnh

Nhận xét: Nồng độ IL-5 ở nhóm trong con hen cao hơn nhóm trẻ ngoài con 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 con hen và ngoài con 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 con hen cấp thấp hơn trẻ ngoài con hen cấp và nhóm trẻ khỏe, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,001$.

Bảng 3.10. So sánh nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 trong con hen, ngoài con hen và trẻ khỏe mạnh

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

Nhận xét: Nồng độ TNF- α ở trẻ trong con hen cấp thấp hơn so với trẻ ngoài con hen cấp và 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- γ không có sự khác biệt giữa nhóm trong con hen cấp so với nhóm ngoài con hen cấp và trẻ khỏe mạnh.

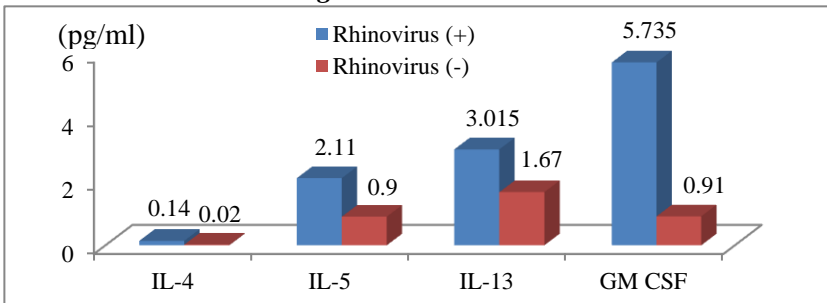
Bảng 3.11. Nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 ở trẻ trong con, ngoài con hen và trẻ khoẻ mạnh

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

Nhận xét: Nồng độ IL- 6 ở trẻ hen phổ biến thấp hơn trẻ khoẻ 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 con hen cấp, ngoài con hen cấp và trẻ khoẻ mạnh.

3.3.4. Nồng độ các cytokine ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus và không nhiễm Rhinovirus

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



Biểu đồ 3.3. 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.

Bảng 3.12. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th1 với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong con hen cấp

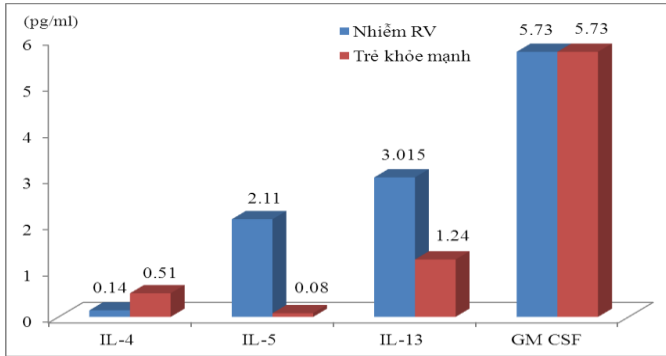
Rhinovirus Cytokine(pg/ml)	Rhinovirus (+)	Rhinovirus (-)	p
IL-2 (n) Trung vị (min, max)	63 0,25 (0,105 -44,02)	51 0,16 (0,05 - 38,78)	0,039
IL-12(n) Trung vị (min, max)	26 0,81 (0,01 - 11,98)	29 0,01 (0,01 - 5,59)	0,029
IFN- γ (n) Trung vị (min, max)	63 0,43 (0,21 - 230,19)	51 12,41 (2,43 - 642,5)	0,66
TNF- α (n) Trung vị (min, max)	63 0,43 (0,21 - 230,19)	51 0,63 (0,27- 149,91)	0,3

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- γ , TNF- α với tình trạng nhiễm Rhinovirus trong con hen cấp.

Bảng 3.13. Nồng độ các cytokine IL-10, IL-6, IL-8 trong nhóm nhiễm Rhinovirus và nhóm không nhiễm Rhinovirus

Cytokine(pg/ml)	Rhinovirus (+)	Rhinovirus (-)	p
IL-10(n) Trung vị (min, max)	63 2,35 (0,35 - 48,61)	51 2,75 (0,005- 399,78)	0,82
IL-6(n) Trung vị (min, max)	37 1,03 (0,03- 7,24)	22 0,06 (0,03-40,9)	0,3
IL-8 (n) Trung vị (min, max)	37 5,97 (2,08-88,37)	22 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 con hen cấp.

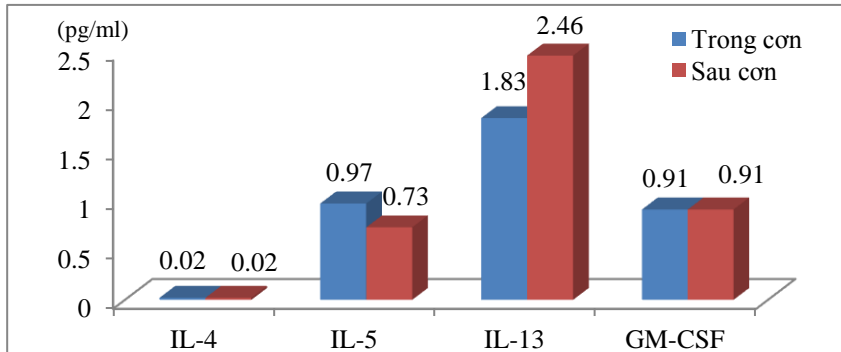


Biểu đồ 3.3. Nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào Th2 ở trẻ HPQ có nhiễm Rhinovirus

Nhận xét: Nồng độ IL-5 trong nhóm nhiễm RV cao hơn so với trẻ khỏe mạnh ($p < 0,05$), ngược lại nồng độ IL-4 trong nhóm hen nhiễm RV thấp hơn so với trẻ khỏe mạnh. 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.

3.3.5. So sánh các cytokine với mức độ nặng của cơn hen cấp: không có sự khác biệt có ý nghĩa về nồng độ các cytokine với độ nặng cơn hen cấp

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



Biểu đồ 3.4. 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 trước và sau cơn hen. Khi bệnh nhân hồi phục sau cơn hen cấp, nồng độ IL-4 tăng lên. Các interleukine khác thuộc Th2 không có sự khác biệt trước và sau cơn hen cấp.

Bảng 3.14. Biến đổi nồng độ các cytokine thuộc nhóm tế bào Th1 trong và sau cơn hen

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

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 $p=0,0001$.

Nồng độ các cytokine IL-6, IL-8, IL-10 không có sự khác biệt trước và sau cơn hen cấp.

Chương 4: BÀN LUẬN

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

4.1.1. Biến đổi bạch cầu 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. 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. 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. 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.

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 con 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%.

Theo nghiên cứu của Yoshihara và cộng sự, trong con 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 con hen cấp ở trẻ em. Trong nghiên cứu của chúng tôi, bệnh nhân trong con hen cấp tăng bạch cầu trung tính ở máu ngoại vi, đặc biệt con hen cấp nặng (bạch cầu trung tính tăng 57,83% ở trẻ con hen cấp nặng so với 36,14% ở trẻ con hen cấp mức độ trung bình và 6,03% ở trẻ có con hen cấp nhẹ với $p=0,03$). Tăng huy động bạch cầu đa nhân trung tính liên quan đến khô khè nặng tái diễn ở trẻ dưới ba tuổi, dựa vào xét nghiệm tế bào viêm và các chất trung gian gây viêm. Ở bệnh nhân ngoài con 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.

4.1.2. Giá trị tế bào TCD3+, TCD4+, TCD8+

Trong nghiên cứu của chúng tôi tế bào lympho TCD3+ TCD4+ TCD8+ giảm trong con hen cấp, kết quả nghiên cứu của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu Marcircin Moniuszko. Giảm các tế bào lympho TCD3+ TCD4+ TCD8+ trong con hen cấp, đặc biệt con hen cấp nặng chúng tôi giảm khả năng điều hòa miễn dịch của trẻ bị con 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 con và trong con hen cấp ở bệnh nhân có con hen cấp nhẹ. Khi so sánh với mức độ nặng của con hen cấp trong nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tế bào lympho TCD8+ giảm có ý nghĩa trong con hen cấp nặng so với con hen nhẹ và trung bình.

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

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. Rhinovirus kích ứng viêm mạnh, tăng tích tụ tế bào viêm trên bệnh nhân có cơ địa quá mẫn hoặc bị hen phế quản so với người bình

thường. Điều này phần nào giải thích tình trạng tăng bạch cầu đa nhân trung tính ở bệnh nhân hen phế quản. 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 ngoài 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. 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.

4.1.4. 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.

Theo Holgate, phần lớn các cơn hen cấp được khởi phát bởi virus đường hô hấp, mà Rhinovirus dường như thường gặp nhất. 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%. 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. 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. Biến đổi cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ trong cơn hen cấp

4.2.1. 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.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-4 trong con 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 con hen bằng kích thích dị nguyên cho thấy giảm nồng độ IL-4.

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 con hen nặng thường cao hơn nhóm có con hen mức độ vừa [18]. Nghiên cứu ở trẻ Arab cho thấy nồng độ IL-4 tăng đáng kể ở nhóm trẻ hen so với nhóm chứng. 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 ($52,25\pm 21,91$ so với $32,81\pm 16,28$ 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, $p=0,054$). Ở nghiên cứu của chúng tôi, hầu hết bệnh nhân đã được xử trí con hen cấp tại khoa cấp cứu, đã được dùng Cortioid đường toàn thân hoặc tại chỗ nên có thể ảnh hưởng đến kết quả nồng độ IL-4.

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. 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 con 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-13 được cho là trung tâm gây viêm cũng như là đích điều trị. IL-13 gây co cơ trơn và tăng tiết đờm [20]. 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[21]. Berry và cộng sự nghiên cứu thấy nồng độ IL-13 tăng ở bệnh nhân hen so với nhóm chứng. 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.

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. IL-13 có nhiều điểm tương đồng với IL-4 và là cytokine quan trọng trong đường thở của bệnh nhân hen.

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. 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.

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

4.2.2. Sự biến đổi các cytokine liên quan đến tế bào Th1

IFN- γ 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- α . IFN- γ là cytokine được bài tiết bởi tế bào Th1 và thường giảm trong HPQ. Giảm IFN- γ làm giảm khả năng ức chế tổng hợp IgE và các phản ứng viêm dị ứng.

Nghiên cứu của Wong cho thấy nồng độ IFN- γ cao hơn có ý nghĩa ở nhóm chứng so với nhóm hen dị ứng {23,46%(14,59 - 27,47 pg/ml) so với 5,72% (3,48 - 12,57pg/ml), $p < 0,001$ } [28]. Nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương tự, với nồng độ IFN- γ trong con hen cấp thấp hơn một cách có ý nghĩa so với nhóm trẻ khỏe mạnh {0,43 pg/ml(0,21-249,91) và 1,46 pg/ml (0,32; 44,46) $p=0,005$ }.

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

IL-12 là một cytokine cần thiết cho biệt hoá Th1 từ Th0 và ức chế biệt hoá tế bào Th2 [34]. IL-12 ức chế đợt bùng phát và tiến triển bệnh dị ứng. IL-12 làm tế bào T giải phóng IFN- γ . IL-12 được giải phóng từ toàn bộ tế bào máu, với nồng độ thấp ở những bệnh nhân hen [35-37]. 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) [38]. 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.

4.2.3. Sự biến đổi các cytokine khác

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. 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.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-10 trong cơn hen cấp cao hơn ngoài 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. 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. 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.

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.

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.

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.

IL-6 có hiệu quả kháng viêm, nó ức chế giải phóng IL-1 và TNF- α từ đại thực bào. 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.

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 [47]. Theo Nakamoto, nồng độ IL-8 và IL-6 trong con hen cấp cao hơn so với ngoài con hen cấp nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [48]. 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.

Ngược lại, nghiên cứu của Nasser và cộng sự cho thấy giảm nồng độ các cytokine như GMCSF, IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-8 ở trẻ hen so với nhóm chứng. Tuy nhiên, không có sự khác biệt về nồng độ TNF- α , IL-2, IL-10, IL-13 giữa nhóm hen và nhóm chứng. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ IL-6 trong con hen cấp thấp hơn có ý nghĩa so với ngoài con hen, và nồng độ IL-8 không có sự khác biệt giữa trong và ngoài con 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- γ 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- γ đã được ghi nhận.

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- γ 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.

4.2.4. Sự biến đổi các cytokine ở trẻ hen phế quản nhiễm Rhinovirus

Cơ chế Rhinovirus gây khởi phát con hen cấp còn chưa rõ ràng. Rhinovirus có thể gây khởi phát con hen cấp thông qua nhiều cơ chế khác nhau, như xâm nhập đường hô hấp dưới, kích ứng đáp ứng viêm

đổi với virus, giảm chức năng hô hấp, tăng phản ứng phế quản và tăng ICAM-1 trên bề mặt của biểu mô phế quản.

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. 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[49]. 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 mẫn cảm đường thở, nhưng không gây đáp ứng viêm theo hướng Th1.

Đáp ứng viêm trong máu ngoại vi sau nhiễm virus có sự khác biệt giữa người bình thường và người mắc hen. 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⁺, IFN- γ và IL-10. Đồng thời có mối liên quan tuyến tính ngược giữa tế bào lympho T CD4⁺, IFN- γ và giảm cung lượng đỉnh, cũng như mối tương quan tuyến tính thuận giữa tế bào lympho TCD⁺, IL-4, IL-5 và các triệu chứng của đường hô hấp dưới. 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.

Giảm nồng độ IFN- γ 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⁺, TCD8⁺ và tế bào lympho B trong máu so với người bình thường [9]. 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- γ và có liên quan chặt chẽ với test kích thích phế quản bằng methacholine ($r = 0,50$, $p = 0,03$). Tỷ số IFN- γ / 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.

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- α) bởi đại thực bào và bạch cầu mono. Các kết quả

ngiên 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. 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.

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. Nồng độ IL-10 thấp có thể có lợi trong điều trị hen.

4.2.5. 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.

Hoekstra chỉ ra sự khác biệt về nồng độ IL-4 dường như phụ thuộc vào mức độ nặng của cơn hen cấp. 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 cơn hen cấp mức độ nhẹ. 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. 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 Daghri chỉ ra rằng IL-5 giảm ở nhóm trẻ hen nặng so với nhóm chứng, nhưng IL-4 lại tăng đáng kể. 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 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- α là yếu tố tiên lượng con hen cấp nặng. Ở bệnh nhân con 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- α . TNF- α 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- α , IFN- γ không có sự khác biệt theo độ nặng con hen cấp. Đồng thời nồng độ các cytokine thuộc nhóm này cũng không liên quan đến độ nặng của con 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. 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 [9]. 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, 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 con hen cấp nặng có nồng độ IL-10 thấp hơn trẻ có con 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, $p=0,0001$). Hơn nữa, nồng độ IFN- γ thấp hơn có ý nghĩa ở nhóm hen đã sử dụng và chưa sử dụng corticoid so với nhóm chứng. Shao và cộng sự nghiên cứu cho thấy nồng độ IFN- γ ở nhóm hen nhiễm mycoplasma và nhóm không nhiễm mycoplasma đều giảm so với nhóm chứng $\{(19,20 \pm 4,47 \text{ pg/ml}) \text{ và } (22,9 \pm 3,85 \text{ pg/ml}) \text{ so với } (93,05 \pm 37,55 \text{ pg/ml})\}$. Những nghiên cứu trước đây chứng minh rằng corticosteroid ức chế tổng hợp cả IL-4 và IFN- γ nhưng ức chế IFN- γ 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 con 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.

4.3. So sánh giá trị cytokine trong máu ngoại vi trước 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 ngoài cơn hen cấp so với nhóm chứng.

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.

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- γ 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- γ liên quan đến khỏi cơn hen cấp, và tình trạng làm sạch virus sau giai đoạn cấp của hen phế quản.

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 trước và sau cơn hen cấp chứng tỏ tình trạng viêm được phát động trong cơn hen cấp và vẫn duy trì ngoài 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- α , 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 ngoài cơn hen cấp và nhóm chứng. Các cytokine (IL-5, IL-13) tăng ở nhóm trẻ ngoài cơn hen cấp so với nhóm chứng \rightarrow chứng tỏ đáp ứng viêm vẫn duy trì ngoài 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 trước 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

INTRODUCTION TO THESIS QUESTION

Bronchial asthma is a chronic inflammatory disease of the airways, a disease of all ages. Inflammation of the respiratory tract in bronchial asthma is regulated by a network of interactions between cytokines. Cytokine is the center of most stages in the immune response to allergens and maintains inflammation in the airways.

Response in the early stages, immediately after exposure to allergens stimulating the release of fast-acting cytokines (IL-3, IL-4, IL-9, IL-13). In the late stages, cytokines produced from Th2 cells and mast cells (IL-3, IL-5, GM-CSF) stimulate eosinophils and leukocytes to the heterozygous site original. The cytokines (IL-5, IL-9, IL-13, TNF) play an important role in increasing the inflammatory response and restructure of the airways, which characterizes the late stage of inflammatory response in asthma.

These cytokines are responsible for the pathogenesis of HPQ including inflammation of the airway, increased mucus, and increased respiratory response. In Vietnam up to now there have not been many studies on inflammatory cells and peripheral blood cytokines in HPQ patients. Therefore, we conducted the study "Study of some inflammatory cell changes and peripheral blood cytokines in bronchial asthma" with the following objectives:

- 1. Examination of peripheral inflammatory cell changes in peripheral blood in children with acute bronchial asthma.*
- 2. Investigate the change in some peripheral blood cytokines in children with acute bronchial asthma.*
- 3. Comparison of cytokine changes in peripheral blood before and after acute asthma.*

1. The urgency of the topic

Bronchial asthma is a chronic disease with an increasing incidence of disease, which, if properly and adequately treated, can reduce mortality and improve the quality of life for patients.

Cytokines play a key role in the inflammatory response in asthmatic patients with acute asthma. Therefore, the study of cytokine in asthma contributed to the assessment and prognosis of the severity of asthma as well as the support in the treatment of acute asthma.

2. New contributions of the thesis

The results obtained under the objectives set out are effective. Study on peripheral inflammatory inflammation in bronchial asthma patients Inflamed cell changes in addition to asthma attacks Peripheral blood cytokine change in children with asthma In Rhino infection the inflammatory response is stronger

3. The composition of the thesis

The 103-page dissertation consists of 6 parts: Problem (2 pages), Chapter 1: Overview (24 pages), Chapter 2: Object and Methodology (25 pages), Chapter 3: Research Results (30 pages), chapter 4: discussion (27 pages), conclusion (2 pages), recommendations (1 page). The thesis has 33 tables, 14 charts, 10 pictures and 1 diagram, 1 appendix. The dissertation has 184 references, including seven in Vietnamese, one in French, and 176 in English.

Chapter 1: OVERVIEW

1.1. Role of cytokines in bronchial asthma

Bronchial asthma is a chronic inflammatory disease of the airways, a rather complex disease and a cause not yet clear. One of the advancements over the past decade has been to detect cytokines that play a key role in symphony, maintaining and amplifying inflammatory responses in asthma. Cytokines such as IL-4, IL-5, IL-9 and IL-13 are often derived from Th2 cells, which are primarily involved in asthma and allergy.

Asthma is a heterogeneous disease with the role of Th1, Th2 cells and recently Th17 and T regulatory cells were identified. Other immune cells, especially neutrophils, macrophages, typhoid cells and structural cells such as epithelial cells, airway smooth muscle cells also play a role in chronic inflammation. The airways involved involve secreting different cytokines in the asthma.

According to a study by Broide et al., 1992: acute and chronic inflammatory changes in the airways of asthmatic patients caused by the release of many types of cytokines in experimental samples induced by allergenic or viral infections. Cytokines not only participate in the maintenance of inflammation but also play a role in the onset of this process.

According to a study by Joanne Shannon and colleagues in severe asthma, there was a significant difference in the expression of some cytokines and chemokines associated with eosinophils and neutrophils in the airways, in severe asthmatics more symptomatic than in the lower FEV1 group. And many neutrophils and acidophilus leucocytes in the phlegm. IL-8 and IFN- γ increased while IL-4 decreased in the severe asthma group compared to the median group of asthma.

The role of cytokines from Th2 and Th1 cells such as IL-4, IL-5, IL-13, IL-8, IL10, IL6 ... in bronchial asthma has been demonstrated in several studies. Recent research into the use of targeted cytokine therapy in asthma is being studied and applied to patients with bronchial asthma. In Vietnam, research into the use of cytokines in bronchial asthma is very rare

1.2. Viral infection and asthma

The role of rhinovirus in the development of asthma is discussed in several studies. Infants at infancy, children with rhinovirus infection were at a higher risk of developing asthma than those without rhinovirus (OR = 4.14, 95% CI: 1.02-16.77, $p = 0,047$). Rhinovirus infection can occur not only in the upper respiratory tract but also in the lower respiratory tract. Rhinovirus-infected lung and bronchial epithelial cells release large amounts of inflammatory mediators, which trigger or stimulate inflammation and obstructive airway obstruction. In an allergic environment, the Rhinovirus immune response tends to progress in the direction of Th2 cells, which accelerate the progression of asthma.

Chapter 2: OBJECTIVES AND RESEARCH METHODS

2.1. Research subjects

Study subjects included 125 children under 15 years of age with acute bronchial asthma, inpatient treatment at the Department of Immunology - Allergy - Arthritis, National Hospital of Paediatrics and 30 healthy children.

2.1.1. Criteria for selecting patients

- Patients diagnosed with asthma according to GINA 2011.
- Patients with acute HPQ.
- Children and their families agree to participate in the study

2.1.2. Exclusion criteria

- Patients with bronchial asthma more serious diseases such as arrhythmia, congenital heart, ...
- Patients with bronchial asthma hospitalized for other causes such as pneumothorax, foreign body breathing
- Family does not agree to participate in research

Control Group: Healthy children, under 15 years of age who do not have acute and chronic illnesses, go to a blood screening test for a trial.

2.2. Standard for diagnosis of asthma: according to GINA 2011

Diagnosis of severity of bronchial asthma PAS

2.3. Research Methods

Objective 1 and Objective 2: Descriptive, cross-sectional study.

Objective 3: A comparative study follows.

2.4. Study sample size

A sample of at least 76 patients with acute asthma was invited to participate in the study.

2.5. research process

Children and families who agree to participate in the study will participate in the process:

- A healthy child is given a blood test once.
- Patients with bronchial asthma who were enrolled in the study were asked about the disease, physical examination, and severity assessment of the acute asthma attack on admission.
 - Children with HPQ are taken to determine whether they are infected with acute rhinovirus.
 - Children with bronchial asthma receive blood twice a day, each time taking blood divided into two tubes. One after the admission and the second before discharge (or one week after the first blood test).
 - After collecting two blood tubes, one tube will be transferred to the National Pediatrics clinic to measure the blood volume, TCD3, TCD4, TCD8 cells. A tube will be extracted to preserve the cabinet - 80oC and transferred to the laboratory of the Department of Immunology, Military Medical Institute to quantify the cytokine.
 - Blood cells are analyzed and given an indication of the number of white blood cells, the ratio and number of components in the leukocyte formula, the proportion of TCD3, TCD4 and TCD8 cells.
 - Serum cytokine test: made at Immuno Labo, Center for Applied Medical Research, Military Medical Academy.
 - Quantification of Th1 cell-dependent cytokines (IL-2, TNF- α , IFN- γ), Th2 cell dependent (IL-4, IL-5, IL-13, GM-CSF) Treg (IL-10) and IL-6, IL-8.

2.7. Analysis and processing of data

The collected data were coded in a unified format and analyzed using SPSS 16.0 (Statistical Package for Social Sciences) software.

For qualitative variables: calculate the percentage.

For quantitative variables: calculate mean / standard deviation for standard deviation; Median, variance when non-standard distribution variable.

- Perform t-test, ANOVA, to compare the mean across groups.
- Performing non-parametric tests with the Mann-Whitney test, Kruskal-Wallis test, to compare the medians between groups when the quantitative variable does not follow the standard distribution.

Chapter 3: RESULTS

During the study period from August 2013 to August 2015, 125 children with acute asthma were invited to participate in the study. At the same time, 30 healthy children were counted cytokines as reference index.

3.1. Common trait bronchial asthma

Asthma can occur at any age, with the age group or admission especially 2-5 years old, accounting for 46.5%. Group of children over 5 years old accounted for 35.2%. (Lowest age is ... highest age is ...) asthma is found in boys more than girls, with boys 65.35% and girls 34.65%. The ratio of male to female is 1.95/ 1.

A total of 115/125 patients with acute asthma were assigned to the Rhinovirus, of which 63 patients were found to have Rhinovirus (RV) in the seroprevalium, accounting for 54.8%.

Severe acute asthma is measured on a PAS scale. Children hospitalized mainly acute and severe asthma (90.55%), in which severe asthma accounted for nearly 50% of patients.

3.2. Variation of inflammation cells in peripheral blood in bronchial asthma patients

3.2.1. The leukemia formula in children with acute asthma

Table 3.1. White blood cell count in children with acute bronchial asthma

Leucocyte	Normal		Increase	
	n	%	n	%
White blood count	23	18,4	102	81,6
Eosinophil	85	68,0	40	32,0
Neutrophil	42	33,6	83	66,4

Among hospitalized asthma patients, the white blood cell count increased by 81.6%, acute eosinophilia was 32.0% and hyperchromiasemia was 66.4%. %.

3.2.2. Number of TCD3 +, TCD4 +, TCD8 + cells in bronchial asthma

Table 3.2. Number of TCD3 +, TCD4 +, TCD8 + cells in bronchial asthma

TCD+	Normal		Decrease	
	n	%	n	%
TCD3+	30	60	20	40
TCD4+	27	54	23	46
TCD8+	41	82	9	18

There are 50 children who are counting TCD + cells in acute asthma. Of those, TCD3 + was reduced to 40%, TCD4 + was 46% and TCD8 + was 18%.

3.2.3. Correlation between TCD + cell count and asthma severity

Table 3.3. The correlation between the number of TCD3 + cells and severity of acute asthma

TCD3+ Level	Normal		Decrease		Sum		p
	n	%	n	%	n	%	
Mild, medium	15	75	5	25	20	100	0,059
Severe	15	50	15	50	30	100	
Sum	30	60	20	40	50	100	

Patients with severe acute asthma had significantly lower rates of TCD3 + than patients with mild to moderate acute asthma (50% vs. 25%, $p = 0.059$).

Table 3.4. The correlation between the number of TCD8 + cells and severity of acute asthma

Level \ TCD8+	Normal		Decrease		Sum		p
	n	%	n	%	n	%	
Mild, medium	20	95,24	1	4,76	21	100	0,038
Severe	21	72,41	8	27,59	29	100	
Tông	41	60,78	9	39,22	50	100	

Infants with severe asthma had a TCD8 + reduction of 27.59%, children with mild or moderate asthma had a TCD8 + reduction of 4.76%. Infants with severe asthma had significantly lower TCD8 + rates than those with mild to moderate asthma, a significant difference ($p = 0.038$).

3.2.4. Correlation between white blood cell count and severity of acute asthma

Table 3.5. The correlation between neutrophil counts neutralizing the severity of acute asthma

Level	Normal		Increase		p
	n	%	n	%	
Mild	7	16,67	5	6,03	0,030
Medium	20	47,62	30	36,14	
Severe	15	35,71	48	57,83	

There is a correlation between the number of neutrophils to the severity of acute asthma. Patients with severe acute asthma had higher neutrophil counts than those with mild and moderate ($p = 0.03$). White blood cell counts and eosinophils increased in severe acute asthma but the difference was not statistically significant

3.2.5. Correlation between white blood cell count and Rhinovirus infection in acute asthma

Table 3.6. Correlation between white blood cell counts and Rhinovirus infection

WBC \ Rhinovirus	Positive (n=63)	Negative (n=52)	p
	Normal	5 (7,94%)	
increase	58 (92,06%)	36 (69,23%)	

There is a correlation between peripheral white blood cell counts and Rhinovirus infection in acute asthma. Rhinovirus-infected children had a high white blood cell count of 92.06% compared to 69.23% in the non-rhinovirus group ($p = 0.002$).

Table 3.7. The correlation between the number of neutrophil neutralizes and the rhinovirus infection during acute asthma

Rhinovirus Neutrophil	Positive (n=63)	Negative (n=52)	p
Normal	21 (33,3%)	31 (59,6%)	0,02
Increase	42 (66,7%)	21 (40,4%)	

Patients with polycythicky neutropenia were RVV-infected with RVV 66.7% versus 40.4% in the RV-free group, which was statistically significant ($p = 0.02$).).

Table 3.8. Correlation between eosinophilia and Rhinovirus infection in acute asthma

Rhinovirus Eosinophil	Positive (n=63)	Negative (n=52)	p
Normal	41 (65,1%)	39 (75%)	0,03
Increase	22 (34,9%)	13 (25%)	

Patients with HPQ increased eosinophilia in RV-infected patients by 34.9% compared to 25% in non-RV patients, difference was statistically significant ($p = 0.03$).

3.3. Cytokine peripheral blood changes in children with acute bronchial asthma

3.3.1. Peripheral blood chemokines in children with acute bronchial asthma compared to healthy children

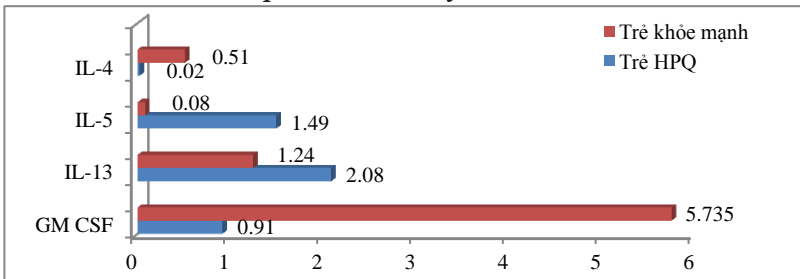


Figure 3.1. The concentration of cytokines involved in peripheral blood Th2 cells in bronchial asthma

The concentration of cytokines in Th2 such as IL-4, IL-5 and GMCSF differ significantly between the bronchial asthma group and healthy children. In acute asthma, IL-4 and GMCSF levels decreased compared to healthy children, whereas IL-5 levels in asthma were higher than healthy children.

Table 3.9. The concentration of cytokines involved in peripheral blood Th1 cells in bronchial asthma

Cytokine(pg/ml)	Asthma	Control	p
IL-2 (n) Median (min, max)	125 0,16 (0,05- 44,02)	30 0,51 (0,105-67,86)	0,27
IL-12(n) Median (min, max)	55 0,05 (0,01 -11,98)	15 0,01 (0,01- 1,83)	0,043
IFN- γ (n) Median (min, max)	125 12,41 (0,21 -1056,32)	30 12,41 (2,765- 1477,2)	0,46
TNF- α (n) Median (min, max)	125 0,43 (0,21-249,91)	30 1,46 (0,32- 44,46)	0,005

In acute asthma, IL-12 levels are higher in children with HPQ than in healthy children. In contrast, TNF- α levels were significantly reduced in children with HPQ compared with healthy children ($p = 0.005$).

Table 3.10. Levels of other cytokines in peripheral blood in bronchial asthma

Cytokine(pg/ml)	Asthma	Control	p
IL-10 (n) Median (min, max)	125 2,35 (0,005 -399,78)	30 1,52 (0,35- 43)	0,25
IL-6 (n) Median (min, max)	70 0,3 (0,03- 40,9)	15 1,03 (1,03- 36,63)	0,003
IL-8 (n) Median (min, max)	70 5,07 (1,5- 88,37)	15 5,07 (0,75-29,62)	0,92

IL-6 levels in infants with acute asthma were significantly less than those with healthy children ($p = 0.003$). Concentrations of other cytokines such as IL-2, IL-12, IFN- γ did not differ between acute asthma and asthma.

3.3.2. Compare the levels of cytokines in bronchial asthma patients in attacks, in addition to attacks and healthy children

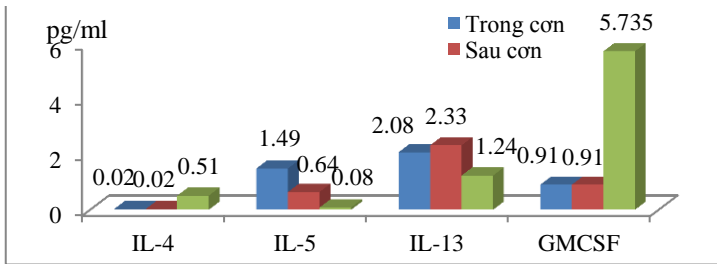


Figure 3.2. The concentration of cytokines in the Th2 cell group during asthma, in addition to asthma and healthy children

IL-4 levels in infants with asthma were lower than infants in addition to acute asthma and healthy infants, the differences were statistically significant with $p = 0.001$. IL-5 concentrations in the asthmatic group were higher than that in the control group and the healthy group was significantly different, $p < 0.05$. IL-13 levels in the asthmatic and out-of-acute asthma groups were higher than in the healthy children, with significant differences in $p < 0.05$.

Table 3.11. Compare the concentration of cytokines in the Th1 cell group during asthma, in addition to asthma and healthy children

Cytokine (pg/ml)	During acute asthma	Out of acute asthma	Control	p
IL-2(n)	125	59	30	0,18
Median	0,16	0,16	0,51	
(min, max)	(0,05- 44,02)	(0,105-45,51)	(0,105- 67,86)	
IL-12(n)	55	9	15	0,12
Median	0,01	0,01	0,01	
(min, max)	(0,01-11,98)	(0,01-1,38)	(0,01-1,83)	
IFN- γ (n)	125	15	30	0,66
Median	12,41	12,41	12,41	
(min, max)	(0,21-1056,32)	(2,765-895,51)	(2,765- 1477,2)	
TNF- α (n)	125	59	30	0,02
Median	0,43	0,43	1,46	
(min, max)	(0,21- 249,91)	(0,02-95,03)	(0,32-44,46)	

TNF- α levels in infants during acute asthma were significantly lower than infants other than acute asthma and healthy infants, with statistically significant differences with $p = 0.02$. Levels of other cytokines such as IL-2, IL-12, IFN- γ did not differ between acute asthma and asthma and healthy children

Table 3.12. IL-10, IL-6, IL-8, IL-8, cytokine levels in infants in addition to asthma and healthy children

Cytokine (pg/ml)	During acute asthma	Out of acute asthma	Control	p
IL-10(n) Median (min, max)	125 2,35 (0,005-399,78)	59 1,67 (0,005-57,97)	30 1,52 (0,35- 43)	0,41
IL-6 (n) Median (min, max)	69 0,3 (0,03- 40,9)	39 0,18 (0,03-7,32)	15 1,03 (1,03- 36,63)	0,01
IL-8(n) Median (min, max)	70 5,07 (1,5- 88,37)	39 4,77 (2,08-592)	15 5,07 (0,75- 29,62)	0,85

IL-6 levels in bronchial asthma were lower than healthy ones, difference was statistically significant at $p = 0.01$. IL-10 and IL-8 levels did not differ between infants in acute asthma, in addition to acute asthma and healthy children.

3.3.4. The concentration of cytokines in HPQ infants with rhinovirus infection

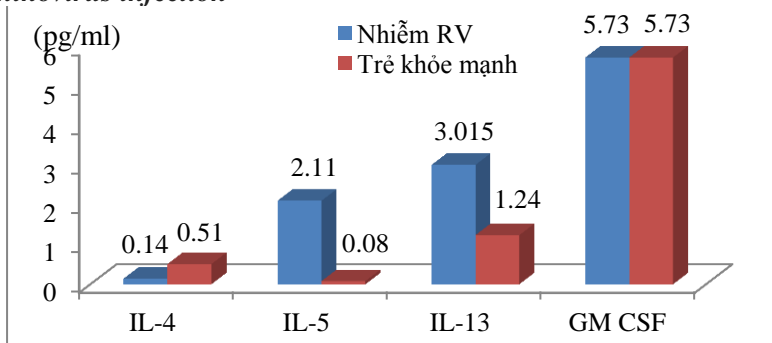


Figure 3.3. Concentrations of Th2 cell-mediated cytokines in Rhinovirus-infected children asthma

IL-4 levels in RV-associated asthma were significantly lower than healthy children and IL-5 levels were higher in RV patients than in healthy children ($p < 0.05$). IL-13 levels in infants with RV infection were 3.02 pg / ml versus 1.24 pg / ml in healthy children, but the difference was not statistically significant. No difference in CS CSF between RVQ and healthy infants was found.

Table 3.13. Concentrations of Th1-related cytokines in Rhinovirus-infected children with HPQ

Rhinovirus Cytokine(pg/ml)	RV (+)	Control	p
IL-2(n) Median (min, max)	63 0,25 (0,105 - 44,02)	30 0,51 (0,105 - 67,86)	0,71
IL-12(n) Median (min, max)	26 0,81 (0,01 - 11,98)	15 0,01 (0,01 - 1,83)	0,008
TNF- α (n) Median (min, max)	63 0,43 (0,21 - 230,2)	30 1,46 (0,32 - 44,46)	0,058
IFN- γ (n) Median (min, max)	63 12,41 (0,21 - 1056,3)	30 12,41 (2,76 - 1477,2)	0,645

TNF- α levels were significantly lower in RV-associated asthma than healthy children and IL-12 levels were higher in RV asthmatics than in healthy children, with statistically significant differences.

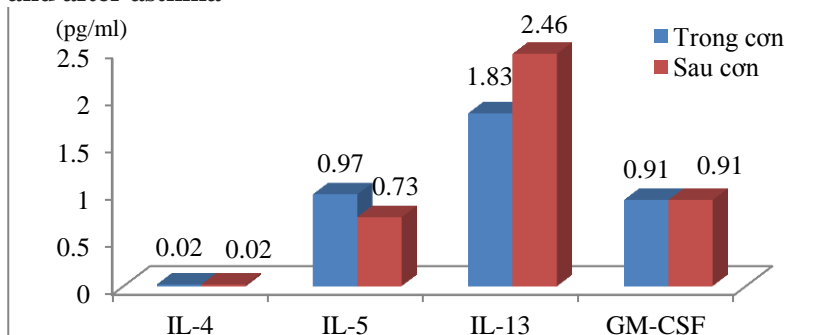
Table 3.14. Other cytokine concentrations in infants with HPV infection have Rhinovirus infection

Virus Cytokine(pg/ml)	RV (+)	Control	p
IL-10(n) Median (min, max)	63 2,35 (0,035 - 48,6)	30 1,52 (0,035 - 43)	0,25
IL-6(n) Median (min, max)	37 1,03 (0,03 - 7,24)	15 1,03 (1,03 - 36,63)	0,014
IL-8(n) Median (min, max)	37 5,97 (2,1 - 88,37)	15 5,07 (0,75 - 29,62)	0,55

IL-6 levels were lower in the RV-infected group compared to healthy children, with statistically significant differences with $p = 0.014$.

3.3.5. Comparison of cytokines with severity of acute asthma: no significant difference in plasma concentrations of cytokines

3.4. Comparison of cytokine changes in peripheral blood before and after asthma



Changes in the concentration of cytokines in Th2 cells before and after acute asthma Comment: IL-4 levels are different before and after asthma attacks. When patients recover from acute attacks, IL-4 levels increase. Other Th2 interleukins do not differ before and after acute asthma.

Table 3.15. Changes in cytokine concentrations in Th1 cells before and after asthma

Cytokine (pg/ml)	During acute asthma	After acute asthma	p
IL-2 (n)	57	57	0,0001
Median (Min - max)	0,10 (0,05 – 44,02)	0,16 (0,105 – 45,51)	
IL-12 (n)	20	20	0,89
Median (Min - max)	0,01 (0,01 – 9,56)	0,01 (0,01 – 9,15)	
TNF- α (n)	57	57	0,86
Median (Min - max)	0,43 (0,335 – 230,19)	0,43 (0,02 – 95,03)	
IFN- γ (n)	57	57	0,078
Median (Min - max)	12,41 (2,765 - 1056,32)	12,41 (2,765 – 895,51)	

During asthma lower IL-2 levels after acute asthma, the difference was statistically significant at $p = 0.0001$. IL-6, IL-10, IL-10 cytokine levels were not significantly different before and after acute asthma.

Chapter 4: DISCUSSION

During the period from August 2013 to August 2015, 125 children with acute asthma and 30 healthy children were invited to participate in the study.

4.1. Inflammatory cell characteristics of patients with acute bronchial asthma

4.1.1. Peripheral blood leucocyte during acute attacks

Bronchial asthma is a chronic inflammatory disease of the airway that was previously associated with accumulation and activation of eosinophils. Recent clinical studies have shown that neutrophil accumulation and activation in the airways are characteristic during acute asthma in children as well as in adults Norzila et al. Have demonstrated evidence of activation of both polyclonal neutrophils and eosinophils, increased secretion of cytokines that are highly cytoplasmic neutrophils (IL-8) and eosinophils (IL-5) during acute asthma. Although eosinophilic hepatitis is accepted as the standard for bronchial asthma, there is also evidence of involvement of neutrophils in acute asthma.

In our study, patients with acute asthma had an increase in white blood cell counts of 81.6%, hyperchromiasis 66.4%, eosinophilia 32% Because the rate of Rhinovirus infection is 54.78%. Research results of Le Thi Le Thao in acute asthma had 62.33% of patients with leukocytosis in blood. In which the rate of neutrophil neoplasm was 71.92%, eosinophilia was 29.5%.

According to research by Yoshihara et al., Acute asthma in children with epithelial cell destruction, secreted by pathogenic and activated neutrophils, rather than eosinophils in The airway but not the infection, these findings suggest the ability to neutralize neutrophils as an important factor for the clinical course of acute asthma in children. In our study, patients with acute peripheral neutropenic asthma, particularly severe asthma (neutrophil counts increased 57.83% in severe asthmatic children compared to 36.14 % In children with acute asthma and 6.03% in children with mild asthma with $p = 0.03$). Increased neutropenic neutropenia was associated with recurrent severe wheezing in children under three years of age, based on a review of inflammatory cells and inflammatory mediators. In patients with acute asthma, there is a significant decrease in the number of cells, neutrophils, eosinophils

in the airways. This contributes to confirm that airway inflammation plays an important role in acute bronchial asthma.

4.1.2. Cell values TCD3 +, TCD4 +, TCD8 +

In our study TCD3 + TCD4 + TCD8 + lymphocytes decreased in acute asthma, our results are similar to those of Marcircin Moniuszko. Reduction of TCD3 + TCD4 + TCD8 + lymphocytes in acute asthma, especially acute asthma, demonstrates the reduced immune regulation of severe acute asthma. Norbert Krug's study showed no difference in the percentage of TCD3 + TCD4 + TCD8 + lymphocytes in addition to asthma and in acute asthma in patients with mild acute asthma. When compared to the severity of acute asthma in our study, TCD8 + lymphoma decreased significantly in severe asthma compared to mild and moderate asthma.

4.1.3. Transformation of white blood cell counts in Rhinovirus-infecting bronchial asthma

Studies have shown that rhinovirus increases airway hypersensitivity, enhances the release of chemical intermediates and inflammation of the airways. Rhinovirus increases the mobility of inflammatory cells and inflammation in the mucous membranes and sub-mucous membranes of the respiratory tract, including neutrophils and acidophilus. Rhinovirus has a strong inflammatory response, increased inflammatory cell accumulation in patients with hypersensitivity or bronchial asthma compared with normal people. This partly explains the elevated neutropenia in patients with asthma. In this study, in RVD infants with RV infection, the neutrophil prolapse rate was 66.7% versus 40.4% in the RV-free group ($p = 0.02$). Inflammatory cell features in acute asthma other than acute asthma. The factor that triggers an acute asthma in children is usually a virus, and neutrophils are the cells that play an important role in responding to the virus, so its role in acute attacks is confirmed. These observations suggest a potential role in the treatment of neutrophils or neutrophil chemokines such as IL-8 in severe acute asthma in children.

4.1.4. Viral infection in acute asthma

Respiratory tract infection is the leading cause of acute asthma attacks. RSV and influenza influenza are the primary stimulant factors associated with early childhood respiratory tract infections; Rhinovirus and influenza are the most common causes of acute onset asthma in older children. According to Holgate, the majority of acute asthma attacks are caused by respiratory viruses, which Rhinovirus seems to most commonly. According to our study, among 125

children with acute HPQ, 63 children were infected with Rhinovirus, accounting for 54.78%. Le Thi Le Thao's research on Rhinovirus infection in acute asthma in children at the National Pediatrics Hospital showed that the rate of rhinovirus infection was 72.6%. Population isolates in 128 children with acute asthma and 192 healthy children at the same time showed that 84.9% of children in the group were positive for Rhinovirus compared with 33% for the control group. This proves that Rhinovirus plays a role in the onset of acute asthma. Our study results in over 50% of RV infections in acute asthma. Furthermore, RV infection also increases the risk of severe asthma attacks.

4.2. Peripheral blood chemokines in children with acute asthma

4.2.1. Transformation of cytokines involves Th2 cells

Inflammation of the airways is the basis of HPQ. Studies in animals as well as in humans indicate the importance of Th2 cells producing IL-4, IL-5, IL-13, cytokines that maintain inflammation in allergic pathology in general and Hen allergy in particular. IL-4 plays a key role in differentiating Th0 cells into Th2 cells and may play an important role in the sensitivity of the allergen. IL-4 is also needed to deliver B-lymphocytes from IgG production to IgE production. In patients with severe asthma, IL-4 levels are higher than normal and are especially high in patients with severe asthma that are resistant to corticosteroids. Corticosteroid therapy reduces the level of IL-4 in patients with severe asthma responding to corticosteroid therapy.

In our study, IL-4 concentrations in the acute asthma episode were significantly lower than those in the control group [0.02 pg / ml (0.005 - 2.8) compared with 0.51 μ g / ml (0.105 - 67, 86) p <0.001]. Muratov and colleagues investigated asthma induced asthma exacerbations that reduced IL-4 levels.

The difference in IL-4 levels seems to depend on the severity of asthma. IL-4 levels in severe asthmatic syndrome are higher than those with moderate asthma. Studies in Arab infants showed that IL-4 concentrations increased significantly in the asthmatic group compared with the control group. Some studies have shown that levels of IL-4 depend on previous corticosteroid treatment. Lama studies showed that IL-4 concentrations in the steroid group without steroids were higher (52.25 ± 21.91 versus 32.81 ± 16.28 pg / ml, p <0.001) and the concentration IL-4 was significantly lower in comparison to corticosteroid-treated patients (40.80 ± 17.77 vs. 52.25 ± 21.91 pg / ml, p = 0.054). . In our study, most patients who were

treated for acute asthma in acute care who received systemic or topical corticosteroids may have an effect on IL-4 levels.

Interleukin-5 causes allergic inflammation by eosinophil activation. Elevated eosinophils are found in the mucosa and bronchial lavage fluid in both allergic and non-allergic asthma. Bottcher and colleagues found that IL-5 concentrations increased in both allergic and non-allergic asthmatics compared to control groups after stimulation with allergens. In our study, mean IL-5 levels in children with asthma increased significantly compared to healthy children [1.49pg / ml (0.005 - 2.8) compared to 0.08 (0.02 - 14.58), $p = 0.0001$].

IL-13 is thought to be the cause of inflammation as well as the target of treatment. IL-13 causes smooth muscle contraction and increased sputum production [20]. IL-4 and IL-13 produced by mast cells increase bronchial responsiveness, increase smooth muscle calcium causing bronchospasm. Berry and colleagues studied elevated IL-13 levels in asthmatic patients compared to controls. Will-Karp's study indicates that IL-13 is associated with severity of the disease and increased levels of respiratory responsiveness in asthmatic patients.

IL-13 increases significantly in bronchial asthma patients and is associated with eosinophilia. IL-13 has many similarities with IL-4 and is an important cytokine in the airways of asthmatic patients.

In our study, IL-13 levels were higher in asthma than in control groups, but this difference was not statistically significant.

GM-CSF (granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor) is a cytokine produced from bone marrow and stem cell tissue that is essential for the growth and maturation of hematopoietic stem cells. GM-CSF stimulates the maturation of both neutrophils and macrophages. GM-CSF is also produced from alveolar macrophages.

On the other hand, GM-CSF is a cytokine that plays a role in the pathogenesis of HPQ. The acute asthma is associated with hypercholesterolemia, but acute asthma is associated with neutropenia. There is very little documentation of the role of the GMCSF in bronchial asthma children, although some hypothetical studies may suggest that it is a subgroup of both Th1 and Th2. Studies on IL-5 and GM-CSF levels in sputum in young children with HPQ showed that the levels of these cytokines were similar to the control group.

In our study, the mean concentration of GM-CSF was significantly lower in the asthmatic group (0.91 pg / ml (0.21 - 717.85) vs. 5.74 pg / ml 91, 198.3) $p = 0.008$ }.

4.2.2. Transformation of cytokines involves Th1 cells

IFN- γ is produced by TCD4 + and TCD8 + lymphocytes under the action of IL-12, IL-18, endotoxin and inhibitor produced by IL-10. This is a proinflammatory cytokine that stimulates leukocyte and endothelial cells to increase the production of adhesion molecules, IL-1, IL-12 and TNF- α . IFN- γ is a cytokine secreted by Th1 cells and usually reduced in HPQ. Reduced IFN- γ reduces the ability to inhibit IgE synthesis and allergic inflammatory responses.

Wong's study found that higher IFN- γ levels were significantly higher in the control group than in the allergic group (23.46% (14.59 - 27.47 pg / ml) compared to 5.72% (4.8 - 12.57pg / ml), $p < 0.001$). Our study showed similar results, with significantly lower levels of IFN- γ in asthmatic infants compared to healthy children (0.43 pg / ml (0.21- 249.91) And 1.46 pg / ml (0.32; 44.46) $p = 0.005$).

Studies by Chkhaidze et al. Show a strong correlation between TNF- α levels and recurrent wheezing and asthma levels. TNF- α activity in peripheral blood in asthmatic patients is associated with an increase in TNF- α activity and genetic differences associated with TNF- α regulation. In Mike's study of the role of TNF- α , TNF- α significantly increased in severely asthmatic patients, with no evidence of peripheral blood TNF- α elevation in patients with mild to moderate asthma. Our results show that TNF- α levels in the asthmatic group were higher and heavier than those in the mild asthma group.

IL-2 is mainly produced by Th1 cells and is thought to be the growth factor for Th1 and to stimulate Th2 proliferation. Increased IL-2 levels indicate increased activity of Th1 cells. Typically, the immunological pathogenesis of Th2-related allergy and Th2-cytokines. However, in chronic allergies, the response of Th is quite complex, which is related to the active interaction of both Th1 and Th2 cells . On different experimental systems, Th1 cells provide the necessary signals for Th2 cells to migrate efficiently to the airways.

IL-12 is a necessary cytokine for Th1 differentiation from Th0 and differentiation of Th2 cell differentiation. IL-12 inhibits the outbreak and progression of allergies. IL-12 causes T cells to release IFN- γ . IL-12 is released from whole blood cells, with low concentrations in patients with asthma. According to Zhang et al., Asthmatic children had lower IL-12 levels than controls (35.33 ± 8.5 pg / ml versus 61.23 ± 11.51 pg / ml). Our study found no differences in IL-12 concentrations among infants with acute asthma compared to control.

4.2.3. Transformation of other cytokines

Interleukin-10 plays a major role in regulating inflammation of the airway, increasing the secretion of IL-10 in asthma that helps control inflammation. However, the regulation of IL-10 production both increases and decreases in asthma patients, and this difference may be due to the manifold manifestation of clinical phenotype in the study participants.

In our study, IL-10 levels in asthma were higher than acute asthma and control groups, but the difference was not statistically significant. Wei's study showed similar results, with blood levels of IL-10 in asthmatic children similar to the control group. Other studies showed similar results, with peripheral blood IL-10 levels in the bronchial asthma group higher than the control group. However, in Moniuszko's study, the IL-10 concentration in the asthmatic group was lower than in the non-acute asthmatics group.

Results of changes in IL-10 and IL-12 levels during acute asthma indicated Th1 / Th2 imbalance, determining the important role of Th1 / Th2 balance in the pathogenesis of bronchial asthma. IL-8 is a neutrophil-mediated epithelial cell and other granular cells migrate to the inflammatory cell.

IL-8 also stimulates phagocytosis. When bacteria enter the body, macrophages are the first to contact and kill bacteria. Inflammation of the bronchial asthma is mobilized by both eosinophils and neutrophils, IL-8 is chemically neutrophilic to the inflammatory site during inflammation, IL-5 and IL-8 both increase in acute asthma and decrease in IL-8 levels after acute asthma attacks. The results of the study by Norrzila et al. Are similar to the results of our study.

IL-6 has an anti-inflammatory effect, which inhibits the release of IL-1 and TNF- α from macrophages. IL-6 regulates TCD4 + activity, stimulates IL-4 production during Th2 differentiation, Th1 differentiation inhibits. IL-6 is also a factor that differentiates B lymphocytes and the production of immune globulin. The multidimensional nature of IL-6 as immunomodulatory agent suggests that IL-6 plays a role in the pathogenesis of HPQ.

In metacentric neutropenia, IL-8 and IL-6 levels are associated with neutrophil counts, as these cytokines are released by epithelial cells and suggest that it has a role. Important in severe asthma. According to Nakamoto, IL-8 and IL-6 levels were higher in asthma than in acute asthma but the difference was not statistically significant. Wei's study showed that the levels of IL-6 in the blood of children with asthma were significantly higher in the control group.

In contrast, Nasser et al. (19) reported a decrease in the levels of cytokines such as GMCSF, IFN- γ , IL-5, IL-6, IL-8 in asthmatic children compared to control subjects. However, there were no differences in TNF- α , IL-2, IL-10, IL-13 levels between the asthmatic and control groups. Our results show that IL-6 concentrations in asthmatic episodes were significantly lower than asthma attacks, and that IL-8 levels did not differ between acute and exacerbation. These results suggest that there is imbalance between cytokines of T lymphocytes in asthmatic children. Furthermore, the results support the role of GMCSF and IFN- γ in asthmatic children and their association with IL-4 and IL-5 levels are cytokines secreted by Th2 cells. Most studies have provided evidence that Th2 cytokines increase the regulation of asthma in children. However, some recent studies suggest that Th1 cytokines also reflect inflammation in bronchial asthma patients, especially the role of IFN- γ has been documented.

In our study showed that increased levels of cytokines excreted from Th2 cells together with decreased secretion of cytokines derived from Th1 cells, exhibited increased IL-5 concentrations and decreased IFN- γ concentrations. Compared to the control group. This indicates a weakening of immune activity in the direction of Th1 cells and enhances the activity towards Th2 cells. However, increased levels of cytokines such as GMCSF, IL-12 show a variety of inflammatory responses in bronchial asthma, with the combination of Th1/Th2 in pathogenesis.

4.2.4. Transformation of cytokines in rhinovirus-associated bronchial asthma

The mechanism of Rhinovirus induced acute asthma is unclear. Rhinovirus can induce acute asthma attacks through a variety of mechanisms, including lower respiratory tract infection, inflammatory response to the virus, decreased respiratory function, increased bronchial responsiveness, and increased ICAM-1. On the surface of the bronchial epithelium.

Thus, the immune response to Rhinovirus differs between HPQ and healthy people. In HPQ, the airway epithelial cells are injured, increasing the secretion of mucus. This makes Rhinovirus easy to reach the bottom membrane of the bronchi, goblet cells and multiply here. Thin-cell-mediated inflammatory response is the major pathogenesis mechanism in HPQ. IL-4 is secreted by Th2 cells that inhibit differentiation in Th1 cells. However, in HPQ individuals infected with Rhinovirus, respiratory epithelial cells respond to Th1-

mediated inflammatory responses, but prefer Th2 to anti-Rhinovirus. Barends et al. Found that rhinovirus infection after exposure to allergens increased secretion of Th2 cell cytokines in the lung, causing lung injury, increased airway hypersensitivity, but did not result in Th1.

Peripheral peripheral inflammatory response after infection has a distinction between normal and asthmatic. In HPQ individuals, after RV infection, there was a linear reverse relationship between viral load and CD4 + T-lymphocytes, IFN- γ and IL-10. At the same time there is a linear reversal relation between CD4 + T-lymphocytes, IFN- γ and decrease in peak supply, as well as linear correlations between TCD +, IL-4, IL-5 lymphocytes and symptoms. Of the lower respiratory tract. People with asthma have elevated IL-10 levels and decreased IL-12 levels compared to normal subjects, suggesting that inflammatory responses to RV differed between normal and asthmatic.

Decrease in IFN- γ levels is associated with severe cold and reduced inhibition of Rhinovirus replication. Experimentally, on day 4, RV-infected patients with marked TCD4 +, TCD8 + T-cell leukemia, and B-cell lymphocytes in the blood were significantly decreased in comparison with the normal population. Brooks conducted research on 19 HPQ individuals that were cultured with RV16 for 6 days. Results of the study show that Rhinovirus 16 reduces IFN- γ levels and is closely associated with methacholine bronchial stimulation ($r = 0.50$, $p = 0.03$). The IFN- γ / IL-5 ratio was associated with predicted FEV1 ($r = 0.53$, $p = 0.02$). Thus, Rhinovirus infection weakens the body response towards Th1.

In our study, IL-2 levels in acute asthma were not significantly different among healthy children. However, in the group infected with Rhinovirus, IL-2 levels were significantly higher than those without rhinovirus infection, suggesting that viral infections increased Th1 activity similarly to other studies. IL-10 can inhibit the production of proinflammatory cytokines (IL-1, IL-6, IL-12 and TNF- α) by macrophages and monocytes. Research results indicate that IL-10 has anti-inflammatory activity. In patients with HPV infection with Rhinovirus, IL-10 levels are often elevated, which can reduce the anti-inflammatory effect and slow the virus clearance. It is noteworthy that there is a link between elevated IL-10 levels and increased airway responsiveness in HPQ patients, as IL-10 increases smooth muscle airway contraction, increased IL-10 production at site contributing Direct effects increase respiratory responsiveness. In our study, IL-10 levels in the HPQ group were associated with rhinovirus

infection lower than that of the non-Rhinovirus-HPQ group (4.57 pg / ml vs. 13.44 pg / ml, $p = 0.045$). Van Benten et al. Found a decrease in IL-10 levels in infants with upper respiratory tract infections such as rhinovirus and respiratory syncytial virus compared to infants without respiratory viral infection. Low levels of IL-10 may be beneficial in treating asthma.

4.2.5. Relationship between cytokine concentrations and acute asthma severity

Inflammatory markers help predict the severity of airway inflammation. Meyer's study of chemokines and proinflammatory cytokines is important for determining the severity of asthma, asthma control, and response to treatment. Evaluation of systemic immune responses across cytokine and chemokine concentrations plays an important role in asthmatic patient monitoring and optimization of asthma treatment. Hoekstra points out that the difference in IL-4 levels seems to depend on the severity of the acute episode. Bogie's study found that in children with moderate to severe acute asthma, IL-4 levels were significantly higher than those with mild asthma. However, another study showed no difference in IL-4 levels between the control groups with mild to moderate asthma. Differences in IL-4 results between different studies may be due to differences in cell activation and activation time as well as severity of acute asthma.

IL-5 levels in children with moderate to severe HPQ were significantly higher than those with mild asthma. However, Daghri's study indicated that IL-5 decreased in the asthmatic group compared with the control group, but IL-4 significantly increased. Similar to IL-4, the difference in IL-5 concentrations between studies was due to different sample sizes, different collection times and cell activation factors of the studies. .

Machura's study showed that elevated IL-13 levels of TCD4 cells were elevated in severely asthmatic, unchanged asthma patients with mild to moderate asthma and were linearly correlated with the duration of HPQ.

In this study, we found no correlation between cytokine concentrations associated with Th2 cells such as IL-4, IL-5, and IL-13 with severity of acute asthma.

TNF- α elevation is a predictor of acute asthma. In patients with severe asthma requiring assisted ventilation, bronchial fluids with neutropenia and proinflammatory cytokines include TNF- α . Increased TNF- α reflects asthma-resistant corticosteroids.

In our study, serum concentrations of cytokines associated with Th1 cells such as IL-2, TNF- α , IFN- γ did not differ by severity of acute asthma. At the same time, the levels of cytokines in this group were not associated with the severity of acute asthma in both RV and RV-infected HPQ.

Interleukin-10 causes inflammatory response two-way in HPQ. The research question here is whether IL-10 inhibits inflammation response in asthma or makes it worse. Actual observation shows that in patients with HPQ with respiratory virus infection, IL-10 concentrations are often elevated. The role of IL-10 in the inflammatory response at the airways depends on the duration of IL-10 elevation in the lung. In contrast, Message et al. Found that IL-10 was associated with respiratory protection following RV infection, and that response was strong with low viral load and mild symptoms. In individuals with HPQ, after RV infection, there is a linear reversal relation between viral load and IL-10 concentration, meaning that the more virulent the virus is, the lower the IL-10 concentration.

Our results show that RVQ infants with IL-10 levels were not significantly different from those with RV-negative HPQ. However, children with severe acute asthma had lower IL-10 levels than those with mild or moderate asthma, but the difference was not statistically significant.

Glucocorticoid therapy affects inflammatory markers of acute asthma. Sahid and colleagues have demonstrated that oral glucocorticoid therapy improves clinical symptoms, significantly reducing IL-5 levels (from 5.59 to 2.19 pg / ml, $p = 0.0001$). Moreover, IFN- γ levels were significantly lower in the treated and unprotected group of corticosteroids compared with the control group. Shao and co-workers showed that IFN- γ levels in mycoplasma and mycoplasma-less asthmatics were lower than in the control group (19.20 ± 4.47 pg / ml) and 22.9 ± 3.85 / MI) compared with (93.05 ± 37.55 pg / ml)}. Previous studies have shown that corticosteroids inhibit the synthesis of both IL-4 and IFN- γ but inhibit IFN- γ inferior. Therefore, detection of lower IL-4 levels in the corticosteroid-treated group of corticosteroids supports previous findings and suggests that corticosteroid therapy reduces the regulation of IL-4 levels in asthma.

In our study, the levels of cytokines did not differ by severity of acute asthma. Thus, every cytokine plays an important role in maintaining inflammation in bronchial asthma patients, and the inflammatory response in HPQ is a combination of both Th1 and Th2.

4.3. Comparison of cytokine values in peripheral blood before and after acute asthma

Bronchial asthma is chronic airway inflammation. Studies by Van et al. Show that even when patients do not have clinical symptoms, inflammation of the airways and respiratory structural resuscitation persist and continue through elevated IL-5 expression, FeNO, eosinophils in patients with acute asthma compared with the control group.

According to Minako et al, levels of IL-5 in asthma were higher than those after acute asthma and IL-5 levels after asthma were higher than controls. In contrast, IL-10 levels in the acute attacks were lower than those following acute attacks. Results of the study suggest that allergic inflammation continues to occur despite the disappearance of clinical symptoms.

Another study by Caldereron et al. Found that IL-4 levels did not change between patients in acute asthma and after acute asthma, while IL-13 levels were higher in asthma than in later asthma. Acute asthma, and IFN- γ levels in the lower asthma after asthma. The study hypothesized the important role of IL-13 in acute asthma, while IFN- γ was associated with acute asthma, and post-bronchial clearance of bronchial asthma.

In our study, IL-4 concentrations in asthmatic episodes were significantly lower than those following acute asthma attacks, with higher levels of IL-5 in asthma after asthma and healthy infants. IL-2 levels in asthma were significantly lower than after asthma. Cytokine variants before and after acute asthma demonstrate inflammation that is triggered by acute asthma and is maintained apart from asthma attacks.

CONCLUSION

Based on the study of 125 bronchial asthma patients hospitalized in the Department of Immunology - Allergy at the National Hospital of Paediatrics from August 2013 to August 2015, we draw the following conclusions:

1. Variation of inflammation cells in peripheral blood in bronchial asthma

- 81.6% of children had leucopenia in acute bronchial asthma, with 66.4% of neutropenia and 32% of acidity.

- There is a correlation between the number of neutrophils to the severity of acute asthma.

- In the group of asthma with Rhinovirus infection, there is a correlation between the number of white blood cells, neutrophil neutrophils and eosinophils with the severity of acute asthma.

- Rhinovirus infection increases the severity of acute bronchial asthma. In acute asthma, 40% of patients with TCD3 + disease, 46% in TCD4 + and 18% in TCD8 cells.

- There is a correlation between reduction of TCD3, TCD8 cells and severity of acute asthma.

2. Changes in some peripheral blood cytokines in pediatric patients with acute asthma

- Infants with acute asthma have increased levels of IL-5, IL-13 compared to healthy children, suggesting that asthmatic children have increased inflammatory responses in the direction of Th2 cells.

- Infants with acute asthma reduced TNF- α , IL-6 levels compared with healthy children. Rhinovirus infection has a predominant inflammatory response in both Th1 and Th2 cells (increased levels of IL-5, IL-13, IL-2 and IL-12, IL-8).

- There is no relationship between the concentration of cytokines and severity of acute asthma.

3. Changes in cytokine levels before and after acute asthma

In acute asthma, IL-4 levels were lower than those in both the general asthma group and the rhinovirus-infected asthma group. In asthma acute levels of IL-2 levels are lower than those in both the general asthma group and the rhinovirus-infected asthma group. Inflammatory response in bronchial asthma is a complex mechanism, involving a wide variety of cell types and cytokines. Chronic inflammation in the asthma is maintained, resulting in decreased respiratory function, increased bronchial response, and recirculation of the airway over time.

REQUEST

Inflammatory response in bronchial asthma is a complex mechanism, response mechanisms vary depending on the individual and factors that trigger acute asthma. Today, although there are recommendations for treatment of asthma, there are still many patients who do not control asthma despite adherence to the treatment regimen. The quantification of cytokines in bronchial asthma helps to understand the mechanism of bronchial asthma in each individual, thus helping to select appropriate treatment targets.