

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



TRẦN THỊ HUYỀN

**XÁC ĐỊNH MỘT SỐ GEN, PHÂN TỬ
CÓ LIÊN QUAN ĐẾN HỘI CHỨNG
SJS/TEN Ở NGƯỜI VIỆT NAM**

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

HÀ NỘI - 2021

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



TRẦN THỊ HUYỀN

**XÁC ĐỊNH MỘT SỐ GEN, PHÂN TỬ
CÓ LIÊN QUAN ĐẾN HỘI CHỨNG
SJS/TEN Ở NGƯỜI VIỆT NAM**

Chuyên ngành : Nội khoa (Da liễu)

Mã số : 9720107

LUẬN ÁN TIẾN SỸ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS. TS. Phạm Thị Lan
2. GS. Riichiro Abe

田部 理一郎

HÀ NỘI - 2021

LỜI CẢM ƠN

Luận án này được hoàn thành bằng sự cố gắng, nỗ lực của tôi cùng với sự giúp đỡ của nhiều cá nhân và tập thể. Nhân dịp hoàn thành công trình này, với lòng kính trọng và biết ơn sâu sắc, tôi xin bày tỏ lời cảm ơn tới:

- Ban Giám đốc Bệnh viện Da liễu Trung ương đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi được nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Ban Giám hiệu, Phòng Quản lý đào tạo Sau đại học, Bộ môn Da liễu và các Bộ môn khác của Trường Đại học Y Hà Nội đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Khoa Bệnh da phụ nữ và trẻ em, Khoa Bệnh da nam giới, Khoa Khám bệnh, Khoa xét nghiệm huyết học, sinh hóa, miễn dịch và giải phẫu bệnh, Khoa xét nghiệm vi sinh, Bệnh viện Da liễu Trung ương; Bộ môn Miễn dịch, Học viện Quân y; Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương; Trung tâm Di ứng-MDLS, Bệnh viện Bạch Mai đã tạo điều kiện thuận lợi cho tôi trong quá trình nghiên cứu và hoàn thành luận án.

- Xin chân thành cảm ơn PGS.TS. Phạm Thị Lan, Bộ môn Da liễu, Trường Đại học Y Hà Nội, GS. Riichiro Abe, Đại học Niigata, Nhật Bản đã tận tình hướng dẫn, chỉ bảo, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu khoa học và xuất bản các bài báo.

Tôi cũng xin được chân thành cảm ơn:

- Toàn thể cán bộ Bộ môn Da liễu, Trường Đại học Y Hà Nội, toàn thể cán bộ, nhân viên Khoa Bệnh da phụ nữ và trẻ em, Khoa Bệnh da nam giới, Bệnh viện Da liễu Trung ương đã luôn động viên, giúp đỡ tôi hoàn thành nhiệm vụ công tác và học tập.

- Các bệnh nhân tham gia nghiên cứu và người tình nguyện khỏe mạnh đã hợp tác, giúp tôi hoàn thành luận án.

- Các bạn bè, đồng nghiệp và người thân trong gia đình đã động viên, khích lệ tôi vượt qua nhiều thử thách trong suốt quá trình thực hiện luận án này.

Hà Nội, ngày 11 tháng 5 năm 2021

Trần Thị Huyền

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Trần Thị Huyền, nghiên cứu sinh khóa 36, Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Nội khoa (Da liễu), xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện, dưới sự hướng dẫn của PGS. TS. Phạm Thị Lan, Bộ môn Da liễu, Trường Đại học Y Hà Nội và GS. Riichiro Abe, Đại học Niigata, Nhật Bản.

2. Công trình này không trùng lặp với bất kỳ nghiên cứu nào khác đã được công bố tại Việt Nam.

3. Các số liệu và thông tin trong nghiên cứu là chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của các cơ sở nơi nghiên cứu.

Tôi xin hoàn toàn chịu trách nhiệm trước Pháp luật về những cam kết này.

Hà Nội, ngày 11 tháng 5 năm 2021

Người viết cam đoan

Trần Thị Huyền

DANH MỤC CÁC TỪ VIẾT TẮT

Từ	Tiếng Anh	Tiếng Việt
ALDEN	Algorithm for Drug Causality for Epidermal Necrolysis	Bảng điểm xác định thuốc gây dị ứng trong hoại tử thượng bì
APC	Antigen presenting cell	Tế bào trình diện kháng nguyên
CCL27	C-C motif chemokine ligand 27	
CD	Cluster of differentiation	Cụm biệt hóa
CTCT	Apoptosis	Chết theo chương trình
CTL	Cytotoxic T lymphocyte	Tế bào T gây độc
DIHS	Drug-induced hypersensitivity syndrome	Hội chứng tăng nhạy cảm do thuốc
DNA	Deoxyribonucleic acid	
EM	Erythema multiforme	Hồng ban đa dạng
ELISA	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay	Xét nghiệm hấp phụ miễn dịch gắn enzym
FasL	Fas ligand	Fas phối tử
FPR1	Formyl peptide receptor 1	Thụ thể peptid formyl 1
GBFDE	Generalized bullous fixed drug eruption	Hồng ban cố định nhiễm sắc có bọng nước lan tỏa
GM-CSF	Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor	Yếu tố kích thích quần thể bạch cầu hạt-đại thực bào
HCs	Health controls	Chứng khỏe mạnh
HHV	Human herpes virus	Virus herpes ở người
HIV	Human immunodeficiency virus	Virus gây suy giảm miễn dịch ở người
HLA	Human leukocyte antigen	Kháng nguyên bạch cầu người
HSV	Herpes simplex virus	Virus herpes simplex
HTTCT	Necroptosis	Hoại tử theo chương trình
IFN- γ	Interferon gamma	
IL	Interleukin	
JAK	Janus kinase	
LTT	Lymphocyte transformation test	Phản ứng chuyển dạng lympho bào

MHC	Major histocompatibility complex	Phức hợp hòa hợp mô chủ yếu
MPE	Maculopapular exanthema	Phát ban dát sần
NA	Non applicable	Không áp dụng
NF-κB	Nuclear factor-kappaB,	Yếu tố nhân kappaB
NK	Natural killer	Diệt tự nhiên
NO	Nitric oxyd	
NSA	Necrosulfonamid	
NSAIDs	Non-steroid antiinflammatory drugs	Thuốc chống viêm không steroid
ODSR	Ordinary drug skin reaction	Dị ứng thuốc thể thông thường
PBMC	Peripheral blood monocyte	Tế bào đơn nhân máu ngoại vi
PCR	Polymerase chain reaction	Phản ứng khuếch đại chuỗi polymerase
PE	Phycoerythin	
SA	Streptavidin	
SCARs	Severe cutaneous adverse drug reactions	Phản ứng thuốc nặng có biểu hiện ở da
SCORTEN	SCORE for TEN	Bảng điểm đánh giá độ nặng TEN
SJS	Stevens-Johnson syndrome	Hội chứng Stevens-Johnson
SMX	Sulfamethoxazol	
SSO	Sequence-specific oligonucleotide	Chuỗi ngắn nucleotid có trình tự đặc hiệu
TCR	T cell receptor	Thụ thể tế bào T
TEN	Toxic epidermal necrolysis	Hoại tử thượng bì nhiễm độc
Th	T helper	T hỗ trợ
TNF-α	Tumour necrosic factor alpha	Yếu tố hoại tử u anpha
TTTB		Tái tạo thượng bì

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU.....	3
1.1. Khái niệm, thuật ngữ.....	3
1.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của SJS/TEN	4
1.2.1. Đặc điểm lâm sàng.....	4
1.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng	8
1.2.3. Tiên lượng và biến chứng	11
1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN	13
1.3.1. Nguyên nhân	13
1.3.2. Cơ chế bệnh sinh	14
1.4. Phân tử <i>HLA</i> và sự trình diện kháng nguyên	26
1.4.1. Sơ lược lịch sử về <i>HLA</i>	26
1.4.2. Cụm gen <i>HLA</i> , vai trò của phân tử <i>HLA</i>	27
1.5. Một số cytokin liên quan tới SJS/TEN	32
1.5.1. Khái niệm chung về cytokin	32
1.5.2. Một số cytokin liên quan tới SJS/TEN đã được nghiên cứu	36
1.6. Các nghiên cứu ở Việt Nam liên quan đến SJS/TEN	38
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....	41
2.1. Đối tượng nghiên cứu	41
2.1.1. Nhóm bệnh nhân SJS/TEN	41
2.1.2. Nhóm bệnh nhân EM	43
2.1.3. Nhóm chứng khỏe mạnh	43
2.2. Phương pháp nghiên cứu.....	44
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	44
2.2.2. Phương pháp chọn mẫu.....	44
2.2.3. Cỡ mẫu nghiên cứu	44

2.2.4. Các bước nghiên cứu.....	45
2.2.5. Một số kỹ thuật xét nghiệm thực hiện trong nghiên cứu	50
2.3. Một số biến số, chỉ số trong nghiên cứu	59
2.4. Địa điểm nghiên cứu	63
2.5. Thời gian nghiên cứu	63
2.6. Xử lý số liệu	63
2.7. Đạo đức trong nghiên cứu.....	63
2.8. Hạn chế của nghiên cứu	64
2.9. Cách không chế sai số trong nghiên cứu	64
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	66
3.1. Xác định một số gen (allele <i>HLA-B</i>) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam.....	66
3.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân SJS/TEN	66
3.1.2. Xác định một số gen (allele <i>HLA-B</i>) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam.....	72
3.2. Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN	75
3.2.1. Nồng độ granulysin huyết thanh	76
3.2.2. Nồng độ các cytokin huyết thanh.....	83
3.2.3. Mối tương quan giữa nồng độ granulysin, một số cytokin huyết thanh ở nhóm SJS/TEN.....	98
3.2.4. Thay đổi nồng độ huyết thanh một số cytokin trước và sau điều trị corticosteroid toàn thân ở nhóm SJS/TEN.....	100
3.2.5. Mối liên quan giữa nồng độ granulysin, một số cytokin huyết thanh với diện tích thương tổn da, điểm SCORTEN ở nhóm SJS/TEN.....	102

Chương 4: BÀN LUẬN.....	105
4.1. Xác định một số gen (allele <i>HLA-B</i>) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam.....	105
4.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân SJS/TEN.....	105
4.1.2. Xác định một số gen (allele <i>HLA-B</i>) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam.....	114
4.2. Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN.....	117
4.2.1. Nồng độ granulysin huyết thanh.....	117
4.2.2. Nồng độ 13 cytokin huyết thanh.....	121
KẾT LUẬN.....	140
KIẾN NGHỊ.....	142
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1.	Bảng điểm SCORTEN	12
Bảng 1.2.	Các đặc tính dược lý-gen đặc hiệu cho dân tộc trong SCARs ...	31
Bảng 1.3.	Tóm tắt về một số cytokin	33
Bảng 2.1.	Bảng điểm ALDEN	46
Bảng 2.2.	Mô tả các biến số trong nghiên cứu.....	59
Bảng 3.1.	Đặc điểm chung của các bệnh nhân SJS/TEN.....	66
Bảng 3.2.	Các thuốc gây dị ứng trong SJS/TEN.....	67
Bảng 3.3.	Thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát.....	68
Bảng 3.4.	Diện tích thương tổn da	69
Bảng 3.5.	Điểm SCORTEN 6 tiêu chí của nhóm SJS/TEN.....	69
Bảng 3.6.	Thương tổn các niêm mạc trong SJS/TEN	70
Bảng 3.7.	Các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng khác.....	70
Bảng 3.8.	Thuốc điều trị và thời gian TTTB.....	71
Bảng 3.9.	Kết quả genotype HLA-B	72
Bảng 3.10.	Đặc điểm của nhóm EM, SJS/TEN và HCs	75
Bảng 3.11.	So sánh nồng độ các cytokin huyết thanh tại thời điểm nhập viện (pg/ml) của ba nhóm	83
Bảng 3.12.	So sánh nồng độ các cytokin (pg/ml) của nhóm SJS và TEN tại thời điểm nhập viện	85
Bảng 3.13.	So sánh nồng độ cytokin (pg/ml) của nhóm SJS/TEN theo thời gian	87
Bảng 3.14.	So sánh nồng độ các cytokin (pg/ml) của nhóm SJS/TEN theo sử dụng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện	89
Bảng 3.15.	So sánh nồng độ các cytokin huyết thanh (pg/ml) lúc nhập viện và lúc TTTB ở nhóm SJS/TEN.....	93

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1.	Nồng độ granulysin huyết thanh của ba nhóm tại thời điểm nhập viện.....	76
Biểu đồ 3.2.	Nồng độ granulysin huyết thanh của nhóm SJS và TEN tại thời điểm nhập viện	77
Biểu đồ 3.3.	Nồng độ granulysin huyết thanh theo thời gian khởi phát của nhóm SJS/TEN.....	78
Biểu đồ 3.4.	Nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm SJS/TEN theo giới tính tại thời điểm nhập viện.....	79
Biểu đồ 3.5.	Tương quan giữa nồng độ granulysin huyết thanh và tuổi.....	80
Biểu đồ 3.6.	Nồng độ granulysin huyết thanh của nhóm SJS/TEN theo điều trị corticosteroid trước khi nhập viện	81
Biểu đồ 3.7.	So sánh nồng độ granulysin huyết thanh lúc nhập viện và lúc TTTB của nhóm SJS/TEN.....	82
Biểu đồ 3.8.	Nồng độ TNF- α , IFN- γ và IL-2 ở 48 bệnh nhân SJS/TEN	91
Biểu đồ 3.9.	Nồng độ IL-4, IL-5 và IL-13 ở 48 bệnh nhân SJS/TEN	91
Biểu đồ 3.10.	Nồng độ IL-1 β , IL-6 và IL-8 ở 48 bệnh nhân SJS/TEN	92
Biểu đồ 3.11.	Nồng độ huyết thanh các cytokin ở 48 bệnh nhân SJS/TEN ...	92
Biểu đồ 3.12.	Nồng độ các cytokin của Th1	95
Biểu đồ 3.13.	Nồng độ các cytokin của Th2.....	95
Biểu đồ 3.14.	Nồng độ IL-1 β , IL-6 và IL-8	96
Biểu đồ 3.15.	Nồng độ GM-CSF, IL-12, IL-17A và IL-10	97
Biểu đồ 3.16.	Tương quan giữa nồng độ granulysin và IFN- γ huyết thanh ...	98
Biểu đồ 3.17.	Tương quan giữa nồng độ GM-CSF và IL-1 β	99
Biểu đồ 3.18.	Mối tương quan giữa nồng độ IL-2 và IL-1 β	100
Biểu đồ 3.19.	Sự thay đổi một số cytokin trước và sau điều trị corticosteroid toàn thân	101

Biểu đồ 3.20.	Tương quan giữa diện tích da với nồng độ IFN- γ	102
Biểu đồ 3.21.	Tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ granulysin.....	103
Biểu đồ 3.22.	Tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ IL-8	103
Biểu đồ 3.23.	Tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ IFN- γ	104

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Các cơ chế gây hoạt hóa tế bào T trong SJS/TEN	18
Hình 1.2. Cơ chế gây chết theo chương trình các tế bào keratin	19
Hình 1.3. Mô hình các tế bào keratin chết theo chương trình do tương tác ở synap miễn dịch của phức hợp thuốc-HLA-TCR	20
Hình 1.4. Cơ chế chết theo chương trình do granulysin	21
Hình 1.5. Con đường độc tế bào thông qua granzym B-perforin	23
Hình 1.6. Sự ức chế hoại tử theo chương trình của NSA	26
Hình 1.7. Bản đồ cụm gen HLA ở người	28
Hình 1.8. Tóm tắt các yếu tố tham gia trong nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN	38
Hình 2.1. Ước tính diện tích da thương tổn	49
Hình 2.2. Nguyên lý phản ứng phát hiện cytokin	58
Hình 2.3. Sơ đồ nghiên cứu.....	65

DANH MỤC ẢNH

Ảnh 1.1.	Bệnh nhân bị SJS do thuốc nam	7
Ảnh 1.2.	Các bệnh nhân bị TEN.....	7
Ảnh 1.3.	Mô bệnh học của SJS/TEN.....	9
Ảnh 2.1.	Bộ kit ELISA định lượng granulysin huyết thanh.....	54
Ảnh 2.2.	Bộ kit định lượng 13 cytokin huyết thanh	58

ĐẶT VẤN ĐỀ

Hội chứng Stevens-Johnson (Stevens-Johnson syndrome, SJS) và hoại tử thượng bì nhiễm độc (toxic epidermal necrolysis, TEN) là những phản ứng nặng, thường do thuốc, có biểu hiện ở da (severe cutaneous adverse drug reactions, SCARs), tuy ít gặp nhưng nguy hiểm, đe dọa tính mạng người bệnh [1]. Tần suất của bệnh trong dân số chỉ khoảng 2/1.000.000 người nhưng tỷ lệ tử vong rất cao, có thể tới 30% [2],[3],[4],[5]. Các thuốc hay gây SJS/TEN là allopurinol, carbamazepin, cotrimoxazol, abacavir [6],[7]. Khi thuốc có mặt trong cơ thể, triệu chứng xuất hiện đầu tiên là ban đỏ, ngứa, khu trú, sau đó lan rộng hơn, trợt da, hoại tử thượng bì, hình thành bong nước. Thương tổn niêm mạc (miệng, mắt, mũi, sinh dục, hậu môn) hay gặp. Ở niêm mạc mắt có thể để lại các di chứng như sẹo, dính kết mạc, loét giác mạc [8].

Đặc điểm sinh bệnh học chính của SJS/TEN là hiện tượng hoại tử, chết theo chương trình (CTCT) lan rộng của các tế bào keratin [9], quá trình được khởi động bởi các tế bào lympho T độc gây ra do thuốc [10],[11]. Sự trình diện thuốc giới hạn bởi phức hợp hòa hợp mô chủ yếu (major histocompatibility, MHC) hay kháng nguyên bạch cầu người (human leukocyte antigen, *HLA*) lớp I dẫn tới tăng sinh dòng TCD8+ [7], chúng sẽ xâm nhập vào da, sản xuất các yếu tố hòa tan làm cho các tế bào keratin CTCT [9],[12]. Các phân tử liên quan tới CTCT, bao gồm yếu tố hoại tử u anpha (TNF- α), interferon gamma (IFN- γ), nitric oxid (NO) cảm ứng, là cầu nối giữa đáp ứng miễn dịch gây ra do thuốc với thương tổn tế bào keratin [13],[14]. Các yếu tố như Fas phối tử (ligand) (FasL) hòa tan [15], perforin và granzym B [16] đều được nhân mạnh trong cơ chế CTCT của các tế bào keratin nhưng nghiên cứu gần đây nhất ủng hộ vai trò quan trọng của granulysin. Chung và cộng sự phát hiện nồng độ cao của granulysin 15-kDa

trong dịch bong nước bệnh nhân TEN, và khi tiêm chất này vào da chuột thì các tế bào keratin của chuột CTCT theo mô hình giống SJS/TEN [9].

Nhiều nghiên cứu chỉ ra mối liên quan giữa *HLA* lớp I và các phản ứng tăng nhạy cảm do thuốc (drug-induced hypersensitivity syndrome, DIHS) [7],[12],[17]. Ở các bệnh nhân SJS/TEN người Hán, có mối liên quan chặt chẽ giữa các chất thym chống động kinh như carbamazepin, phenytoin với *HLA-B*15:02* [18], giữa allopurinol với *HLA-B*58:01* [17],[19]. Ở Việt Nam, đã có nghiên cứu chứng tỏ mối liên quan giữa *HLA-B*58:01* với SCARs do allopurinol [20], giữa *HLA-B*15:02* với SCARs do carbamazepin [21]. Nhiều trường hợp SJS/TEN không rõ thuốc gây bệnh, một số bệnh nhân sử dụng thuốc bắc, thuốc nam, thuốc đông y [22],[23]. Thực tế, các thuốc đó gây SJS/TEN ở người này nhưng lại gây phản ứng thuốc dạng hồng ban đa dạng (erythema multiform, EM) hoặc DIHS ở người khác [7]. Điều này có thể phụ thuộc vào allele *HLA* của mỗi cá thể. Ngoài ra, đánh giá vai trò then chốt của một vài cytokin có thể giúp tiên lượng bệnh và hứa hẹn liệu pháp điều trị mới, ví dụ interleukin (IL)-17 [24], TNF- α [25] và yếu tố kích thích dòng bạch cầu hạt [26]. Các nghiên cứu ở Việt Nam chủ yếu liên quan tới đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng [22],[23],[27], ít nghiên cứu đi sâu vào các gen, phân tử và các cytokin đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài **“Xác định một số gen, phân tử có liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam”** với hai mục tiêu:

1. *Xác định một số gen (allele HLA-B) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam.*
2. *Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN.*

Chương 1

TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Khái niệm, thuật ngữ

Hội chứng Stevens-Johnson và TEN thuộc các phản ứng nặng do thuốc có biểu hiện ở da (SCARs). Trong nhóm SCARs, ngoài SJS/TEN còn có các thể dị ứng thuốc khác như hội chứng DRESS (drug reaction with eosinophilia and systemic symptoms-phản ứng do thuốc có tăng bạch cầu ái toan và các triệu chứng hệ thống), phát ban mụn mủ cấp tính lan tỏa (acute generalized exanthematous pustulosis, AGEP), DIHS, phát ban dạng dát, sẩn (maculopapular exanthema, MPE).

Trước đây, phân loại giữa EM, SJS và TEN vẫn chưa thống nhất do cơ chế bệnh sinh chưa rõ ràng. Có những ý kiến khác nhau trong chẩn đoán phân biệt EM thể nặng với SJS/TEN. Từ năm 1983, SJS được xem là đồng nghĩa với EM thể nặng, cả hai đều có thương tổn từ hai niêm mạc trở lên cùng với thương tổn da. Năm 1993-1994, Bastuji-Garin và Roujeau đề xuất sự khác nhau của hai bệnh dựa trên lâm sàng và căn nguyên gây bệnh. Trong EM thể nặng, có thương tổn niêm mạc, bọt nước, diện tích thương tổn da dưới 10% diện tích cơ thể. Nhưng khác với SJS, thương tổn da trong EM thể nặng là các hình bia bắn điển hình và/hoặc không điển hình nổi cao so với da lành, phân bố chủ yếu ở các chi. Hội chứng Stevens-Johnson có những bọt nước lan rộng do phản ứng thuốc, xuất hiện trên nền các ban đỏ, hoại tử và ngứa, tập trung chủ yếu ở mặt và thân mình. Về nguyên nhân, EM thường liên quan tới sự tái hoạt virus herpes simplex, hiếm khi do thuốc, SJS/TEN chủ yếu do thuốc, hiếm khi do nhiễm trùng [28],[29]. Có vài báo cáo về viêm miệng, niêm mạc do *Mycoplasma pneumoniae*, hầu hết ở người trẻ, đặc trưng bởi thương tổn niêm mạc là chính, rất ít hoặc không có thương tổn da. Thể này

được gọi là viêm miệng liên quan tới *Mycoplasma pneumoniae* (*Mycoplasma pneumoniae*-related mucositis, MPAM) [30]. Ngày nay, EM được xem như là một bệnh riêng biệt, tách khỏi nhóm SJS/TEN, với các đặc điểm lâm sàng, dịch tễ học và sinh bệnh học đặc thù. Do có mối tương đồng về đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và sự bóc tách, hoại tử thượng bì nên SJS và TEN được xếp vào một nhóm bệnh [2],[8], viết tắt là SJS/TEN.

Dựa trên diện tích bóc tách thượng bì (bọng nước, trợt da), Bastuji-Garin phân loại phổ bệnh SJS/TEN thành SJS, overlap SJS/TEN và TEN. Theo cách phân loại này, có bốn dưới nhóm như sau [1]:

- 1) SJS với thương tổn bóc tách thượng bì dưới 10% diện tích cơ thể, các dát đỏ, ngứa, hình bia bắn không điển hình bằng phẳng với da lành;
- 2) Overlap SJS/TEN với diện tích bóc tách thượng bì từ 10-30% với các dát đỏ, ngứa, hình bia bắn không điển hình bằng phẳng với da lành;
- 3) TEN với các điểm (spot) khi thương tổn bóc tách thượng bì trên 30% diện tích cơ thể, có các dát đỏ, ngứa lan rộng, dát vòng dạng hình bia bắn không điển hình;
- 4) TEN dạng mảng với thương tổn bóc tách thượng bì trên 30% diện tích cơ thể, không có các dát nhỏ riêng rẽ, không có hình bia bắn.

1.2. Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của SJS/TEN

1.2.1. Đặc điểm lâm sàng

1.2.1.1. Giai đoạn khởi phát

Hội chứng Stevens-Johnson và TEN diễn biến cấp tính, hoại tử thượng bì, viêm niêm mạc nhiều vị trí, kèm theo thay đổi toàn thân và các cơ quan khác [1],[8]. Nhìn chung, các triệu chứng đầu tiên là sốt, mệt mỏi, khó chịu ở đường hô hấp trên, xuất hiện trước thương tổn da, niêm mạc vài ngày [2],[8]. Thông thường, rất khó chẩn đoán dị ứng thuốc và tiên lượng khả năng tiến

triển sang SJS/TEN trong giai đoạn này. Nhiều bệnh nhân có thương tổn giống EM với các hình bia bắn không điển hình. Tuy nhiên, theo nghiên cứu của Abe, nồng độ granulysin huyết thanh đã tăng cao trong thời gian này, dựa vào đó có thể tiên lượng khả năng dị ứng thuốc thể SJS/TEN [31], giúp điều trị sớm, tránh biến chứng và giảm nguy cơ tử vong.

Thời gian từ khi dùng thuốc nghi ngờ gây dị ứng tới khi xuất hiện triệu chứng đầu tiên dao động rất khác nhau, có thể từ vài ngày tới hai tháng [8],[22]. Do đó, cần khai thác kỹ tất cả các thuốc bệnh nhân đã sử dụng trong vòng hai tháng trước đó, kể cả các thuốc không kê đơn và thực phẩm chức năng [8].

1.2.1.2. Giai đoạn toàn phát

Thương tổn da, niêm mạc

Thương tổn niêm mạc mắt có thể xuất hiện trước thương tổn da. Các biểu hiện bao gồm cảm giác khó chịu ở mắt và viêm kết mạc, củng mạc. Sau đó vài ngày, kết mạc mắt trở nên loét, trợt, rỉ dịch. Thương tổn niêm mạc mắt có thể xảy ra đồng thời với thương tổn niêm mạc miệng (trợt loét niêm mạc khoang miệng, môi, chảy máu) và niêm mạc sinh dục [8]. Theo nghiên cứu của Revuz, 97% bệnh nhân SJS/TEN có các thương tổn niêm mạc, trong đó, thương tổn niêm mạc miệng gặp ở 93% bệnh nhân, niêm mạc mắt 78%, niêm mạc sinh dục 63% và các niêm mạc khác 66% [32].

Đau da là một triệu chứng sớm trong SJS/TEN, sự có mặt của triệu chứng này báo hiệu biến cố hoại tử thượng bì [8]. Quan sát lâm sàng của Revuz và cộng sự cho thấy có nhiều loại thương tổn da với các mức độ khác nhau. Thương tổn xuất hiện sớm nhất là các hình bia bắn không điển hình và/hoặc các dát đỏ ngứa. Các vị trí xuất hiện thương tổn đầu tiên thường là nửa trên thân mình, đầu gần các chi và mặt. Sau đó, thương tổn lan ra các phần còn lại của thân mình và đầu xa các chi. Thương tổn lòng bàn tay, lòng bàn chân khá nổi bật. Nhiều bệnh nhân có triệu chứng đầu tiên là ban đỏ,

ngứa dữ dội hai lòng bàn tay. Trong các trường hợp nặng, ban đỏ có thể liên kết với nhau thành đám lớn. Da trở nên mềm, dễ bị tổn thương, một lực nhẹ có thể gây bong tách thượng bì (nghiệm pháp Nikolsky dương tính). Mặc dù không đặc hiệu cho SJS/TEN, dấu hiệu Nikolsky là chỉ điểm lâm sàng hữu ích cho hoại tử thượng bì. Thương tổn da lan rộng tối đa sau khởi phát 5-7 ngày. Các bọt nước nông xuất hiện khi mảng thượng bì hoại tử tách khỏi lớp da phía dưới. Hoại tử lan rộng làm bong tách các mảng thượng bì, để lại vùng trung bì hở, rỉ huyết thanh, dễ nhiễm trùng và chảy máu [26].

Thương tổn nội tạng

Có nhiều cơ quan bị ảnh hưởng trong SJS/TEN, hoại tử và trợt xảy ra ở cả kết mạc, khí quản, phế quản, thận và ruột. Đã có những báo cáo về suy thận cấp với tăng microalbumin niệu, các enzym ống thận trong nước tiểu, chúng tỏ có sự hủy hoại cầu thận và ống thận gần. Thế nhưng, mối liên quan trực tiếp giữa sự lan rộng của TEN và tình trạng microalbumin, enzym trong nước tiểu chưa được tìm thấy. Suy thận cấp trong TEN còn do các nguyên nhân khác như căng thẳng, giảm thể tích tuần hoàn và giảm cung lượng tim. Các thương tổn phổi, hô hấp bao gồm viêm khí phế quản, khí phế thũng dưới da, khó thở và suy hô hấp. Các biểu hiện toàn thân khác có thể gặp như thiếu máu, giảm bạch cầu, viêm gan, đau bụng, tiêu chảy, tăng men gan thoáng qua, giảm albumin máu, giảm natri máu và viêm cơ tim [8].



Ảnh 1.1. Bệnh nhân bị SJS do thuốc nam (nguồn: Trần Thị Huyền)



Ảnh 1.2. Các bệnh nhân bị TEN: chưa rõ nguyên nhân (ảnh trái) và do allopurinol (ảnh phải) (nguồn: Trần Thị Huyền)

1.2.2. Đặc điểm cận lâm sàng

1.2.2.1. Mô bệnh học SJS/TEN

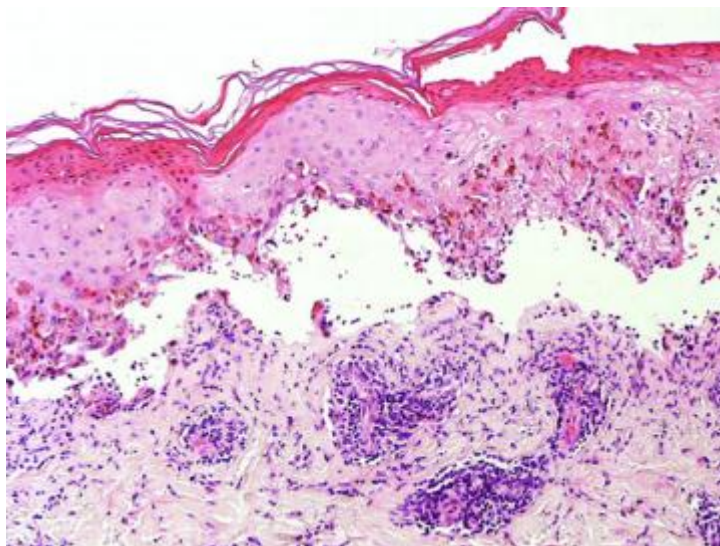
Chẩn đoán SJS/TEN chủ yếu dựa vào lâm sàng. Tuy vậy, sinh thiết da làm mô bệnh học là cần thiết để khẳng định thêm chẩn đoán và loại trừ các bệnh da bong nước khác [8]. Trên mô bệnh học, có nhiều mức độ tổn thương thượng bì khác nhau, các tế bào keratin bị hoại tử riêng rẽ hoặc thành mảng, hình thành các bong nước hoặc mụn nước dưới thượng bì. Các cấu trúc phụ như ống tuyến mồ hôi và nang lông có thể bị ảnh hưởng. Trung bì có hiện tượng xâm nhập viêm (chủ yếu quanh mạch) các lympho bào, mô bào và một số ít tế bào ưa acid [33]. Ngoài ra có thể có thoái hóa lỏng lẻo đáy, hiện tượng ly gai và xộp bào [34],[35]. Tùy theo từng giai đoạn của bệnh mà hình ảnh mô bệnh học có thể khác nhau.

- Ở giai đoạn sớm, hình ảnh mô bệnh học là từng nhóm tế bào keratin hoại tử, bắt màu hồng đồng nhất, xen kẽ với một số tế bào viêm (bạch cầu đơn nhân và bạch cầu đa nhân) [35],[36].

- Ở giai đoạn muộn và nặng, các tế bào keratin hoại tử nhiều hơn, tế bào biểu mô đáy thoái hoá lỏng dẫn đến hiện tượng tách thượng bì khỏi trung bì, toàn bộ các lớp tế bào keratin của thượng bì hoại tử, chỉ có lớp sừng còn nguyên vẹn. Ở một số trường hợp, lớp nông của thượng bì hoại tử nặng hơn các lớp sâu, tạo thành các khe ở giữa hai lớp của thượng bì [35],[36]. Bạch cầu đơn nhân và bạch cầu đa nhân trung tính có thể xâm nhập vào những vùng hoại tử [34],[35],[36].

Ở giai đoạn sớm của SJS/TEN, các tế bào keratin hoại tử rải rác ở lớp thấp của thượng bì, giống với hình ảnh trong EM thể nặng: các tế bào keratin hoại tử lan rộng với không bào tại vùng tiếp nối trung bì-thượng bì [2],[33]. Khi SJS/TEN đã rõ, toàn bộ lớp thượng bì hoại tử, hình thành bong nước dưới

thượng bì. Trong khi đó, ở EM thể nặng, thượng bì ít hoại tử hơn, sự thay đổi xảy ra chủ yếu ở lớp đáy. Tiêu chuẩn chẩn đoán của Nhật Bản cho rằng trong SJS/TEN có ít nhất 10 tế bào keratin hoại tử được nhìn thấy ở độ phóng đại 200x [37]. Ở trung bì nông, hiện tượng xâm nhập viêm quanh mạch và thoát bào (exocytosis) thường vắng mặt. Trong SJS/TEN, hiện tượng viêm ở trung bì (xâm nhập trung bì, thoát mạch hồng cầu) xảy ra ít hơn so với trong EM thể nặng [33]. Mức độ viêm tương quan với mức độ bệnh, số lượng các tế bào đơn nhân xâm nhập ở trung bì có giá trị tiên lượng giống như chỉ số SCORTEN (score for toxic epidermal necrolysis) đánh giá mức độ nặng của TEN [38].



Ảnh 1.3. Mô bệnh học của SJS/TEN: có nhiều tế bào keratin chết theo chương trình suốt chiều dày thượng bì, hình thành bọt nước dưới thượng bì. Ở trung bì có xâm nhập viêm của lympho bào quanh các mạch máu [8].

Xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang trực tiếp và gián tiếp giúp loại trừ các bệnh da bọt nước khác. Hình ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch cho thấy các tế bào viêm xâm nhập chủ yếu là lympho T mang CD4⁺ và CD8⁺ (CD: cluster of differentiation-dấu ấn biệt hóa) [9],[22].

1.2.2.2. Các xét nghiệm dị ứng, quá mẫn trong SJS/TEN

Để chẩn đoán nguyên nhân SJS/TEN, cần làm xét nghiệm dị ứng, miễn dịch xác định thuốc gây dị ứng. Vì cơ chế qua trung gian tế bào T đóng vai trò chính trong SJS/TEN, các phản ứng đặc hiệu với thuốc qua IgE không có giá trị. Các xét nghiệm phù hợp là phản ứng quá mẫn muộn type 4, đáng lưu ý có test áp da, phản ứng chuyển dạng lympho bào (lymphocyte transformation test-LTT), đo nồng độ các cytokin được lympho bào sản xuất khi có tác dụng của thuốc. Dùng nhắc lại thuốc nghi ngờ gây dị ứng không được khuyến cáo vì nguy hiểm và vi phạm đạo đức [8].

Test áp da

Theo nghiên cứu của Wolkenstein, trong 22 bệnh nhân SJS/TEN được làm test áp da, chỉ 9% cho kết quả dương tính [39]. Nghiên cứu khác của Lin cho thấy tỷ lệ test áp da dương tính với carbamazepin là 62% trong số các bệnh nhân SJS/TEN do carbamazepin, nhóm chứng có tỷ lệ dương tính là 0%, phản ứng chéo với các chất thơm khác cũng được ghi nhận [40]. Nghiên cứu đa trung tâm ở Pháp trên 17 bệnh nhân SJS/TEN cho thấy tỷ lệ test áp da dương tính là 23% (4/17), tỷ lệ dương tính ở 5 bệnh nhân dùng carbamazepin là 0% [41].

Phản ứng chuyển dạng lympho bào

Sự biệt hóa của các tế bào lympho, được đo lường bằng sự tăng 3H-thymidin trong phân chia tế bào, liên quan tới LTT. Sự khác nhau về chuẩn phương pháp gây khó khăn trong giải thích kết quả. Nhìn chung, nhiều báo cáo cho thấy phản ứng này có tính đặc hiệu thấp. Tỷ lệ dương tính từ 75% tới 100% trong các trường hợp SJS [42],[43]. Các nghiên cứu này không có nhóm chứng. Nghiên cứu của Kano cho thấy trong hai trường hợp SJS, LTT dương tính trong pha cấp của dị ứng và yếu đi sau hai tháng [44]. Nghiên cứu của Tang cho thấy LTT không có giá trị trong các trường hợp SJS/TEN do lamotrigin, chỉ có 21% bệnh nhân có kết quả dương tính (3/14) [45].

Nghiên cứu của Roujeau về 11 bệnh nhân TEN được làm LTT sau một tháng khỏi bệnh cho thấy có 44% các trường hợp LTT dương tính với thuốc nghi ngờ, nhóm chứng cũng có tỷ lệ dương tính tương tự [46]. Tác giả kết luận rằng LTT không hữu ích trong SJS/TEN. Nhưng một số nghiên cứu khác cho kết quả dương tính ở nhóm chứng chỉ là 15% và 0% [47],[48]. Trong chuỗi bệnh EM/SJS/TEN, Polak chứng minh tỷ lệ LTT dương tính là 55%, trong khi đó, tỷ lệ dương tính giả là 4,9%, chuỗi khác có tỷ lệ dương tính là 27% [49]. Nghiên cứu mới đây cho rằng khi chẹn các phân tử ức chế sự biệt hóa lympho T trong LTT có thể làm tăng tỷ lệ dương tính từ 32% tới 50% [50].

Do khía cạnh đạo đức, không có thử nghiệm dùng lại thuốc nghi ngờ gây dị ứng ở bệnh nhân SJS/TEN. Do đó, với các xét nghiệm trên, độ nhạy thực sự chưa được biết tới, khả năng dương tính giả, âm tính giả vẫn còn. Xét nghiệm chẩn đoán thuốc dị ứng đường như không cần thiết trong trường hợp bệnh nhân chỉ dùng một loại thuốc [8].

1.2.2.3. Các xét nghiệm vi sinh vật

Huyết thanh chẩn đoán *Mycoplasma pneumoniae*, virus herpes simplex, Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, ... để loại trừ nguyên nhân loét miệng và thương tổn da do vi sinh vật [2],[8].

1.2.2.4. Các xét nghiệm sinh hóa, huyết học

Trong SJS/TEN, xét nghiệm công thức máu có thể bình thường hoặc có các rối loạn như tăng bạch cầu, giảm bạch cầu, thiếu máu. Nhiều bệnh nhân có tình trạng tăng men gan thoáng qua, tăng ure, creatinin, bicarbonat máu, đường máu, protein C phản ứng (CRP), procalcitonin.

1.2.3. **Tiền lượng và biến chứng**

1.2.3.1. Các yếu tố tiên lượng

Trong các trường hợp SJS/TEN mức độ nặng, các rối loạn toàn thân cấp tính có thể dẫn tới suy yếu nhiều cơ quan, gây tử vong. Năm 2000, Bastuji-

Garin và cộng sự công bố thang điểm có giá trị tiên lượng SJS/TEN, gọi là SCORTEN, sử dụng bảy yếu tố lâm sàng để tiên đoán khả năng tử vong trong bệnh viện. Mỗi yếu tố có giá trị một điểm, tổng số điểm càng cao thì nguy cơ tử vong càng cao [51]. Một số nghiên cứu cho thấy điểm SCORTEN tăng từ từ trong quá trình bệnh nhân nhập viện, sự thay đổi có ý nghĩa được quan sát vào ngày thứ nhất và ngày thứ tư [52].

Bảng 1.1. Bảng điểm SCORTEN [8]

TT	Yếu tố nguy cơ	Điểm 0	Điểm 1
1	Tuổi	< 40	≥ 40
2	Mắc bệnh ác tính	Không	Có
3	Nhịp tim (lần/phút)	< 120	≥ 120
4	Diện tích da bị trợt loét	< 10%	$\geq 10\%$
5	Ure máu (mmol/l)	≤ 10	> 10
6	Đường máu (mmol/l)	≤ 14	> 14
7	Bicarbonat máu (mmol/l)	≥ 20	< 20
Điểm SCORTEN tối đa			7 điểm

Nguy cơ tử vong theo điểm: 0-1 điểm: 3,2%; 2 điểm 12,1%; 3 điểm 35,3%; 4 điểm 58,3%, 5-7 điểm: 90% [8].

1.2.3.2. Các biến chứng

Là bệnh có nguy cơ tử vong cao nhưng nếu được xử trí, điều trị kịp thời, SJS/TEN có thể được chữa khỏi. Tuy nhiên, cần lưu ý các biến chứng nội tạng (gan, thận), biến chứng mắt, thay đổi sắc tố da sau bệnh cũng như sang chấn tâm lý của người bệnh. Trong số đó, biến chứng về mắt được lưu ý nhiều nhất, với các mức độ khác nhau. Mức độ nhẹ có phù mí mắt, viêm kết mạc;

mức độ trung bình có viêm kết mạc màng, mất biểu mô giác mạc, loét giác mạc, thâm nhiễm giác mạc; mức độ nặng có mất biểu mô giác mạc không hồi phục, mất thị lực [8].

1.3. Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN

1.3.1. Nguyên nhân

1.3.1.1. Tác nhân vi sinh vật

Một số vi sinh vật được xem là nguyên nhân gây SJS/TEN. Ví dụ, SJS/TEN xảy ra sau khi tiêm vaccin thủy đậu, sởi [53], nhiễm khuẩn *Mycoplasma pneumoniae* [54], virus dengue [55], liên quan tới tái hoạt cytomegalovirus [56]. Các nguyên nhân khác bao gồm tiêm huyết thanh, phản ứng thải bỏ mảnh ghép của vật chủ [7]. Nghiên cứu gần đây của Chung cho thấy một biến thể mới của *Coxsackievirus A6* có thể gây nên phản ứng bong nước nặng ở niêm mạc, chủ yếu qua trung gian tế bào lympho T và tế bào diệt tự nhiên (NK) có bộc lộ granulysin. Các triệu chứng lâm sàng ở nhóm bệnh nhân đó giống với EM thể nặng hoặc SJS [57]. Một ví dụ kinh điển về vai trò của virus đối với phản ứng thuốc: trong DIHS, HHV6 (human herpes virus) đóng vai trò quan trọng. Sự tái hoạt HHV6 ở bệnh nhân DIHS có thể làm tăng hoạt tính tế bào T sau khi khởi phát phản ứng thuốc. Trong một nghiên cứu ở Nhật Bản, Yoshikawa chứng minh rằng sự tái hoạt HHV6 gây tổng hợp các cytokin tiền viêm bao gồm TNF- α và IL-6 có khả năng điều hòa đáp ứng qua trung gian tế bào T [58]. Yếu tố nguy cơ từ nhiễm virus trong SJS/TEN cần được nghiên cứu làm sáng tỏ hơn.

1.3.1.2. Nguyên nhân do thuốc

Đa số các trường hợp SJS/TEN liên quan tới quá mẫn do thuốc. Một số nghiên cứu cho thấy ở những người bị nhiễm HIV, tần suất bệnh khoảng 1/1.000, cao gấp nghìn lần so với quần thể không mắc HIV [2]. Ở vùng hạ Sahara châu Phi, nơi có tỷ lệ lưu hành HIV cao, có mối liên quan giữa

SJS/TEN và HIV do sử dụng thuốc kháng virus, thuốc chống lao [59]. Các thuốc hay gây SJS/TEN là nevirapin, lamotrigin, carbamazepin, phenytoin, phenobarbital, cotrimoxazol, sulfonamid, sulfasalazin, allopurinol và các thuốc chống viêm không steroid (nhóm oxicam) [2],[6]. Các thuốc khác ít gặp hơn là aminopenicillin, cephalosporin, quinolon. TEN thường xảy ra sau dùng thuốc 7 ngày-8 tuần, thời gian khởi phát trung bình là 6 ngày-2 tuần. Khi dùng thuốc lần thứ hai, TEN có thể xuất hiện trong vòng vài giờ [2],[8].

Sassolas và cộng sự phát triển bảng điểm xác định thuốc gây hoại tử thượng bì, trong đó bao gồm SJS/TEN (algorithm for drug causality for epidermal necrolysis-ALDEN) [6]. Bảng điểm này đánh giá mỗi thuốc có điểm từ -12 tới 10 dựa trên 6 tiêu chí: (1) thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát; (2) sự có mặt của thuốc trong cơ thể vào ngày khởi phát; (3) dùng thuốc trước đó hoặc dùng nhắc lại; (4) sự có mặt của thuốc ngoài pha tiến triển của bệnh; (5) tần suất gây dị ứng của thuốc theo các nghiên cứu trước; (6) có hoặc không có các nguyên nhân khác. Các khả năng gây dị ứng được đưa ra dựa trên điểm tổng như sau: ≥ 6 : rất có khả năng; 4-5: có khả năng; 2-3: có thể; 0-1: không thể; < 0 : rất không thể (bảng 2.1) [6].

1.3.1.3. Các yếu tố nguy cơ khác

Hội chứng Stevens-Johnson và TEN có tần suất gặp ở nam và nữ như nhau. Tần suất bị bệnh tăng lên theo tuổi, cao nhất ở những người ngoài 50 tuổi. Trong quần thể những người sống chung với HIV/AIDS, tần suất bị SJS/TEN cao hơn so với dân cư nói chung [2].

1.3.2. Cơ chế bệnh sinh

Trong SJS/TEN, tế bào keratin bị hoại tử theo các mức độ khác nhau. Cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN liên quan tới cơ chế gây chết các tế bào keratin [9],[14],[60]. Các tế bào này CTCT hoặc hoại tử theo chương trình

(HTTCT), làm toàn bộ cấu trúc thượng bì hoại tử, bóc tách, hình thành bọt nước, và sau đó là quá trình tái tạo thượng bì (TTTB) [9],[60].

1.3.2.1. Cơ chế miễn dịch trong SJS/TEN

Vai trò của các tế bào TCD8⁺, TCD4⁺, tế bào diệt tự nhiên (natural killer, NK) và đại thực bào

Hoại tử thượng bì nhiễm độc là bệnh qua trung gian tế bào T, các lympho TCD8⁺ được tìm thấy trong dịch bọt nước [10],[11],[36], quanh mạch máu ở trung bì nông [2],[61]. Lympho TCD8⁺ cùng với các tế bào NK được xem là tác nhân chính làm các tế bào keratin CTCT [10],[11],[36]. Lympho TCD4⁺ và các tế bào miễn dịch khác như tế bào tua gai, tế bào mast cũng đóng vai trò quan trọng trong TEN [2]. Caproni nghiên cứu về sự xâm nhập tế bào ở da các bệnh nhân TEN cho thấy có mật độ lớn các tế bào bắt màu nhuộm của CD40 ligand (CD40L) ở trung bì, một số xâm nhập lên thượng bì [61]. CD40L là một phân tử được bộc lộ trên bề mặt của các tế bào TCD4⁺ hoạt hóa, và là yếu tố đồng kích thích của đại thực bào, tế bào tua gai, lympho B, tế bào nội mô, dẫn tới giải phóng TNF- α , nitric oxid (NO), IL-8 và các phân tử kết dính tế bào. CD40L hòa tan tăng trong huyết thanh của bệnh nhân TEN. Dòng TCD4⁺ trong thượng bì và trung bì của bệnh nhân TEN có sự cân bằng giữa Th1 và Th2 cũng như nồng độ cytokin từ hai loại tế bào này [62].

Đại thực bào, bạch cầu trung tính, tế bào NK cũng tham gia trong cơ chế bệnh sinh của TEN, các nghiên cứu cho thấy đại thực bào xâm nhập với số lượng ưu thế trong các mẫu da [61],[63]. Tohyama ghi nhận sự có mặt của các tế bào mono CD14⁺CD16⁺ trong thượng bì và vùng tiếp nối thượng bì-trung bì ở thương tổn da bệnh nhân SJS/TEN. Điều này củng cố thêm cho sự tăng sinh và tính gây độc của lympho TCD8⁺ thông qua hệ thống CD137/CD137L [64]. Bạch cầu mono và đại thực bào góp phần vào quá trình

CTCT thông qua sản xuất TNF- α , các phối tử (ligand) gây CTCT liên quan tới TNF [64]. Bạch cầu trung tính và yếu tố XIIIa⁺ của tế bào đuôi gai cũng được tìm thấy trong các mẫu da này nhưng vai trò của chúng trong TEN chưa được sáng tỏ [38], [61],[63]. Các tế bào NK có mặt trong dịch bọt nước cùng với các tế bào T ly giải có độc tính cao, bộc lộ thụ thể CD56 của tế bào NK. Cả hai loại tế bào này được xem là tác nhân chính gây CTCT tế bào keratin [10]. Vai trò quan trọng của lympho TCD8⁺ trong cơ chế bệnh sinh của TEN gần đây được chứng minh với sự xuất hiện mô hình TEN ở chuột, có xu hướng giống ở người. Kết quả này mở ra tiềm năng lớn trong các nghiên cứu về chẩn đoán và liệu pháp điều trị [65].

Vai trò của các tế bào T điều hòa (Treg)

Các tế bào T tăng hoạt động do giảm chức năng tế bào T điều hòa (Treg) và sự điều hòa ngược bởi các tế bào đơn nhân. Bản thân tế bào TCD8⁺ không đặc hiệu cho TEN, nó còn có mặt trong các phản ứng do thuốc khác. Chức năng của Treg trong gia tăng hoạt động của TCD8⁺ là một yếu tố quan trọng trong TEN, gây thương tổn thượng bì. Cơ chế làm suy giảm chức năng của Treg vẫn chưa rõ, nhưng sự mất ức chế TCD8⁺ đã được ghi nhận. Các tế bào Treg từ máu ngoại vi của bệnh nhân TEN không ức chế các tế bào T. Số lượng tế bào Treg ở bệnh nhân TEN không khác so với người bình thường, nhưng chức năng của chúng bị suy yếu trong giai đoạn cấp của TEN [66].

Tế bào Th17

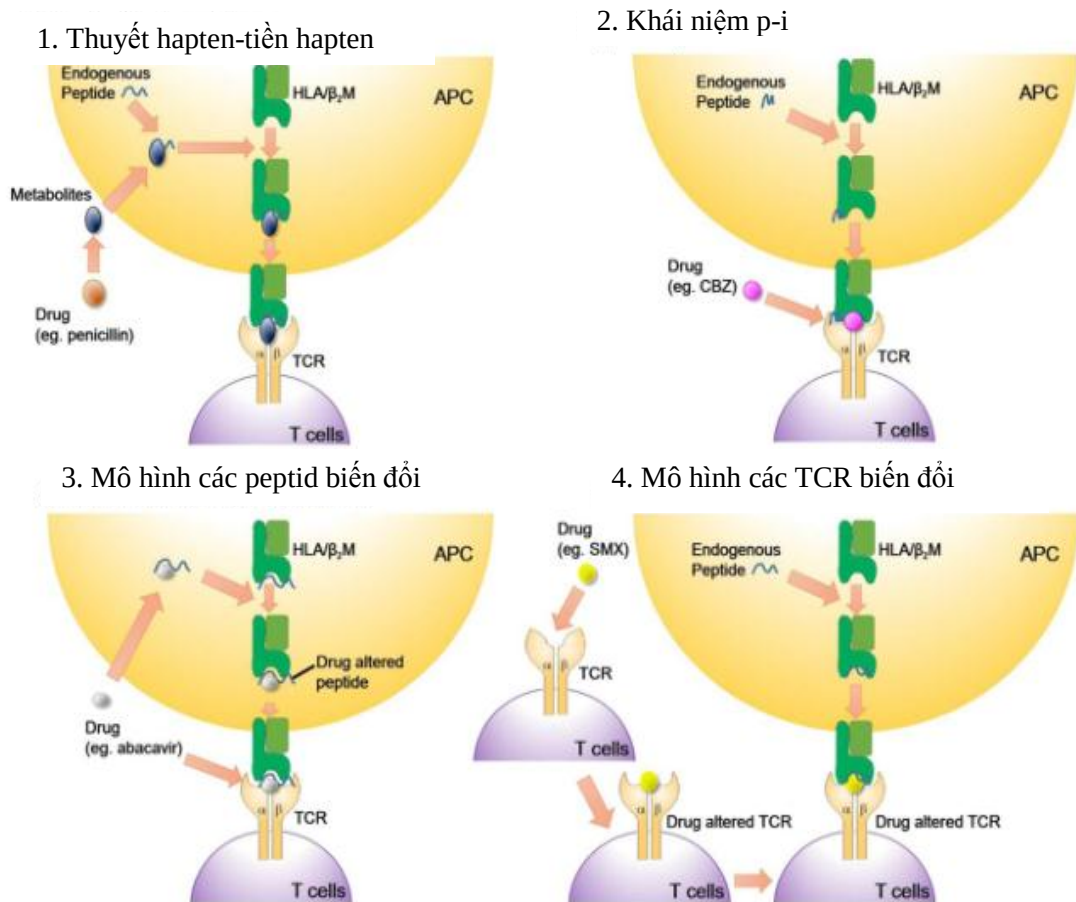
Tế bào Th17 là dưới type của tế bào TCD4⁺, có mặt trong SJS/TEN với tỷ lệ cao hơn so với dị ứng thuốc thể dát, sản từ ngày thứ 2-6 sau khởi phát, sản xuất IL-17 và IL-22. Ở các bệnh nhân SJS/TEN, có nhiều tế bào TCD4⁺ sản xuất IL-17 hơn so với bệnh nhân EM và người khỏe mạnh. Khi bệnh cải

thiện, số lượng tế bào Th17 giảm xuống. Chúng có thể điều hòa sự huy động bạch cầu trung tính và các bạch cầu viêm khác, gây viêm và tổn thương da. Hơn nữa, sự giảm bạch cầu trung tính, một nguyên nhân gây tử vong trong TEN, có thể do tác động của Th17 [66].

Cơ chế gây hoạt hóa tế bào T trong TEN

Cơ chế gây hoạt hóa tế bào T trong TEN đã và đang được nghiên cứu. Có hai thuyết chính giải thích cho điều này: tương tác dược lý (pharmacology) của thuốc với hệ miễn dịch (immunology) (khái niệm p-i) và khái niệm tiền hapten (pro-hapten). Ngoài ra còn có thuyết mô hình các peptid biến đổi và mô hình các thụ thể tế bào T (T-cell receptor, TCR) biến đổi [7]. Trong khái niệm tiền hapten, thuốc được biến đổi thành các chất chuyển hóa (metabolite), gắn đồng hóa trị vào các peptid tế bào, tạo thành phân tử miễn dịch có khả năng kích thích hệ thống miễn dịch. Khái niệm p-i khẳng định một thuốc có thể kích thích hệ miễn dịch bằng cách gắn không hóa trị trực tiếp vào *HLA* đặc hiệu và TCR, như thể thuốc gắn vào các đích dược lý của nó. Trong mô hình này, ái lực của thuốc với phân tử *HLA* và TCR có thể chỉ gây ra đáp ứng tế bào T, giải thích sự vắng bóng của tế bào B trong TEN [67]. Sulfamethoxazol (SMX) và abacavir được nghiên cứu để xác định thuyết nào hoạt hóa tế bào T, tuy nhiên, vẫn chưa có câu trả lời thích đáng. Castrejon lấy các tế bào lympho từ các bệnh nhân có phản ứng tăng nhạy cảm với SMX, bao gồm một người từng bị SJS, và thấy rằng sự lan rộng của dòng tế bào T gây ra bởi SMX xảy ra độc lập với các tế bào trình diện kháng nguyên (antigen presenting cell, APC), khẳng định SMX có thể gắn trực tiếp vào phân tử *HLA* và TCR để hoạt hóa tế bào T. Nghiên cứu này cũng cho rằng chất chuyển hóa của SMX không có khả năng gây tăng sinh tế bào T khi các APC được ủ với glutathion và glutaraldehyd (các chất ức chế trình diện kháng

nguyên), củng cố giả thuyết SMX kích thích tế bào T bằng cách hoạt hóa như một tiền hapten [68]. Ngoài ra, nghiên cứu về tăng nhạy cảm do abacavir chỉ ra rằng sự tăng sinh lympho TCD8⁺ bị ngăn chặn khi quá trình sinh kháng nguyên do APC bị ức chế và do cách sử dụng APC thiếu hụt trong con đường trình diện kháng nguyên cho phân tử *HLA*. Điều này ủng hộ vai trò của khái niệm tiền hapten trong sự hoạt hóa tế bào T gây ra bởi abacavir [69].



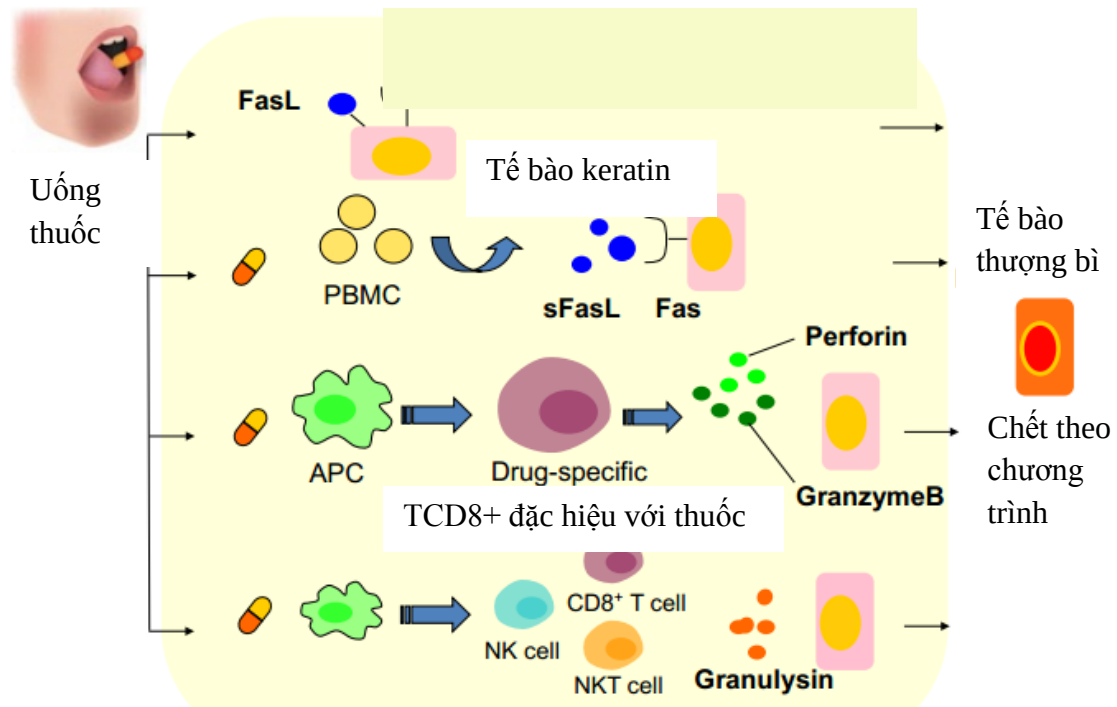
Hình 1.1. Các cơ chế gây hoạt hóa tế bào T trong SJS/TEN [7]

Hình 1). Thuyết hapten-tiền hapten. Hình 2). Khái niệm p-i. Hình 3). Mô hình các peptid biến đổi (altered peptide repertoire model): thuốc gắn với peptid biến đổi đặc hiệu mà không gắn trực tiếp vào *HLA*, và rồi tương tác với TCR để khởi động hoạt hóa lympho T đặc hiệu với thuốc. Hình 4). Mô hình các TCR biến đổi: thuốc gắn vào TCR, làm thay đổi cấu tạo TCR, giúp nó có

khả năng gắn vào một *HLA* tự có chức năng như một peptid, sinh ra đáp ứng miễn dịch [7].

1.3.2.2. Cơ chế gây chết các tế bào keratin trong SJS/TEN

a) Cơ chế gây chết theo chương trình các tế bào keratin



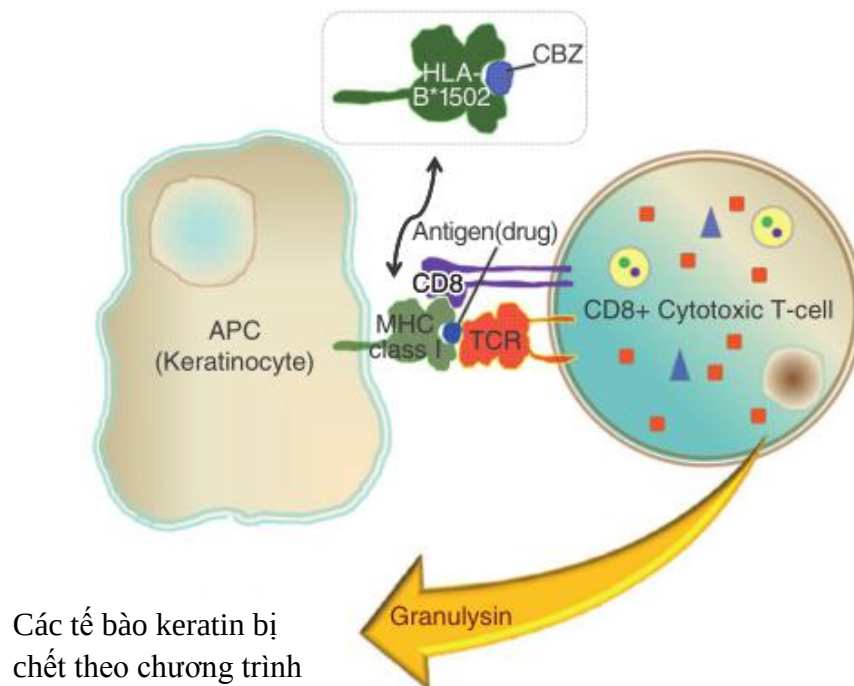
Hình 1.2. Cơ chế gây chết theo chương trình các tế bào keratin [15]

Trong SJS/TEN, các tế bào keratin bị hoại tử hàng loạt, trên diện rộng. Nguyên nhân chủ yếu là do cơ chế CTCT. Có nhiều protein gây độc và các phân tử tham gia khởi động CTCT trong SJS/TEN, trong đó granulysin được chứng minh đóng vai trò chính. Các yếu tố khác bao gồm FasL, TNF- α , perforin, granzym B và NO cũng có vai trò nhất định [2],[9],[16].

Granulysin

Granulysin là một phân tử được tìm thấy trong các hạt của các tế bào gây độc (cùng với granzym B và perforin) như TCD8⁺, NK và tế bào NKT

(natural killer T cell), nó đóng vai trò như chất diệt khối u và diệt vi khuẩn. Khi có sự tương tác giữa thuốc với *HLA* đặc hiệu và TCR của TCD8+, granulysin được giải phóng từ các hạt của TCD8+, gây CTCT các tế bào keratin (hình 1.3). Granulysin có khả năng cắt qua màng tế bào đích, gây mất cân bằng ion, làm cho ty thể bị tổn thương, giải phóng các chất oxy hóa và dòng thác caspase, làm tế bào CTCT (hình 1.4) [70].

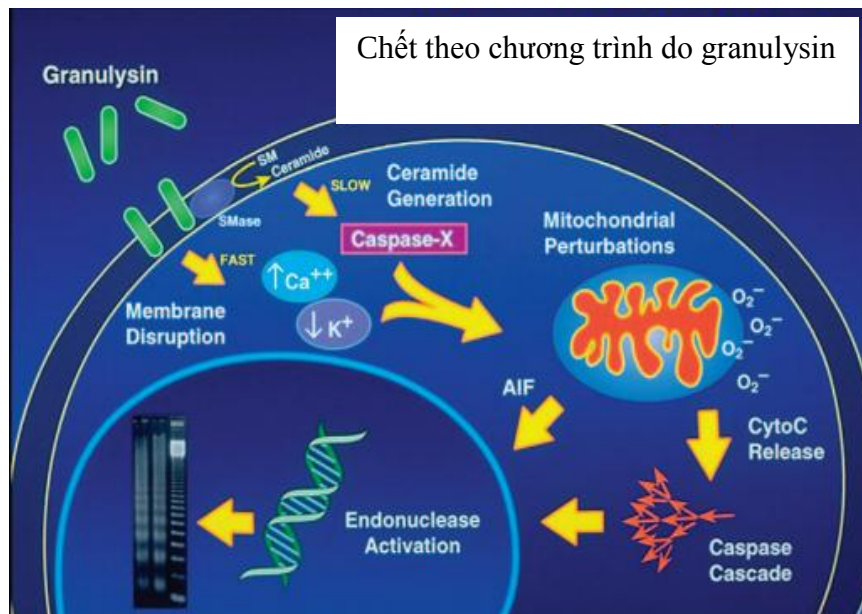


Hình 1.3. Mô hình các tế bào keratin chết theo chương trình do tương tác ở synap miễn dịch của phức hợp thuốc-HLA-TCR [71]

Chú thích: APC: tế bào trình diện kháng nguyên, CBZ: carbamazepin, MHC: phức hợp hòa hợp mô chủ yếu, TCR: thụ thể của tế bào T.

Để nghiên cứu vai trò của granulysin trong TEN, Chung và cộng sự so sánh sự bộc lộ gen của các tế bào dịch bọt nước. Kết quả cho thấy sự bộc lộ gen granulysin của tế bào bọt nước tăng 10-20 lần, granzym B tăng 8 lần, perforin tăng 3 lần, FasL huyết thanh tăng 2 lần [9]. Khi đo nồng độ granulysin trong dịch bọt nước theo mô hình tương tự, nồng độ granulysin

cao gấp 2-4 lần so với perforin, granzym B và FasL hòa tan, có tương quan với mức độ nặng của bệnh. Khi nhuộm hóa mô miễn dịch, mảnh da của người bệnh TEN bắt màu granulysin mạnh, còn mảnh da của người bệnh dị ứng thuốc thể thông thường (ordinary drug skin reaction-ODSR) bắt màu yếu [9]. Abe chỉ ra rằng nồng độ huyết thanh của granulysin tăng lên ở 4 trong số 5 bệnh nhân SJS/TEN trước khi có bóc tách thượng bì hoặc có thương tổn niêm mạc. Trong khi đó, nồng độ này chỉ tăng lên ở 1 trong 24 bệnh nhân ODSR [31]. Những nghiên cứu trên chứng minh rằng granulysin là tác nhân quan trọng gây CTCT trong TEN, nó cũng là dấu ấn để chẩn đoán sớm và tiên lượng mức độ bệnh [9],[31],[72].



Hình 1.4. Cơ chế chết theo chương trình do granulysin [70]

Fas-FasL

FasL là một protein xuyên màng thuộc họ TNF, có trên bề mặt của các tế bào T độc, tế bào NK. Khi các tế bào này hoạt hóa, FasL được bộc lộ, gắn vào thụ thể của nó trên tế bào đích, hoạt hóa caspase nội bào, dẫn tới phá hủy không kiểm soát tế bào đích. Ngoài ra, Fas có thể tách ra khỏi màng tế bào

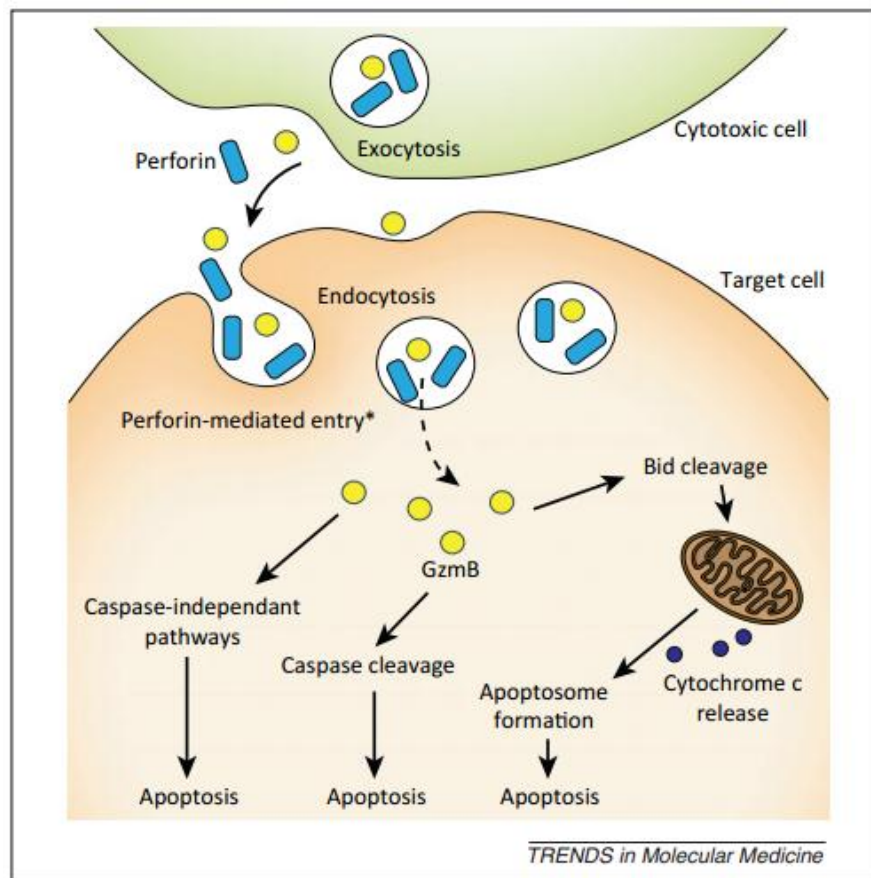
bằng men metalloproteinase, sinh ra các Fas hòa tan từ FasL, vẫn duy trì khả năng gắn vào các thụ thể Fas, gây CTCT [2],[15].

Thụ thể của Fas có một vùng gồm các cystein lặp lại và một vùng gồm 80 amino acid trong phần nội bào, đồng nhất với vùng ở TNF-R1, được đặt tên là vùng chết (death domain). Vùng này cần thiết cho Fas gây CTCT. Các đột biến ở vùng này phá hủy cảm ứng CTCT. Phối tử (ligand) vật lý duy nhất của Fas được biết tới là FasL (CD95L), thuộc họ cytokin liên quan tới TNF. Giống các thành viên họ hàng, FasL được tổng hợp dưới dạng xuyên màng và dạng hòa tan trimer, nhờ enzym metalloprotease. Tín hiệu Fas đóng vai trò quyết định trong cân bằng nội mô tế bào lympho. Hoạt hóa lặp lại các thụ thể kháng nguyên trên tế bào T gây bộc lộ FasL, dẫn tới CTCT qua tín hiệu Fas. Khi quá trình này bị lỗi, do đột biến ở Fas hoặc FasL, gây ra bệnh u lympho và bệnh tự miễn [73]. FasL gây CTCT bằng cách gắn vào thụ thể Fas, gây hoạt hóa các caspase. Fas bộc lộ chính trên các lympho T hoạt hóa và tế bào NK. Viard cho thấy FasL còn bộc lộ trên các tế bào keratin trong thương tổn TEN [74]. Nồng độ sFasL huyết thanh tăng ở các bệnh nhân SJS/TEN trước khi có bóc tách da, thương tổn niêm mạc hoặc cả hai [75].

Granzym B và perforin

Granzym B và perforin có vai trò trong CTCT của tế bào keratin và tế bào nội mô. Các tế bào T độc, một khi đã được hoạt hóa, sẽ tiết ra perforin và granzym B, tạo các kênh trên màng tế bào đích và hoạt hóa caspase gây CTCT (hình 1.5) [2]. Trong các nghiên cứu về TEN, các tế bào đơn nhân từ dịch bọt nước gây CTCT khi có mặt của các kháng thể kháng Fas, nhưng không gây CTCT khi có mặt của các yếu tố ức chế perforin/granzym B, chứng tỏ perforin/granzym B là tác nhân gây CTCT [10],[11],[15]. Nồng độ của các phân tử này tương quan với mức độ nặng của dị ứng thuốc. Do đó, xét nghiệm perforin và granzym B có thể giúp phân biệt TEN với các phản ứng dị

ứng thuốc khác [16]. Các nghiên cứu gần đây trên mẫu sinh thiết da của bệnh nhân TEN cho thấy các tế bào nội mô bị CTCT, hình ảnh nhuộm hóa mô miễn dịch bộc lộ granzym B và TNF- α ở xung quanh các mạch máu của trung bì. Tuy không được tìm thấy trên các mẫu sinh thiết nhưng chưa loại trừ được khả năng FasL hòa tan là nguyên nhân gây CTCT các tế bào nội mô. Lý do là vì các mẫu sinh thiết được lấy sau khởi phát bệnh 2-4 ngày, khi đó nồng độ FasL hòa tan đã giảm nhiều [76],[77].



Hình 1.5. Con đường độc tế bào thông qua granzym B-perforin [78]

Các yếu tố khác

Các phân tử, cytokin khác như TNF- α và NO có vai trò nhất định trong CTCT. TNF- α tác động lên “thụ thể chết” TNF-R1, gây hoạt hóa các caspase, làm chết tế bào. TNF- α tăng trong dịch bọt nước, da và huyết thanh của bệnh

nhân TEN. Mặc dù vậy, vai trò của nó chưa rõ ràng. Ngoài khả năng gây CTCT, TNF- α còn có vai trò bảo vệ bằng cách hoạt hóa con đường kháng CTCT với yếu tố nhân kappaB (nuclear factor-kappaB, NF- κ B). Điều này có thể giải thích vì sao tỷ lệ chết của TEN tăng lên khi điều trị với thuốc kháng TNF- α (thalidomid) [4]. NO gây CTCT thông qua tác động lên gen *p53*. Các mẫu da trước khi có bọng nước của bệnh nhân SJS/TEN tăng enzym kích thích tổng hợp NO (inducible NO synthase, iNOS). IFN- α và TNF- α được tiết ra từ các tế bào T hoạt hóa có thể gây bộc lộ iNOS, điều hòa ngược FasL phụ thuộc NO, đặc biệt là CTCT ở các tế bào keratin. Như vậy, IFN- α , TNF- α và iNOS là những cầu nối phân tử tiềm năng giữa phản ứng miễn dịch với thuốc và sự bộc lộ của các phân tử tiền CTCT (proapoptotic molecule). Sự kết hợp của IFN- α , NO và sự gia tăng các gốc oxy hoạt hóa gây ra các sang chấn (stress) oxy hóa, gián đoạn bộ máy nội bào, màng tế bào, dẫn tới CTCT [2].

b) Hoại tử theo chương trình (necroptosis)

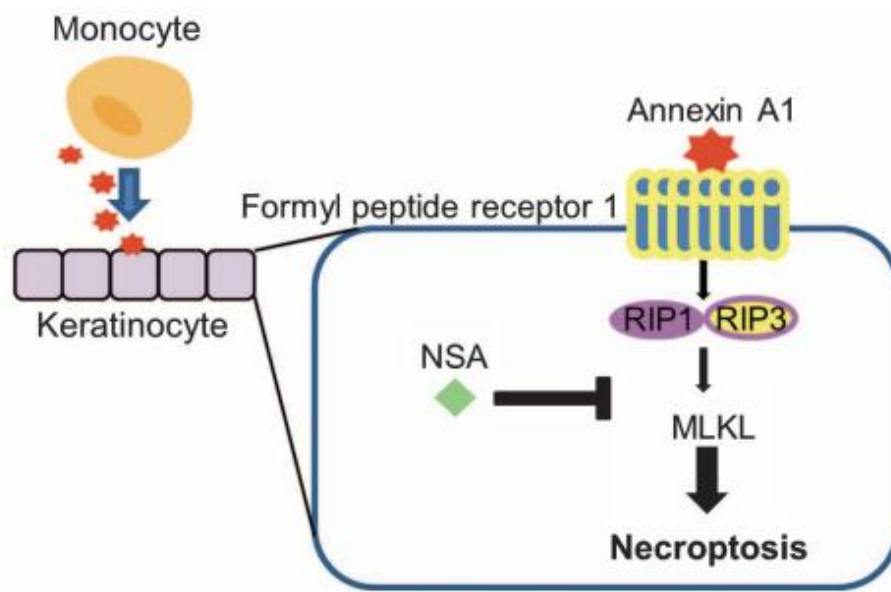
Chết theo chương trình là một dạng chết được lên chương trình, tế bào co lại, nhân ngưng tụ, màng nhô ra. Hoại tử là tế bào chết do bị chấn thương, nhồi máu, tế bào sưng lên, vỡ vụn. Các nghiên cứu cho thấy CTCT phụ thuộc vào sự hoạt động của một hay nhiều thành viên họ cysteine protease, được gọi là caspase. Caspase giúp lan truyền tín hiệu CTCT bằng cách cắt các chìa khóa ở bề mặt, thu dọn có tổ chức các tế bào chết. Các kích thích gây CTCT còn làm cho các tế bào chết theo cách độc lập với caspase, hình thái tế bào biến đổi giống hoại tử. Men RIPK (receptor-interacting serine/threonine protein kinase), vốn có vai trò trong sự sống còn của tế bào, quá trình viêm và CTCT, lại đóng vai trò chính trong cơ chế chết tế bào này. Quá trình tế bào chết giống với hoại tử nhưng được điều hòa bởi một chương trình nội bào đặc hiệu được gọi là hoại tử theo chương trình (HTTCT) [79].

Các nghiên cứu thực nghiệm của Saito và cộng sự cho thấy CTCT không phải là cơ chế duy nhất gây chết tế bào keratin trong SJS/TEN. Khi cho chất ức chế pan-caspase vào dịch nuôi cấy (supernatant) các tế bào đơn nhân máu ngoại vi (peripheral blood mononuclear cells, PBMC) của bệnh nhân SJS/TEN, ủ với các tế bào keratin, quá trình chết tế bào keratin vẫn xảy ra. Như vậy, trong dịch nuôi cấy PBMC của bệnh nhân SJS/TEN có chứa phân tử đặc hiệu gây chết các tế bào keratin, quá trình này độc lập với cơ chế CTCT. Các tác giả phát hiện nồng độ protein annexin A1 trong dịch nuôi cấy PBMC bệnh nhân SJS/TEN cao hơn một cách có ý nghĩa so với bệnh nhân ODSR. Kháng thể kháng annexin A1 có tác dụng ngăn cản tế bào keratin bị chết [60].

Annexin A1 là một thành viên của gia đình gồm 13 protein annexin, nó gắn vào acidic phospholipid với ái lực cao khi có ion Ca^{2+} . Ở trạng thái nghỉ, bạch cầu trung tính, bạch cầu đơn nhân, đại thực bào chứa nồng độ cao annexin A1 trong bào tương. Khi các tế bào này được hoạt hóa, annexin A1 được bơm ra, di chuyển tới bề mặt tế bào. Quá trình này diễn ra theo cơ chế phân tử. Ví dụ, ở đại thực bào là thông qua hệ thống vận chuyển gắn ATP (ATP-binding cassette, ABC). Sau đó, annexin A1 hoạt động bằng cách gắn vào các thụ thể có bản chất là formyl peptid (formyl peptide thụ thể, FPR), bao gồm FPR1, FPR3. Quá trình bộc lộ và hoạt động của annexin A1 có vai trò của glucocorticosteroid, thông qua đó, glucocorticosteroid điều hòa, ức chế viêm do annexin A1, làm bạch cầu trung tính chết, giảm khả năng di chuyển [80].

Khi annexin A1 gắn với thụ thể FPR1 trên các tế bào sẽ gây ra hiện tượng HTTCH. Mức độ bộc lộ FPR1 khác nhau rõ rệt giữa nhóm SJS/TEN và nhóm ODSR. Do đó, nó có thể xác định khả năng xảy ra SJS/TEN hay ODSR. Mặc dù không có sự khác nhau về gen trong vùng khởi động FPR1

giữa SJS/TEN, ODSR và người bình thường, sự tương tác annexin A1-FPR1 có thể tiên đoán SJS/TEN xảy ra và hứa hẹn liệu pháp điều trị đích, trong đó có chất necrosulfonamid (NSA) ức chế con đường HTTCT liên quan tới phức hợp annexin A1-FPR1 (hình 1.6) [60].



Hình 1.6. Sự ức chế hoại tử theo chương trình (necroptosis) của NSA [60]

1.4. Phân tử *HLA* và sự trình diện kháng nguyên [81]

1.4.1. Sơ lược lịch sử về *HLA*

Kháng nguyên bạch cầu người (*HLA*) có tên gọi khác là MHC (major histocompatibility complex)-phức hợp hòa hợp mô chủ yếu. Năm 1958, kháng nguyên hòa hợp mô đầu tiên, nay là kháng nguyên *HLA-A2*, được Dauset phát hiện trên bạch cầu người và 10 năm sau, kháng nguyên hòa hợp mô được mang tên chính thức là *HLA* tương đương MHC. Như vậy, *HLA* trên bạch cầu chính là MHC trong mọi tế bào có nhân của cơ thể.

Vai trò trung tâm của các phân tử *HLA* trong đáp ứng miễn dịch với kháng nguyên protein lạ được chứng minh đầy đủ vào năm 1970. Trước đó, một loạt đáp ứng miễn dịch tế bào đặc biệt đã được Gorer và Snell chứng minh

từ năm 1936 đến 1940, đó là phản ứng thải bỏ mảnh ghép dị gen trong các công trình ghép da thực nghiệm ở chuột. Các tác giả nhận thấy có các phân tử đảm bảo cho việc nhận ghép hay thải ghép, gọi tên là các kháng nguyên hòa hợp mô (chủ yếu hay thứ yếu). Khi các kháng nguyên *HLA* giống nhau giữa các cá thể cho và nhận mảnh ghép thì mảnh ghép sống và tồn tại, ngược lại nếu các kháng nguyên *HLA* không giống nhau, mảnh ghép bị thải.

1.4.2. Cụm gen *HLA*, vai trò của phân tử *HLA*

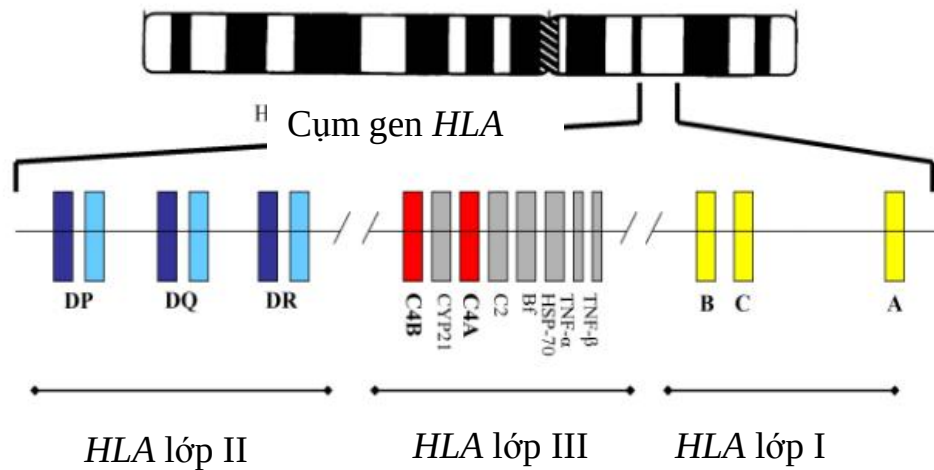
1.4.2.1. Cụm gen *HLA*

Gen *HLA* mã hóa cho các kháng nguyên *HLA* là một phức hợp gồm rất nhiều gen (đa hình), nằm trên cánh ngắn nhiễm sắc thể số 6 ở người và nhiễm sắc thể số 17 ở chuột. Ở người, các gen *HLA* chia thành hai vùng riêng biệt: một vùng ở xa so với tâm động là các gen lớp I, và một vùng gần hơn là các gen lớp II. Các gen lớp III ở giữa gen lớp I và lớp II, mã hóa cho các protein bổ thể.

Ở người, khi truyền máu có bạch cầu (máu toàn phần) hoặc khi có thai nhiều lần sẽ làm xuất hiện trong máu các kháng thể chống bạch cầu lạ, chính là chống *HLA* mà cá thể chủ không có. Chính nhờ huyết thanh của những người nói trên mà người ta đã tìm ra được các *HLA* khác nhau, thống nhất dần việc phân nhóm *HLA*, suy ra các cụm gen phụ trách việc mã hóa chúng đồng thời định vị được các gen đó.

Ba cụm gen đầu tiên của lớp I có tên là *HLA-A*, *HLA-B* và *HLA-C*, nằm trong 6 cụm gen đa hình đã dự đoán. Ba gen sau cũng được xác định rõ, mang tên *HLA-D* và các protein đầu tiên do chúng mã hóa được gọi là các phân tử *HLA-DR* (D-related), tiếp đó là các protein của gen *HLA-DP* và *HLA-DQ* (P, Q là các chữ cái cạnh R).

Nhiễm sắc thể số 6



Hình 1.7. Bản đồ cụm gen HLA ở người [81]

1.4.2.2. Vai trò của các phân tử HLA trong đáp ứng miễn dịch

Chỉ có các hapten là được tế bào miễn dịch nhận biết trực tiếp. Còn các kháng nguyên kích thước lớn, dù ở dạng nào (hòa tan, dạng hạt, dạng kết hợp trên màng tế bào) đều không thể trình diện được cho tế bào miễn dịch, đặc biệt là cho tế bào T. Các kháng nguyên ấy phải được các APC xử lý, nghĩa là phải chuyển các protein hình cầu lớn thành các đoạn peptid đủ nhỏ và thẳng (từ 10-20 acid amin), phù hợp với kích thước các rãnh gắn peptid lạ của các phân tử *HLA* của chính tế bào APC đó.

Các kháng nguyên lạ được tổng hợp từ bên ngoài các APC được gọi là các kháng nguyên ngoại bào. Các APC thực bào, giáng hóa chúng tạo ra các đoạn peptid, được đưa ra bề mặt tế bào ở dạng gắn với các phân tử *HLA* lớp II. Phức hợp peptid lạ-*HLA* lớp II này được trình diện trên bề mặt APC và được các tế bào TCD4⁺ có cùng phân tử *HLA* lớp II nhận biết.

Các kháng nguyên lạ được tổng hợp bên trong tế bào APC (kháng nguyên nội sinh) được xử lý trong một khu vực nội bào khác với kháng

nguyên ngoại bào. Các đoạn peptid mới tổng hợp này thường được kết hợp với các phân tử *HLA* lớp I. Phức hợp này được trình diện trên bề mặt APC và thường được các tế bào TCD8+ có cùng các phân tử *HLA* lớp I nhận biết.

1.4.2.3. Một số phương pháp định type *HLA*

Có một số phương pháp định type *HLA* như huyết thanh học, phản ứng khuếch đại chuỗi (PCR-polymerase chain reaction) sử dụng đoạn mồi có trình tự đặc hiệu (sequence-specific primer, SSP), PCR sử dụng đầu dò oligonucleotid có trình tự đặc hiệu (sequence-specific oligonucleotide, SSO), định type dựa trên trình tự gen DNA (genomic DNA sequencing-based typing). Ở các cơ sở xét nghiệm lâm sàng, PCR-SSO được sử dụng vì có một số ưu điểm như xử lý được số lượng mẫu lớn, các oligonucleotid đặc trưng cho các allele trong một nhóm được sử dụng làm mẫu dò thay vì mồi, sử dụng hệ thống Luminex để phân tích kết quả. Khi ngày càng có nhiều allele *HLA* được phát hiện, kỹ thuật PCR-SSO đã được chứng minh là có khả năng thích ứng cao hơn PCR-SSP [82]. Nền tảng Luminex sử dụng công nghệ mảng hạt từ với khoảng 100 hạt có màu sắc khác nhau và các chất phân tích đóng vai trò tương tự như một máy đo lưu lượng tế bào. Trong các phòng xét nghiệm định type *HLA* hiện nay, Luminex là công nghệ chiếm ưu thế, có thể phát triển số hạt từ lên tới 500 hạt [82],[83].

1.4.2.4. Vai trò của *HLA* lớp I trong SJS/TEN và dị ứng thuốc

Nhiều nghiên cứu chỉ ra mối liên quan giữa *HLA* lớp I và SCARs. Ở các bệnh nhân SJS/TEN người Hán, có mối liên quan chặt chẽ giữa các chất thơm chống động kinh như carbamazepin, phenytoin, oxcarbazepin và lamotrigin với *HLA-B*15:02* [18], giữa allopurinol với *HLA-B*58:01* [19],[84]. Mối liên quan giữa *HLA-B*15:02* và carbamazepin cũng được thấy ở các bệnh nhân SJS/TEN người Thái, Malaysia, Nam Ấn Độ, nhưng không thấy ở người Nhật

Bản, Hàn Quốc hay châu Âu [17]. Ở các bệnh nhân gốc châu Âu, có mối liên quan giữa *HLA-B*57:01* và SJS/TEN do abacavir [85], giữa *HLA-A*31:01* và SJS/TEN do carbamazepin [86]. Nghiên cứu tại Nhật Bản cho thấy allele *HLA-B*15:11* là yếu tố nguy cơ của SJS/TEN do carbamazepin, có mối liên quan giữa *HLA-A*02:06* với SJS/TEN do acetaminophen [87].

Mối liên quan chặt chẽ giữa TEN và những allotype *HLA* nhất định dẫn tới suy đoán rằng các allotype này liên quan tới cơ chế bệnh sinh của TEN [88]. Khái niệm này được đề xuất khi khảo sát vai trò của *HLA-B*57:01* trong cơ chế bệnh sinh của DIHS do abacavir. Trong nghiên cứu này, các PBMC chưa có trí nhớ với abacavir có allotype *HLA-B*57:01* hoạt hóa TCD8⁺ mà không hoạt hóa TCD4⁺ khi được ủ với abacavir. Ngược lại, các PBMC không có allotype *HLA-B*57:01* không gây hoạt hóa tế bào T. Ngoài ra, sự thay đổi dư lượng serine đơn tại vị trí 116 trên túi F của allotype *HLA-B*57:01* ngăn chặn sự hoạt hóa tế bào TCD8⁺ do abacavir. Kết quả này cho thấy có sự hoạt hóa các tế bào đặc hiệu TCD8⁺ do abacavir, vai trò của allotype *HLA* lớp I trong cơ chế bệnh sinh của DIHS, tính đặc hiệu giữa abacavir với allotype *HLA* nhất định. Tuy nhiên, kháng nguyên gắn vào túi F của *HLA-B*57:01* chính là abacavir hay là chất chuyển hóa của nó vẫn chưa rõ ràng [69].

Từ các nghiên cứu trên rút ra khuyến cáo nên sàng lọc một số allele *HLA* trước khi chỉ định một số thuốc hay gây dị ứng, có liên quan tới *HLA*. Ví dụ, những người mang allele *HLA-B*58:01* không nên dùng allopurinol, người mang allele *HLA-B*15:02* không nên dùng carbamazepin. Trong trường hợp cần chỉ định hai thuốc trên hoặc đã có tiền sử bị dị ứng thuốc nặng như SJS/TEN, nên xác định các allele *HLA-B*58:01* và *HLA-B*15:02* trước khi sử dụng thuốc [17],[86].

Bảng 1.2. Các đặc tính dược lý-gen đặc hiệu cho dân tộc trong SCARs [89]

Thuốc liên quan	Allele HLA	SCARs	Dân tộc, năm
Abacavir	<i>B*57:01</i>	DIHS	Da trắng 2008, Thái và Cam-pu-chia 2013
Nevirapin	<i>DRB1*01:01</i>	MPE/DIHS	Úc 2005, Pháp 2008
	<i>B*14:02</i> (hoặc <i>Cw*08:02</i>)	DIHS	Sardinian 2006
	<i>B*35 :05</i>	DIHS/MPE	Thái 2009
	<i>Cw*08:01</i> hoặc <i>Cw*08:02</i>	DIHS	Sardinian 2006, Nhật 2007
	<i>CYP2B6</i>	SJS/TEN	Mozambique (người Phi) 2013
Allopurinol	<i>B*58:01</i>	SJS/TEN/DIHS	Hán 2005, Thái 2009, Nhật 2008, Hàn Quốc 2011, châu Âu 2008
Carbamazepin	<i>B*15:02</i>	SJS/TEN	Hán 2004, 2007, Thái 2008, Ấn Độ 2009, Malaysia 2013
	<i>B*15:11</i>	SJS/TEN	Nhật 2010, Hàn Quốc 2011, Hán 2012, 2013
	<i>B*59:01</i>	SJS/TEN	Nhật 2010
	<i>A*31:01</i>	SJS/TEN/DIHS	Nhật 2011, 2012
	<i>A*31:01</i>	MPE/DIHS	Hán 2006, 2014, châu Âu 2011, 2014, Hàn Quốc 2011

Thuốc liên quan	Allele HLA	SCARs	Dân tộc, năm
Phenytoin	<i>B*15:02</i>	SJS/TEN	Hán 2010, 2013, Thái 2008
	<i>CYP2C9*3</i>	SJS/TEN/DIHS	Hán, Nhật, Malaysia 2014
Oxcarbazepin	<i>B*15:02</i>	SJS/TEN	Hán 2010
Oxicam	<i>B*73, A*2, B*12</i>	TEN	Châu Âu 1987, 2008
Sulfonamid	<i>A29, B12, DR7</i>	TEN	Châu Âu 1987
Sulfamethoxazol	<i>B*38</i>	SJS/TEN	Châu Âu 2008
Methazolamid	<i>B*59:01, CW*01:02</i>	SJS/TEN	Hàn Quốc và Nhật 2010

SCARs: Severe cutaneous adverse drug reactions (phản ứng nặng do thuốc có biểu hiện da); MPE: Maculopapular exanthema (phát ban dạng dát sẩn); DIHS: Drug-induced hypersensitivity syndrome (hội chứng tăng nhạy cảm do thuốc).

1.5. Một số cytokin liên quan tới SJS/TEN

1.5.1. Khái niệm chung về cytokin

Cytokin là những protein nhỏ được giải phóng ra bởi các tế bào có tác dụng đặc hiệu lên sự tương tác và kết nối giữa các tế bào. Tùy theo nguồn gốc, kích thước, cách thức tương tác, các cytokin có tên cụ thể hơn như lymphokin (các cytokin do tế bào lympho tiết ra), monokin (các cytokin do tế bào đơn nhân tiết ra), chemokin (là những cytokin có kích thước nhỏ hoặc các protein tín hiệu được tiết ra bởi các tế bào), IL (các cytokin do một bạch cầu sinh ra và tác động lên các bạch cầu khác). Các cytokin có thể tác động lên tế bào đã tiết ra nó (autocrine), lên các tế bào gần nó (paracrine), hoặc lên các tế bào ở vị trí xa nó (endocrine) [90].

Nhiều loại tế bào có thể tiết ra cùng loại cytokin, một loại cytokin có thể tác động lên nhiều loại tế bào khác nhau (pleiotropy). Cytokin có thể trở

nên dư thừa khi các chức năng tương tự được kích thích bởi nhiều loại cytokin khác nhau. Chúng có thể được sinh ra ở ạt như dòng khác, khi một cytokin kích thích các tế bào đích của nó sẽ tạo ra các cytokin khác. Các cytokin có thể có tác động cộng hợp hoặc đối kháng [90].

Các cytokin được sinh ra bởi nhiều loại tế bào, nhưng nguồn chính sản xuất cytokin là các tế bào T hỗ trợ (T helper, Th) và các đại thực bào. Chúng còn được sinh ra bởi mô thần kinh ngoại vi trong các quá trình sinh lý, bệnh lý (do các loại tế bào thường trú hoặc được hóa ứng động tới như đại thực bào, tế bào mast, tế bào nội mô, tế bào Schwann) [90].

Bảng 1.3. Tóm tắt về một số cytokin [90]

Cytokin	Nguồn tiết	Các tế bào đáp ứng	Tính năng đặc biệt	Ứng dụng lâm sàng
IL-1 α	Tế bào biểu mô thương bì	Các bạch cầu xâm nhập	Dạng hoạt hóa được dự trữ ở các tế bào sừng	IL-Ra được sử dụng để điều trị viêm khớp dạng thấp
IL-1 β	Các tế bào dạng tủy (myloid)	Các bạch cầu xâm nhập	Sự phân tách caspase 1 là cần thiết để hoạt hóa IL-1 β	IL-Ra được sử dụng để điều trị viêm khớp dạng thấp
IL-2	Tế bào T hoạt hóa	Các tế bào T hoạt hóa, Treg	Yếu tố tự tiết (autocrine) cho các tế bào T hoạt hóa	Độc tố dung hợp IL-2
IL-4	Th2, NK	Tế bào lympho, tế bào nội mô, tế bào sừng	Gây khởi động tế bào B và biệt hóa Th2	-
IL-5	Th2, tế bào mast	Tế bào B, bạch cầu ái toan	Điều hòa đáp ứng của tế bào ái toan với ký sinh trùng	Kháng IL-5 diệt tế bào ái toan

Cytokin	Nguồn tiết	Các tế bào đáp ứng	Tính năng đặc biệt	Ứng dụng lâm sàng
IL-6	Tế bào dạng tủy hoạt hóa, nguyên bào xơ, tế bào nội mô	Tế bào B, tế bào dạng tủy, tế bào gan	Khởi phát đáp ứng pha cấp, tổng hợp các globulin miễn dịch	Kháng IL-6R được dùng trong điều trị viêm khớp dạng thấp
IL-10	Tế bào T, Tế bào NK	Các tế bào dạng tủy và dạng lympho	Ức chế đáp ứng miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thu được	-
IL-12	APC hoạt hóa	Tế bào Th1	Kích thích biệt hóa Th1, chung dưới đơn vị p40 với IL-23	Kháng thể ức chế p40 dùng trong điều trị bệnh vẩy nến và bệnh Crohn
IL-13	Th2 hoạt hóa, nuocyte	Tế bào đơn nhân, tế bào sừng, tế bào nội mô	Đáp ứng chống ký sinh trùng qua mô	-
IL-17	Th17 hoạt hóa	Nhiều loại tế bào	Trung gian các bệnh tự miễn	Các thuốc điều trị đích bệnh tự miễn, vẩy nến
IL-22	Th17 hoạt hóa và Th22	Các tế bào sừng	Sản xuất các cytokin và các peptid kháng khuẩn	Bệnh vẩy nến
IL-23	Tế bào đuôi gai hoạt hóa	Tế bào T trí nhớ, Th17	Tác dụng trực tiếp lên sự biệt hóa Th17, trung gian bệnh tự miễn	Kháng thể ức chế p40 dùng trong điều trị bệnh vẩy nến và bệnh Crohn
IL-25	Th2 hoạt hóa, tế bào mast	Tế bào Th17	Biệt hóa Th2, ức chế Th17	-

Cytokin	Nguồn tiết	Các tế bào đáp ứng	Tính năng đặc biệt	Ứng dụng lâm sàng
IL-26	Th17, tế bào NK, đại thực bào	Tế bào biểu mô và vi sinh vật	Gây viêm và sản xuất các chất kháng khuẩn nội tại	-
IL-27	Đại thực bào hoạt hóa	Th1	Gây biệt hóa Th1	-
IL-31	Th2, tế bào mast, đại thực bào, tế bào đuôi gai	Đại thực bào, tế bào biểu mô, bạch cầu ái toan	Gây viêm và ngứa	Thuốc tiềm năng điều trị viêm da cơ địa
IL-35	Tế bào Treg	Th17 và Treg	Ức chế Th17, mở rộng Treg	-
TNF- α	Tế bào dạng tủy hoạt hóa, tế bào dạng lympho, tế bào keratin, tế bào đuôi gai	Các bạch cầu xâm nhập	Trung gian gây viêm	Kháng TNF- α trong điều trị vẩy nến, viêm khớp dạng thấp
IFN- α , IFN- β	Các tế bào đuôi gai dạng tương bào	Tất cả các loại tế bào	Thành phần chính của phản ứng diệt virus	Imiquimod tại chỗ trong điều trị một số bệnh da do virus
IFN- γ	Th1 hoạt hóa, TCD8+, tế bào NK, tế bào đuôi gai	Đại thực bào, tế bào đuôi gai, T ngây thơ	Hoạt hóa đại thực bào, bất isotype đặc hiệu	IFN dùng điều trị bệnh u hạt mạn tính
TSLP	Tế bào keratin	Tế bào đuôi gai, tế bào B, Th2	Gây biệt hóa Th2	Liên quan tới các bệnh cơ địa (atopy)

TSLP: thymic stromal lymphopoietin - lymphopoietin nền tuyến ức

1.5.2. Một số cytokin liên quan tới SJS/TEN đã được nghiên cứu

Caproni và cộng sự cho thấy các mẫu sinh thiết da của SJS/TEN bộc lộ tất cả các cytokin TNF- α , IFN- γ , IL-2, IL-5, IL-13, CCR3 (C-C chemokine receptor type 3), CXCR3 (C-X-C motif chemokine receptor 3) và CXCR4 mạnh hơn các mẫu da EM. Tất cả các mẫu da của SJS/TEN và EM bộc lộ các cytokin mạnh hơn mẫu da người khỏe mạnh. So sánh các cytokin liên quan tới Th1 hoặc Th2 cho thấy đáp ứng Th1 ưu thế trong EM, sự mất cân bằng giữa Th1 và Th2 không có ý nghĩa trong SJS/TEN. TNF- α bộc lộ mạnh trong thương tổn da của SJS/TEN, nó có thể liên quan tới hoại tử thượng bì. IFN- γ đóng vai trò quan trọng trong cả EM và SJS/TEN. IL-2, IL-5 và IL-13 đóng góp vào cơ chế viêm miễn dịch (immunoinflammation) ở những bệnh này. Các thụ thể chemokin liên quan tới huy động các tế bào viêm tới thương tổn da [91].

CCL27 (C-C motif chemokine ligand 27) là chemokin thu hút lympho T, thuộc họ chemokin CC, thụ thể của nó là CCR10. CCL27 bộc lộ đặc hiệu ở các tế bào biểu mô sừng. Nó có thể thu hút chọn lọc dưới nhóm tế bào T hiệu ứng, trí nhớ (cả TCD4⁺ và TCD8⁺), dương tính với CCR10, từ máu ngoại vi tới các đích ở da. CCL27 điều hòa các tình trạng viêm như viêm da cơ địa, vẩy nến, viêm da tiếp xúc. CCL27 bộc lộ mạnh trong thương tổn da bệnh nhân SJS/TEN. Ngoài ra, sự sản xuất CCL27 được gia tăng bởi TNF- α , thông qua hoạt hóa yếu tố sao chép NF- κ B [92].

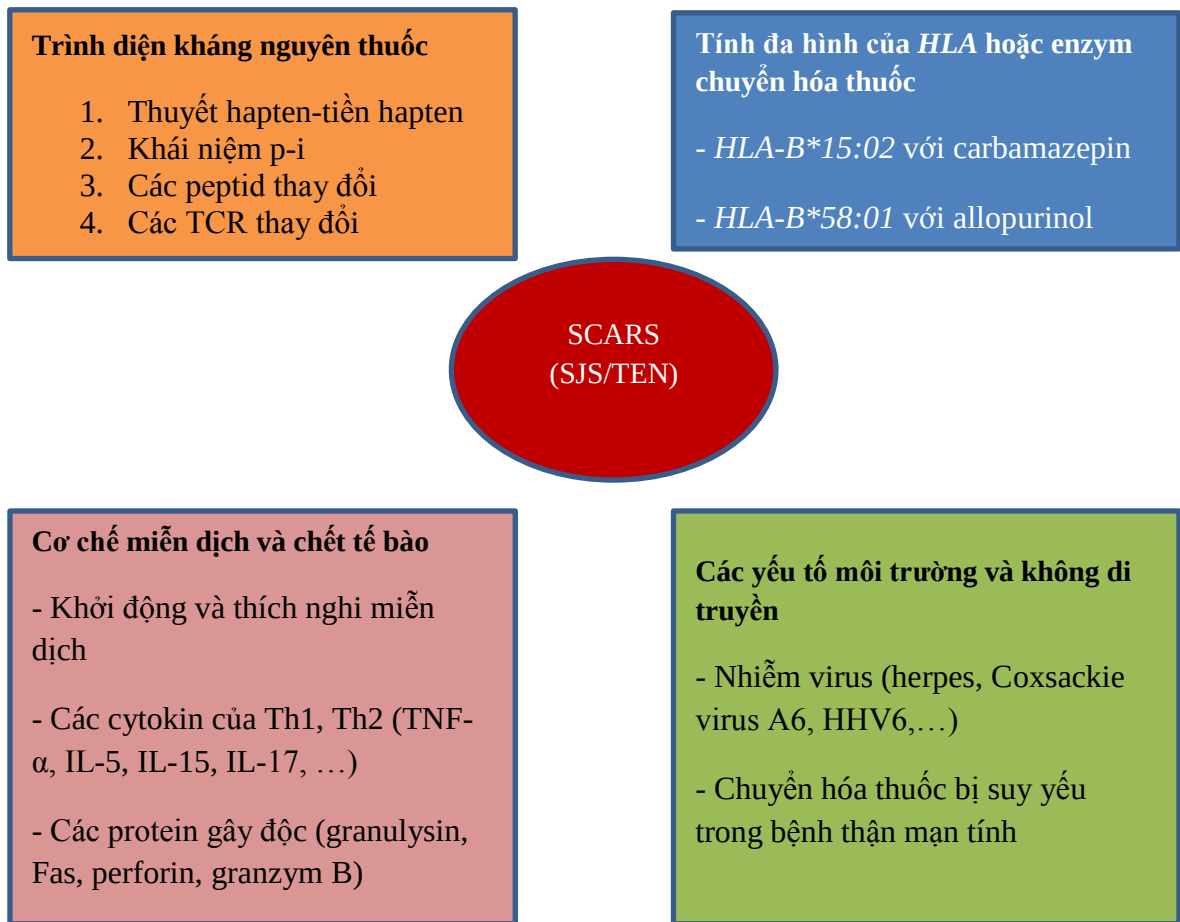
Nồng độ huyết thanh của CCL27 và TNF- α tăng có ý nghĩa ở bệnh nhân SJS/TEN trong suốt giai đoạn cấp so với giai đoạn lành bệnh, và so với nhóm chứng khỏe mạnh. Nồng độ CCL27 tương quan thuận với nồng độ TNF- α trong giai đoạn cấp. Nồng độ CCL27 trong dịch bọt nước cao hơn nồng độ huyết thanh trong giai đoạn cấp. Nồng độ TNF- α ở dịch bọt nước

cao hơn trong huyết thanh ở giai đoạn cấp và giai đoạn lành bệnh. CCL27 và TNF- α có vai trò khởi động trong quá trình bệnh sinh của SJS/TEN. CCL27 tác động ở giai đoạn sớm của bệnh, thông qua tuần hoàn, trong khi TNF- α tác động trong suốt cả quá trình bệnh, ở các thương tổn da [92].

Su và cộng sự cho rằng nồng độ IL-15 tương quan với mức độ nặng và tỷ lệ tử vong của SJS/TEN. Khi được thêm vào, IL-15 ngoại sinh kích thích các tế bào trong bong nước TEN tiết granulysin ở 3 mẫu, nếu bị trung hòa IL-15 giảm kích thích tế bào do thuốc ở một bệnh nhân TEN. Các yếu tố khác, bao gồm IL-6, IL-8, TNF- α có tương quan với mức độ nặng của SJS/TEN (tiền triển lâm sàng, diện tích thương tổn da) nhưng không nổi bật bằng IL-15. Phát hiện này đặt ra khả năng sử dụng nồng độ IL-15 để tiên lượng bệnh [3].

Interleukin-15 là một cytokin có nhiều chức năng, bậc lộ rộng, do nhiều tế bào sản xuất, bao gồm các tế bào miễn dịch (tế bào đơn nhân, đại thực bào và tế bào đuôi gai) và các tế bào không miễn dịch như tế bào keratin. Ngoài tác dụng lên các tế bào T và tế bào NK, nó cũng điều hòa tế bào B, tế bào đơn nhân, đại thực bào, tế bào đuôi gai, tế bào mast và bạch cầu trung tính. IL-15 là thành viên của họ cytokin chuỗi gamma (γ c), cùng với các cytokin khác nữa như IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 và IL-21 [93]. Interleukin-15 tác động tới hoạt động chức năng, sự tồn tại và phát triển của các tế bào NK và TCD8+, những tế bào đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN.

Như vậy, trong nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN có nhiều yếu tố tham gia, được tóm tắt như trong hình 1.8.



Hình 1.8. Tóm tắt các yếu tố tham gia trong nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN [7]

1.6. Các nghiên cứu ở Việt Nam liên quan đến SJS/TEN

- Nghiên cứu về đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của 102 bệnh nhân SJS/TEN do dị ứng thuốc từ tháng 01/2012 đến tháng 6/2013 tại Trung tâm Dị ứng-Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai cho thấy tỷ lệ SJS, TEN là 76,5% và 23,5%; bệnh nhân nam (58,8%) nhiều hơn nữ (41,2%), lứa tuổi chủ yếu là trung niên. Thuốc gây dị ứng nhiều nhất là carbamazepin (31,4%), sau đó là allopurinol (19,6%), thuốc nam (9,8%) và amoxicillin (2,9%). Tỷ lệ bệnh nhân có sốt là 40,2%. Tất cả các bệnh nhân đều có bọng nước, ban xuất huyết và các tổn thương khác, như “ban đỏ hình bia bắn” chiếm 18,6%, mụn

nước 87,3%. Tỷ lệ loét miệng họng là 100%, tổn thương mắt 92,2%, loét sinh dục 70,6%. Tỷ lệ các bệnh nhân có thiếu máu, tăng men gan, tăng creatinin cao hơn ở nhóm SJS. Bệnh nhân TEN có triệu chứng lâm sàng rầm rộ hơn SJS, nhất là sốt cao, loét trợt da, tổn thương hầu hết các hốc tự nhiên [23].

- Nghiên cứu của Lương Đức Dũng về đặc điểm mô bệnh học và hóa mô miễn dịch của SJS/TEN cho thấy [22]:

Tổn thương mô bệnh học của các bệnh nhân SJS và TEN là loại tổn thương lớp thượng bì (93,3%) với hình ảnh toàn bộ thượng bì hoại tử tạo thành một lớp bất màu hồng đồng nhất, làm mất độ dày lớp thượng bì (86,7%), bong nước hình thành dưới thượng bì (80%) hoặc trong thượng bì (23,3%), có thoái hóa lỏng lớp đáy (90%) và thể bất màu hồng đồng nhất trong thượng bì-thể civatte (73,3%), có thể có hiện tượng ly gai (56,7%) và hiện tượng xóp bào (30%). Tổn thương lớp trung bì không nhiều, chủ yếu là xâm nhập viêm các lympho bào quanh các huyết quản của trung bì nông, có thể thấy trung bì nông phù nề. Không thấy hình ảnh tổn thương lớp hạ bì.

Tỷ lệ xuất hiện trên thương tổn da của CD8 là 100%, CD3 92%; CD4 73%. Mức độ biểu lộ: dấu ấn kháng nguyên CD3 biểu lộ mạnh, CD8 biểu lộ vừa và CD4 biểu lộ yếu. Giá trị biểu lộ: CD3 có giá trị cao nhất, sau đó đến CD8 và CD4, trong SJS cao hơn trong TEN. Phân bố biểu lộ: CD3, CD4 và CD8 tập trung chủ yếu ở trung bì (62,5%), sau đó đến thượng bì (24,2%), màng đáy (13%) và hạ bì (0,2%). Giá trị biểu lộ cao nhất ở trung bì, sau đó đến thượng bì và màng đáy. Liên quan giữa hóa mô miễn dịch và mô bệnh học: giá trị biểu lộ CD3, CD4 và CD8 có liên quan đến tổn thương hoại tử thượng bì, hiện tượng ly gai. Liên quan giữa hóa mô miễn dịch với yếu tố tiên lượng bệnh: giá trị biểu lộ CD4 và CD8 ở các bệnh nhân có SCORTEN <2 điểm lớn hơn các bệnh nhân có SCORTEN ≥ 2 điểm ($p < 0,05$). Giá trị biểu lộ

CD8 ở các bệnh nhân tử vong thấp hơn so với các bệnh nhân khỏi bệnh ($p < 0,001$) [22].

- Nghiên cứu tại Bệnh viện Bạch Mai (2015) về mối liên quan giữa allele *HLA-B*58:01* và nguy cơ mắc SCARs do allopurinol cho thấy: có 21/22 bệnh nhân dị ứng allopurinol mang allele *HLA-B*58:01* (95,4%). Người dùng thuốc allopurinol mang allele *HLA-B*58:01* có nguy cơ dị ứng rất cao so với người không mang allele này (OR 91,5; 95% CI: 11,3-738,7) [20].

- Nghiên cứu của Nguyễn Văn Đình và cộng sự (2015) trên 38 bệnh nhân SCARs do carbamazepin so với 25 bệnh nhân động kinh dung nạp với carbamazepin cho thấy có mối liên quan chặt chẽ giữa allele *HLA-B*15:02* với SCARs (OR 33,78; 95% CI 7,55-151,03). Allele *HLA-B*15:02* được phát hiện ở 34 trong số 38 bệnh nhân SCARs do carbamazepin [21].

- Nghiên cứu của Nguyễn Thị Hà Vinh tại Bệnh viện Da liễu Trung ương năm 2011 cho thấy: TEN gặp nhiều nhất ở lứa tuổi từ 60 trở lên (28,21%), tỷ lệ nữ/nam là 2/1. Hầu hết các bệnh nhân được điều trị bằng corticosteroid toàn thân kết hợp chăm sóc hỗ trợ. Corticosteroid toàn thân được dùng với liều cao ngay từ đầu, sau đó giảm liều khi các triệu chứng cải thiện. Thời gian điều trị trung bình là 18,7 ngày [27].

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

2.1.1. Nhóm bệnh nhân SJS/TEN

Nghiên cứu được tiến hành trên 83 bệnh nhân SJS/TEN điều trị nội trú tại Bệnh viện Da liễu Trung ương (57 bệnh nhân) và Trung tâm Dị ứng-Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai (26 bệnh nhân) từ tháng 01/2018 tới tháng 10/2019.

Tiêu chuẩn chẩn đoán: chẩn đoán SJS, TEN hay overlap SJS/TEN dựa theo phân loại của Bastuji-Garin, do ít nhất hai bác sỹ chuyên khoa thăm khám, nhận định chẩn đoán độc lập như sau [1]:

1) SJS với thương tổn bóc tách thượng bì (bong nước, trợt da) dưới 10% diện tích cơ thể, các dát đỏ, ngứa, hình bia bắn không điển hình bằng phẳng với da lành;

2) Overlap SJS/TEN khi diện tích bóc tách thượng bì từ 10-30% với các dát đỏ, ngứa, hình bia bắn không điển hình bằng phẳng với da lành;

3) TEN với các điểm khi thương tổn bóc tách thượng bì chiếm trên 30% diện tích cơ thể, có các dát đỏ, ngứa lan rộng, dát vòng dạng hình bia bắn không điển hình;

4) TEN với các mảng bóc tách thượng bì trên 30% diện tích cơ thể, không có các dát nhỏ riêng rẽ, không có hình bia bắn.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi gộp nhóm 3) và nhóm 4) để chẩn đoán chung là TEN.

2.1.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân

Với mục tiêu 1

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định SJS/TEN
- Dân tộc Kinh (người Việt)
- Tuổi từ 18 trở lên
- Bệnh nhân hoặc người đại diện hợp pháp của bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu, có ký vào bản chấp thuận

Với mục tiêu 2

- Bệnh nhân được chẩn đoán xác định SJS/TEN
- Tuổi từ 18 trở lên
- Bệnh nhân hoặc người đại diện hợp pháp của bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu, có ký vào bản chấp thuận
- Dân tộc Kinh hoặc dân tộc khác
- Không bị bệnh suy giảm miễn dịch
- Chưa điều trị hoặc đã điều trị các thuốc miễn dịch trước khi vào viện (ví dụ: corticosteroid toàn thân, ciclosporin A)
- Có ít nhất 2 mẫu lưu huyết thanh đạt yêu cầu ở hai thời điểm khác nhau: lúc nhập viện và lúc TTTB

2.1.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ

Cho mục tiêu 1

- Không có mẫu lưu máu toàn phần đạt chất lượng để làm xét nghiệm HLA-B độ phân giải cao
- Bệnh nhân người dân tộc thiểu số

Cho mục tiêu 2

- Bệnh nhân bị nhiễm khuẩn huyết (có procalcitonin máu >2 ng/ml và/hoặc cấy máu dương tính [3])
- Mắc bệnh suy giảm miễn dịch
- Bệnh nhân vào viện trong tình trạng da đã TTTB

2.1.2. Nhóm bệnh nhân EM

Trên lâm sàng, thương tổn da của SJS/TEN giai đoạn sớm gần giống EM với các hình bia bắn không điển hình, bằng phẳng với da lành. Nhiều bệnh nhân SJS/TEN được chẩn đoán là EM trong giai đoạn này. Do đó, chúng tôi lấy nhóm chứng so sánh cho mục tiêu 2 là các bệnh nhân EM.

Tiêu chuẩn chẩn đoán EM

- Có thương tổn da là các hình bia bắn điển hình (gồm ba vòng, giữa là mụn nước, tiếp theo là vòng hồng nhạt, ngoài cùng là vòng đỏ hơn, gồ cao so với nền da lành) và/hoặc không điển hình (chỉ có hai vòng nổi cao so với nền da lành).

- Có hoặc không có thương tổn niêm mạc kèm theo

- Nguyên nhân do thuốc hoặc chưa rõ nguyên nhân

Chẩn đoán EM dựa trên lâm sàng, do ít nhất hai bác sỹ chuyên khoa da liễu thăm khám, nhận định chẩn đoán độc lập.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân EM vào nghiên cứu

- Tuổi từ 18 trở lên

- Thương tổn da là các hình bia bắn điển hình và/hoặc không điển hình phân bố lan tỏa, không có bóc tách thượng bì

Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân EM có thương tổn hình bia bắn điển hình khu trú ở các đầu cực (mặt, bàn tay, bàn chân, đầu gối, khuỷu tay) vì những trường hợp này thường có nguyên nhân liên quan tới virus herpes hoặc các tác nhân vi sinh vật khác.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi có 43 bệnh nhân EM đáp ứng các tiêu chuẩn lựa chọn trên.

2.1.3. Nhóm chứng khỏe mạnh

Cho mục tiêu 2, chúng tôi lấy 20 người khỏe mạnh (healthy controls-HCs) làm nhóm chứng. Những người này không có tiền sử dị ứng thuốc, không bị các bệnh nhiễm khuẩn, dị ứng (viêm mũi xoang, mày đay, viêm kết mạc mùa xuân, hen phế quản) hay các bệnh nội, ngoại khoa khác.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Phương pháp tiến cứu, mô tả cắt ngang.

2.2.2. Phương pháp chọn mẫu

Các đối tượng được chọn vào mẫu nghiên cứu theo phương pháp chọn mẫu thuận tiện theo trình tự thời gian.

2.2.3. Cỡ mẫu nghiên cứu

2.2.3.1. Với mục tiêu 1

Cỡ mẫu nghiên cứu được tính theo công thức ước lượng một tỷ lệ:

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

Trong đó: n là cỡ mẫu nghiên cứu; α là mức ý nghĩa thống kê 0,05. Biến số Z là giá trị Z thu được từ bảng Z ứng với giá trị $\alpha=0,05$ có Z=1,96.

Chọn giá trị của p=0,1 và q=0,9, dựa theo nghiên cứu của Hoa BK cho thấy trong quần thể người Kinh, tần suất mang allele *HLA-B*46:01* là 11,5% [94]. Biến số ε là tỷ lệ giữa p và tỷ lệ quần thể, chọn $\varepsilon=0,5422$; tính được n=60.

2.2.3.2. Với mục tiêu 2

Cỡ mẫu nghiên cứu được tính theo công thức ước lượng giá trị trung bình nồng độ granulysin huyết thanh ở bệnh nhân SJS/TEN.

$$n = Z_{1-\alpha/2}^2 \frac{s^2}{\Delta^2}$$

Trong đó: n là cỡ mẫu nghiên cứu cần có; s là độ lệch chuẩn, chọn s=10 ng/ml.

Δ là khoảng sai lệch cho phép giữa nồng độ granulysin thu được từ mẫu nghiên cứu và tham số của quần thể (theo mong muốn của người nghiên cứu), chọn $\Delta=2$ ng/ml.

α là mức ý nghĩa thống kê 0,05. Biến số Z là giá trị Z thu được từ bảng Z ứng với giá trị $\alpha=0,05$. Có Z=1,96.

Thay vào ta có n=48.

2.2.4. Các bước nghiên cứu

2.2.4.1. Khai thác bệnh sử và tiền sử

Bằng cách hỏi bệnh theo bộ câu hỏi có sẵn (phụ lục 1). Các biến số quan trọng trong phần này:

- Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên tới khi nhập viện
- Triệu chứng đầu tiên xuất hiện
- Thời gian từ khi có triệu chứng đầu tiên tới khi có thương tổn da, niêm mạc
- Tính chất thương tổn niêm mạc đầu tiên
- Vị trí, tính chất thương tổn da đầu tiên
- Có tiền sử dùng thuốc hay không, nếu có là thuốc gì, đường dùng, liều lượng, thời gian từ khi dùng thuốc tới khi xuất hiện bệnh
- Bệnh lý khiến người bệnh phải dùng thuốc nghi ngờ gây dị ứng
- Tiền sử các bệnh nội, ngoại khoa khác, tiền sử dị ứng, cơ địa dị ứng của bản thân người bệnh và gia đình.

Xác định thuốc nghi ngờ gây dị ứng dựa theo các tiêu chí quan trọng là: thời gian từ khi dùng thuốc tới khi xuất hiện thương tổn đầu tiên; có tiền sử dị ứng với thuốc đó hoặc thuốc khác cùng nhóm; nguy cơ gây SJS/TEN của thuốc theo các nghiên cứu trước ở Việt Nam và trên thế giới. Ngoài ra, chúng tôi có tham khảo bảng điểm ALDEN (bảng 2.1). Nếu bệnh nhân dùng nhiều thuốc thì thuốc có điểm cao hơn được xác định là tác nhân gây dị ứng.

Bảng 2.1. Bảng điểm ALDEN [6]

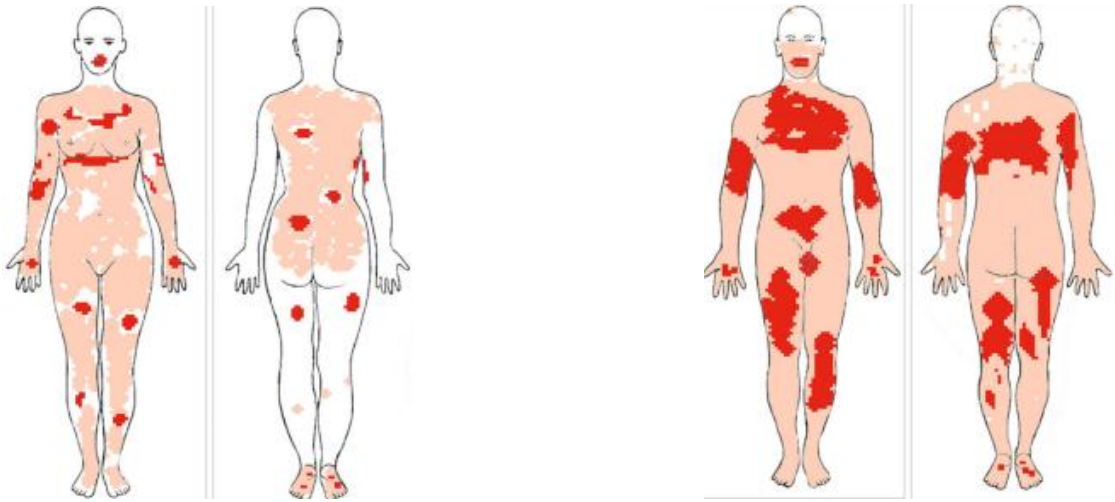
Tiêu chuẩn	Giá trị (điểm)	Đặc điểm áp dụng	Khoảng (điểm)
Thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát bệnh	+3	Từ 5-28 ngày	-3 tới 3
	+2	Từ 29-56 ngày	
	+1	Từ 1-4 ngày	
	-1	Trên 56 ngày	
	-3 (loại trừ)	Thuốc bắt đầu được dùng vào ngày khởi phát hoặc sau khi khởi phát	
		Trong trường hợp đã có phản ứng trước đó với cùng loại thuốc, chỉ thay đổi như sau: +3: từ 1-4 ngày +1 từ 5-56 ngày	
Sự có mặt của thuốc trong cơ thể vào ngày khởi phát	0	Thuốc được tiếp tục dùng tới ngày khởi phát hoặc ngừng tại thời điểm ngắn hơn 5 lần thời gian bán thải trước khi khởi phát.	-3 tới 0
	-1	Ngừng thuốc tại thời điểm trước khởi phát dài hơn 5 lần thời gian bán thải nhưng có thay đổi chức năng gan, thận hoặc có tương tác với thuốc nghi ngờ	
	-3	Ngừng thuốc tại thời điểm trước khởi phát dài hơn 5 lần thời gian bán thải mà không có thay đổi chức năng gan, thận hoặc tương tác với thuốc nghi ngờ	

Tiêu chuẩn	Giá trị (điểm)	Đặc điểm áp dụng	Khoảng (điểm)
Dùng thuốc trước đó hoặc dùng nhắc lại	Dương tính đặc hiệu với bệnh và thuốc: 4	SJS/TEN sau khi dùng cùng loại thuốc	-2 tới 4
	Dương tính đặc hiệu với bệnh và thuốc: 2	SJS/TEN sau khi dùng thuốc tương tự hoặc loại hình dị ứng khác với cùng loại thuốc	
	Dương tính không đặc hiệu: 1	Loại hình dị ứng khác sau khi dùng thuốc tương tự	
	Không biết: 0	Không biết về sự tiếp xúc trước đó với thuốc	
	Âm tính: -2	Tiếp xúc với thuốc đó mà không bị/không có phản ứng (trước hoặc sau phản ứng)	
Sự có mặt của thuốc ngoài pha tiến triển của bệnh (dechallenge)	Trung tính: 0	Ngừng thuốc (hoặc không biết)	-2 tới 0
	Âm tính: -2	Tiếp tục dùng thuốc mà không nguy hiểm	
Sự phổ biến của thuốc theo các	Liên quan chặt chẽ: 3	Thuốc thuộc nhóm nguy cơ cao theo các nghiên cứu bệnh-chứng trước đó	-1 tới 3

Tiêu chuẩn	Giá trị (điểm)	Đặc điểm áp dụng	Khoảng (điểm)
nghiên cứu trước	Liên quan: 2	Thuốc được xác định nhưng có nguy cơ thấp theo các nghiên cứu bệnh-chứng trước đó	
	Nghi ngờ: 1	Có một số báo cáo trước đó, kết quả dịch tễ không rõ ràng (thuốc dưới kiểm soát)	
	Không biết: 0	Tất cả các loại thuốc khác bao gồm các loại mới đưa ra thị trường	
	Không nghi ngờ: -1	Không có bằng chứng về mối liên quan từ các nghiên cứu dịch tễ trước đó với số lượng đủ nhóm chứng phơi nhiễm	
	Điểm trung gian = tất cả các tiêu chuẩn trên		-11 tới 10
Nguyên nhân khác	Có thể: -1	Dãy tất cả các thuốc có điểm trung gian từ cao nhất tới thấp nhất	-1
		Nếu ít nhất một thuốc có điểm trung gian >3, trừ 1 điểm cho mỗi thuốc nghi ngờ khác (có khả năng gây dị ứng hơn)	
Tổng điểm: từ -12 tới 10 điểm			
Phân loại nguy cơ: ≥6 điểm: rất có khả năng; 4-5 điểm: có khả năng; 2-3 điểm: có thể; 0-1 điểm: không thể; <0 điểm: rất không thể			

2.2.4.2. Khám lâm sàng

- Toàn trạng: mạch, nhiệt độ, huyết áp, nhịp thở, chiều cao, cân nặng, các cơ quan bị ảnh hưởng.
- Thương tổn da: ước tính diện tích da bị tổn thương theo hình ảnh tham chiếu sau [8] và theo quy luật số 9 trong tính diện tích bỏng:



Hình 2.1. Ước tính diện tích da thương tổn [8]

Diện tích ban đỏ (màu hồng) = 65% diện tích cơ thể. Diện tích vùng bong nước, trợt da (màu đỏ) = 10% diện tích cơ thể.

Diện tích ban đỏ (màu hồng) = 90% diện tích cơ thể. Diện tích vùng bong nước, trợt da (màu đỏ) = 45% diện tích cơ thể.

- Thương tổn niêm mạc: số niêm mạc bị tổn thương, hình thái tổn thương (bong nước, loét, hoại tử, đóng vảy tiết).

- Chụp ảnh bệnh nhân ít nhất hai thời điểm: lúc nhập viện và lúc TTTB.

- Đánh giá độ nặng của các bệnh nhân SJS/TEN với 6 tiêu chí, cho phù hợp với điều kiện trang thiết bị xét nghiệm của cơ sở nghiên cứu: tuổi >40, có bệnh ác tính kèm theo, nhịp tim >120 nhịp/phút, diện tích da bị bóc tách >10%, nồng độ ure máu >10 mmol/L, nồng độ glucose máu >14 mmol/L. Mỗi tiêu chí được tính 01 điểm. Các tiêu chí này dựa theo điểm SCORTEN của Bastuji-Garin (có 7 tiêu chí) [51], tuy nhiên, vì xét nghiệm bicarbonat (bằng khí máu động mạch) không có sẵn ở Bệnh viện Da liễu Trung ương nên chúng tôi sử dụng 6 tiêu chí.

2.2.4.3. Lưu huyết thanh, máu toàn phần cho xét nghiệm HLA-B, định lượng granulysin và các cytokin huyết thanh

- Thực hiện sau khi có sự đồng thuận của người bệnh hoặc của người đại diện hợp pháp, ký vào bản chấp thuận.

- Mỗi bệnh nhân SJS/TEN được lấy máu tại ít nhất hai thời điểm: 1) Lúc nhập viện (03 ml máu toàn phần cho xét nghiệm *HLA-B* độ phân giải cao, lấy vào ống tím có chất chống đông EDTA; 04 ml máu để tách huyết thanh, lấy vào ống không có chất chống đông); 2) Lúc lành thương tổn da, TTTB (04 ml máu để tách huyết thanh).

- Mỗi bệnh nhân EM được lấy 04 ml máu để tách huyết thanh lúc nhập viện.

- Mỗi người khỏe mạnh được lấy 04 ml máu để tách huyết thanh.

- Tách huyết thanh: các mẫu máu được đặt ở nhiệt độ phòng 10-20 phút, sau đó ly tâm 20 phút với tốc độ 2000-3000 vòng/phút, tách chiết huyết thanh và bảo quản ở nhiệt độ -80°C trước khi định lượng granulysin, các cytokin huyết thanh.

2.2.4.4. Các xét nghiệm cơ bản

- Thực hiện tại Khoa xét nghiệm sinh hóa, huyết học, Bệnh viện Da liễu Trung ương: công thức máu, máu lắng, tổng phân tích nước tiểu, sinh hóa máu (ure, glucose, creatinin, AST, ALT, cholesterol, triglycerid, HDL-C, protein toàn phần, albumin), điện giải đồ.

- Thực hiện tại khoa Chẩn đoán hình ảnh, Bệnh viện Da liễu Trung ương: chụp X-quang ngực thẳng, siêu âm ổ bụng.

2.2.5. Một số kỹ thuật xét nghiệm thực hiện trong nghiên cứu

2.2.5.1. Xét nghiệm định type HLA-B độ phân giải cao

Được thực hiện tại Viện Huyết học-Truyền máu Trung ương bằng phương pháp PCR-SSO.

a) Nguyên lý

Dựa trên nguyên lý lai giữa đầu dò DNA với sản phẩm DNA của mẫu xét nghiệm đánh dấu bằng huỳnh quang, trong đó các đầu dò DNA được thiết kế đặc hiệu cho từng allele *HLA* ở độ phân giải cao (high resolution). Tùy theo mật độ huỳnh quang tương ứng, hệ thống Luminex đọc và xác định được tên đầu dò đã gắn với chuỗi DNA của mẫu và kiểu gen *HLA* tương ứng.

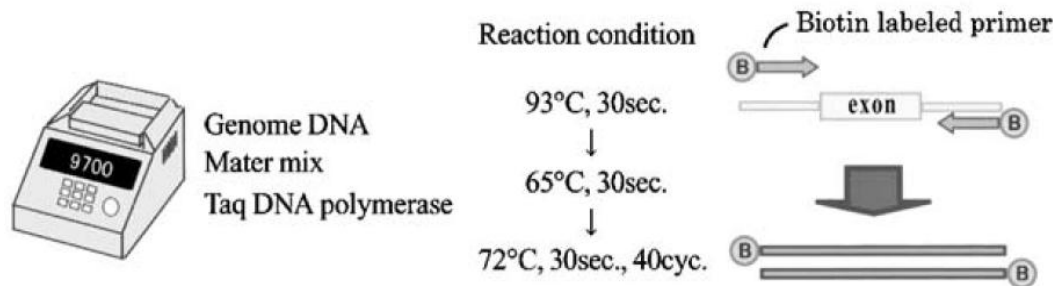
b) Nguyên vật liệu và thiết bị

- Máy PCR, máy ủ nhiệt
- Hệ thống Luminex
- Máy ly tâm lạnh
- Máy trộn mẫu vortex
- Máy tính và phần mềm phân tích kết quả (LABScan)
- Micro pipet, đầu côn lọc, ống nghiệm 1,5 ml, hốt vô trùng
- Găng tay, mũ, khẩu trang
- Kít PCR gồm khay 96 giếng hoặc ống nghiệm chạy PCR, mồi DNA (primer) đặc hiệu *HLA* có gắn biotin, đệm D-mix
- Kít lai DNA chứa hạt nhựa gắn đầu dò (probe) đặc hiệu DNA đối với từng allele *HLA*, dung dịch Streptavidin-Phycoerythrin (SA-PE) gắn huỳnh quang, dung dịch đệm lai, đệm hồi tính, đệm biến tính, đệm rửa
- Taq polymerase
- Dung dịch sheath chạy máy
- Cồn 96°-100°C
- Nước khử ion
- Mẫu DNA (nồng độ 20-200 ng/μl) đã tách từ bệnh phẩm máu ngoại vi

c) Các bước thực hiện [95]

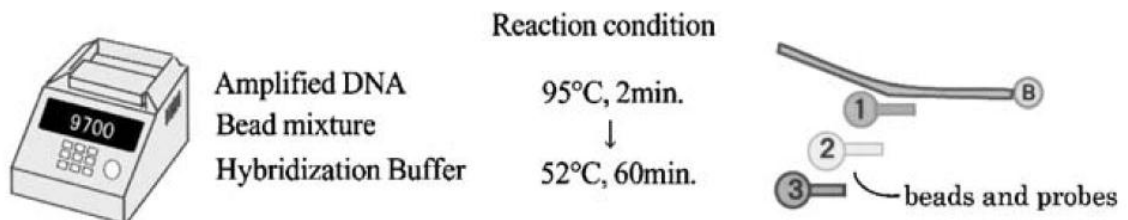
Bước khuếch đại (amplification): dùng khoảng 12 đoạn mồi của *HLA-B* để khuếch đại đoạn gen *HLA-B* bằng PCR. Các đoạn mồi này có gắn biotin (có ái lực mạnh với PE).

Khuếch đại



Bước lai (hybridization): sau khi biến tính ở 95°C, DNA đã khuếch đại sẽ được lai với các đoạn đầu dò DNA đã gắn với hạt từ (bead). Những hạt nào có hiện tượng lai sẽ gắn với DNA mẫu và có biotin. Hạt không lai thì không có biotin.

Bước lai

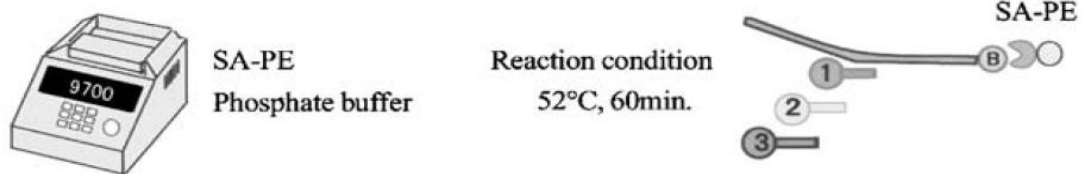


Phản ứng với SA-PE:

Sau khi lai xong, hạt nhựa sẽ được rửa bằng dung dịch đệm thích hợp (rửa hết các DNA không lai với hạt nhựa). Sau đó, dùng dung dịch thích hợp để tái huyền dịch hỗn hợp hạt nhựa.

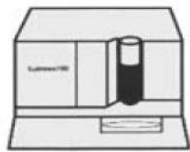
Sản phẩm PCR đã lai và gắn trên hạt từ sẽ được nhuộm với SA-PE. Nhờ vào biotin đã gắn trên mồi, những hạt nhựa nào có biotin thì bắt màu nhuộm với SA-PE, những hạt nhựa nào không có biotin (không lai với DNA mẫu) thì không bắt màu PE.

< Phản ứng SA-PE

**Đo lường (measurement):**

Hệ thống máy Luminex xác định mật độ huỳnh quang của PE gắn trên các hạt nhựa đã lai với sản phẩm PCR, qua đó xác định được *HLA* của DNA trong mẫu. Máy sẽ đọc những hạt nhựa nào có PE, bỏ qua những hạt không có PE. Dựa vào mã màu của hạt nhựa có thể xác định được tên của đoạn đầu dò, qua đó phát hiện kiểu gen *HLA* của bệnh nhân (phụ lục 3).

Đo lường



Measurement per 1 sample
about 30 sec.

BeadNumber	BeadID	PE	PCR product
1	○	○	○
2	○	×	×
3	○	×	×

○ means detected.
× means undetected.

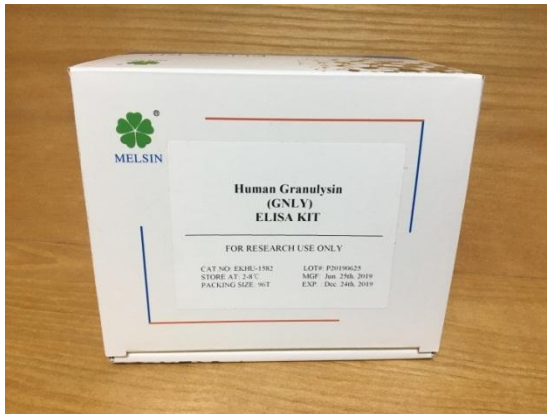
2.2.5.2. Xét nghiệm định lượng granulysin huyết thanh

Được thực hiện tại Bộ môn Miễn dịch, Học viện Quân y.

a) Nguyên lý

Sử dụng phương pháp ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay), bộ kit Human Granulysin ELISA, hãng Melsin, Trung Quốc, theo nguyên lý “sandwich”. Các giếng trong bộ kit (96 giếng) được phủ bởi các kháng thể kháng granulysin tinh khiết để tạo kháng thể pha rắn. Khi granulysin được cho vào giếng, kết hợp với kháng thể kháng granulysin được đánh dấu bằng HRP, sau đó tạo thành phức hợp kháng thể-kháng nguyên-enzym-kháng thể. Sau khi rửa sạch để lấy các enzym thừa, không kết hợp, dung dịch màu A và dung dịch màu B được thêm vào, tạo dung dịch màu xanh nước biển, về sau

chuyển sang màu vàng dưới tác động của acid. Sự thay đổi màu sắc được đo theo phương pháp quang phổ tại bước sóng 450 nm. Nồng độ granulysin trong mẫu huyết thanh được xác định bằng cách so sánh với OD (optical density) của mẫu theo đường cong chuẩn. Nồng độ tối thiểu phát hiện được là 0,15 ng/ml.



Ảnh 2.1. Bộ kit ELISA định lượng granulysin huyết thanh

b) Nguyên vật liệu và thiết bị

- Các giếng phủ kháng thể kháng granulysin người
- Kháng thể kháng granulysin người được biotinyl hóa
- Dung dịch đệm pha loãng mẫu
- Chất thử liên hợp HRP
- Chất tạo màu A
- Chất tạo màu B
- Dung dịch rửa
- Dung dịch làm ngừng
- Tấm kết dính (adhesive plate seal)
- Máy rửa tự động
- Giấy thấm

- Máy ủ 37°C
- Các pipet đơn hoặc nhiều kênh
- Các ống rửa
- Đầu đọc các giếng có khả năng đo độ hấp phụ ở bước sóng 450 nm
- Mẫu huyết thanh

c) Các bước thực hiện

- Pha loãng chuẩn theo hướng dẫn của nhà sản xuất
- Đặt các giếng trống (blank wells) và các giếng mẫu (sample wells). Cho 40 µl dung dịch pha loãng mẫu vào các giếng mẫu, sau đó thêm vào 10 µl huyết thanh (độ pha loãng cuối cùng của mẫu là 5 lần). Không chạm vào thành và đáy của các giếng trong quá trình thêm mẫu. Trộn nhẹ nhàng.
- Thêm 50 µl chất thử liên hợp HRP vào mỗi giếng, trừ các giếng trống
- Ủ ở 37°C trong 30 phút
- Chuẩn bị các dung dịch rửa theo hướng dẫn
- Rửa mỗi giếng 3 lần với dung dịch rửa
- Thêm 50 µl chất tạo màu A và 50 µl chất tạo màu B vào mỗi giếng, che đậy và ủ trong 10 phút ở 37°C
- Ngừng phản ứng: thêm 50 µl dung dịch làm ngừng phản ứng vào mỗi giếng (màu xanh nước biển lập tức chuyển sang màu vàng)
- Đo lường: lấy các giếng trống làm mốc 0, đo OD dưới bước sóng 450 nm, thời gian đo là sau khi thêm dung dịch làm ngừng phản ứng 15 phút.

2.2.5.3. Xét nghiệm định lượng 13 cytokin huyết thanh

Được thực hiện tại Bộ môn Miễn dịch, Học viện Quân y.

a) Nguyên lý

Sử dụng kỹ thuật hấp phụ miễn dịch vi hạt đánh dấu huỳnh quang (fluorescence covalent microbead immunosorbent assay) phát hiện đồng thời 13 cytokin: GM-CSF (granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, yếu tố kích thích dòng tế bào hạt, đại thực bào), IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A và TNF- α .

Cytokin được phát hiện bằng phản ứng miễn dịch huỳnh quang kiểu sandwich trên bề mặt các vi hạt từ. Bề mặt của vi hạt được gắn sẵn các phân tử kháng thể đơn dòng đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên trên phân tử cytokin. Khi ủ mẫu xét nghiệm với hạt phủ kháng thể, các phân tử cytokin sẽ bị kháng thể đặc hiệu bắt giữ và bám vào bề mặt hạt. Sau đó, thêm kháng thể đơn dòng thứ hai đặc hiệu với một quyết định kháng nguyên khác của cytokin đã gắn biotin, tạo thành phức hợp miễn dịch gồm phân tử cytokin kẹp giữa hai kháng thể đơn dòng. Cuối cùng, phức hợp SA-PE được thêm vào sẽ gắn vào kháng thể đơn dòng thứ hai qua tương tác SA-biotin. Dưới tác động của tia laser bước sóng tử ngoại, PE sẽ phát ra ánh sáng huỳnh quang, chứng tỏ cytokin có mặt trong mẫu xét nghiệm. Lượng PE gắn vào tỷ lệ thuận với lượng kháng thể thứ hai, hay lượng cytokin có trên bề mặt hạt từ. Dựa vào mật độ huỳnh quang phát ra từ các hạt được ủ với nồng độ cytokin cho phép định lượng được cytokin (hình 2.2).

b) Nguyên vật liệu và thiết bị

- Hóa chất và sinh phẩm xét nghiệm do hãng Thermo Fisher Scientific (Mỹ) sản xuất

- Hỗn hợp với số lượng bằng nhau các loại hạt từ khác nhau, mỗi loại hạt từ huỳnh quang được gắn lên bề mặt một loại kháng thể đơn dòng đặc hiệu với một cytokin của người: GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A và TNF- α

- Hỗn hợp kháng thể phát hiện đã gắn biotin
- Phức hợp chất huỳnh quang PE gắn SA
- Hỗn hợp chuẩn gồm 27 cytokin của người với nồng độ đã biết
- Các dung dịch pha mẫu, dung dịch pha sinh phẩm, dung dịch rửa (hãng R&D, Mỹ, sản xuất và cung cấp)
- Hệ thống Luminex-200 và phần mềm điều khiển đi kèm (hãng Luminex, Mỹ, chế tạo và cài đặt)
- Mẫu huyết thanh

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

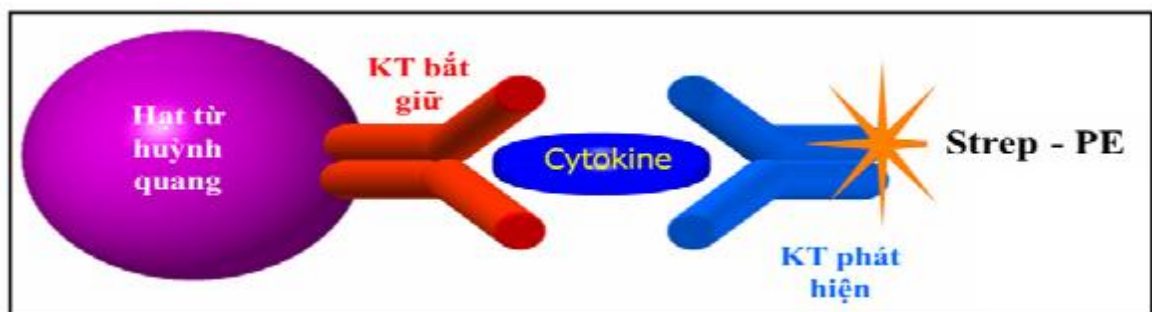
c) Các bước thực hiện [96]

- Bước 1: chia đều 50 µl hỗn hợp hạt từ đã gắn kháng thể vào các giếng của một tấm 96 giếng.
- Bước 2: cho 50 µl mẫu cytokin chuẩn đã pha loãng bậc ba với 2 lọ chất chuẩn nồng độ khác nhau vào các giếng và ủ trong điều kiện lắc nhẹ bằng máy lắc với thời gian 120 phút tại nhiệt độ phòng. Rửa 3 lần để loại bỏ các thành phần không bám vào hạt bằng phương pháp lọc qua màng lọc với máy hút chân không.
- Bước 3: cho 50 µl hỗn hợp kháng thể đơn dòng đặc hiệu cytokin đã gắn biotin vào và ủ tiếp ở điều kiện như trên trong 60 phút để hình thành phức hợp miễn dịch kiểu sandwich. Rửa ba lần theo như mô tả ở bước 2.
- Bước 4: cho 50 µl dung dịch SA-PE vào, ủ trong 30 phút cho gắn vào phức hợp miễn dịch thông qua tương tác biotin-SA. Rửa 3 lần theo như mô tả ở bước 2 để loại bỏ các phức hợp SA-PE tự do.

- Bước 5: cho 100 μ l dung dịch rửa vào mỗi giếng, sau đó đọc và phân tích kết quả bằng hệ thống Luminex-200 ở chế độ chọn tốc độ dòng chảy (60 μ l/phút) và thể tích mẫu đọc là 50 μ l.



Ảnh 2.2. Bộ kit định lượng 13 cytokin huyết thanh



Hình 2.2. Nguyên lý phản ứng phát hiện cytokin [96]

(Ghi chú: KT: kháng thể)

2.3. Một số biến số, chỉ số trong nghiên cứu

Bảng 2.2. Mô tả các biến số trong nghiên cứu

Mục tiêu	Biến số	Loại biến	Định nghĩa	Phương pháp thu thập
<i>Đặc điểm của các bệnh nhân SJS/TEN tham gia nghiên cứu (83 bệnh nhân)</i>	Tuổi	Định lượng, rời rạc	Tuổi tính bằng năm	Hỏi bệnh, xem giấy tờ kèm theo
	Giới	Nhị phân	Giới nam hay nữ	Quan sát, hỏi bệnh nhân
	Loại bệnh	Danh mục	Phân loại bệnh là SJS, TEN hay overlap SJS/TEN theo Bastuji-Garin	Khám lâm sàng, ước lượng % diện tích da có bóng nước, trợt da
	Thuốc gây dị ứng	Danh mục	Thuốc nghi ngờ gây SJS/TEN cho bệnh nhân	Hỏi bệnh, xem đơn thuốc, xem các thuốc của bệnh nhân, dựa theo sơ đồ ALDEN
	Thuốc đông y	Biến định tính	Bao gồm thuốc bắc, thuốc nam, thuốc dân gian không có thành phần dược lý rõ ràng	Hỏi tiền sử dùng thuốc, xem thuốc của bệnh nhân
	Thời gian từ khi khởi phát tới khi nhập	Định lượng, rời rạc	Thời điểm khởi phát là lúc bệnh nhân bắt đầu có	Hỏi bệnh, khám bệnh

Mục tiêu	Biến số	Loại biến	Định nghĩa	Phương pháp thu thập
	viện		thương tổn bọng nước, trợt da và/hoặc niêm mạc	
	Thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát	Định lượng, rời rạc	Từ khi bệnh nhân bắt đầu dùng thuốc nghi ngờ gây dị ứng tới khi khởi phát	Hỏi bệnh, xem các thuốc
	Dùng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện	Nhị phân	Bệnh nhân có hay không uống/tiêm corticosteroid trước khi nhập viện	Hỏi bệnh, xem giấy tờ y tế của tuyến dưới, của bệnh nhân
	Thương tổn niêm mạc	Nhị phân	Bệnh nhân có hay không có ít nhất một niêm mạc tổn thương	Hỏi bệnh, khám bệnh
	Diện tích thương tổn da	Biến định lượng	Diện tích da bị trợt, có bọng nước, hoại tử	Theo quy luật số 9 kết hợp tham khảo hình 2.1
	Điểm SCORTEN 6 tiêu chí	Biến định lượng	Đánh giá mức độ nặng của SJS/TEN	Tính điểm cho 6 tiêu chí đã nói ở phần trên
	Sốt	Nhị phân - Có	Bệnh nhân có sốt khi thân	Dùng nhiệt kế điện tử đo

Mục tiêu	Biến số	Loại biến	Định nghĩa	Phương pháp thu thập
		- Không	nhiệt $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$	ở nách
	Tăng men gan	Nhị phân - Có - Không	Tăng men gan khi AST >40 UI/L và hoặc ALT >40 UI/L	Xét nghiệm sinh hóa máu
	Hạ bạch cầu	Nhị phân - Có - Không	Hạ bạch cầu khi chỉ số bạch cầu <4 G/L	Xét nghiệm công thức máu
	Có vấn đề về thận	Nhị phân - Có - Không	Có vấn đề về thận khi có tăng ure máu (>8,3 mmol/L) và/hoặc creatinin máu (>120 mmol/L) và/hoặc có protein niệu (+)	Xét nghiệm sinh hóa máu, nước tiểu
	Viêm phổi, phế quản phổi	Nhị phân - Có - Không	Dựa trên phim chụp XQ ngực có hình ảnh viêm phổi, phế quản phổi, nghe phổi có ran bất thường	Phim chụp XQ ngực, khám lâm sàng
	Thuốc điều trị	Danh mục	Theo 3 loại: - Corticosteroid toàn thân - Ciclosporin - Chăm sóc hỗ trợ đơn thuần	Xem bệnh án điều trị của bệnh nhân

Mục tiêu	Biến số	Loại biến	Định nghĩa	Phương pháp thu thập
	Thời gian TTTB	Định lượng, rời rạc	Thời gian từ khi khởi phát cho tới khi bệnh nhân tái tạo da mới, da khô, không có thương tổn mới, không còn vết trợt	Khám lâm sàng, quan sát ngày TTTB, hỏi bệnh nhân về thời gian khởi phát
<i>Xác định một số gen (allele HLA-B) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam</i>	Allele HLA-B	Danh mục	Định type HLA-B của từng bệnh nhân, mỗi bệnh nhân có 2 allele HLA-B nằm trên 2 nhánh ngắn của nhiễm sắc thể số 6	Kỹ thuật PCR-SSO
<i>Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN</i>	Nồng độ granulysin huyết thanh	Định lượng, liên tục	Nồng độ granulysin (ng/ml) trong huyết thanh	Kỹ thuật ELISA
	TNF- α , TFN- γ , IL-2, IL-1 β , IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, IL-13, IL-17A, GM-CSF	Định lượng, liên tục	Nồng độ các cytokin (pg/ml) này trong huyết thanh	Kỹ thuật hấp phụ miễn dịch vi hạt đánh dấu huỳnh quang phát hiện đồng thời 13 cytokin

2.4. Địa điểm nghiên cứu

- Bệnh viện Da liễu Trung ương, Bệnh viện Bạch Mai: là nơi các đối tượng tham gia nghiên cứu (bệnh nhân SJS/TEN và EM) điều trị nội trú.
- Viện Huyết học-Truyền máu Trung ương: là nơi thực hiện xét nghiệm *HLA-B* độ phân giải cao.
- Bộ môn Miễn dịch, Học viện Quân y: là nơi thực hiện các xét nghiệm định lượng granulyxin và 13 cytokin huyết thanh.

2.5. Thời gian nghiên cứu

Từ tháng 01/2018 tới tháng 10/2019.

2.6. Xử lý số liệu

- Xử lý số liệu theo phần mềm SPSS 16.0
- Các biến số được thể hiện dưới dạng trung bình, độ lệch, trung vị, giá trị nhỏ nhất, giá trị lớn nhất, tỷ lệ phần trăm, tần số.
- Dùng test Shapiro-Wilk (cho cỡ mẫu dưới 50) để khảo sát sự phân bố chuẩn của một biến định lượng.
- Các test thống kê được sử dụng để so sánh hai trung bình: t-test cho các biến có phân bố chuẩn, các test phi tham số (Wilcoxon và Mann-Whitney U) cho các biến không có phân bố chuẩn. Test χ^2 dùng để so sánh hai tỷ lệ. Test Pearson dùng để kiểm định mối tương quan giữa hai biến định lượng.
- Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi $p < 0,05$.

2.7. Đạo đức trong nghiên cứu

- Nghiên cứu viên đảm bảo thực hiện quy trình phù hợp với tuyên ngôn Helsinki về đạo đức trong nghiên cứu. Nghiên cứu được sự chấp thuận của Hội đồng đạo đức về nghiên cứu y sinh, Trường Đại học Y Hà Nội theo quyết định số 04NCS17/HĐĐĐ-ĐHYHN, ngày 08 tháng 02 năm 2018.

- Những người tham gia nghiên cứu và người đại diện hợp pháp của họ được giải thích đầy đủ về quy trình, mục đích, nguy cơ của nghiên cứu và ký vào bản chấp thuận lưu mẫu, tham gia vào nghiên cứu trước khi tiến hành bất cứ can thiệp nào.

- Tất cả các hoạt động tiến hành trong nghiên cứu này đều tuân thủ quy định và nguyên tắc chuẩn mực về đạo đức nghiên cứu y sinh học của Việt Nam và quốc tế. Các hoạt động nghiên cứu hầu như không gây nguy hiểm cho người bệnh. Tất cả người bệnh tự nguyện tham gia vào nghiên cứu sau khi được tư vấn đầy đủ. Các số liệu y học mang tính cá nhân trong nghiên cứu được đảm bảo nguyên tắc bí mật, không được công bố trên báo chí, kể cả báo khoa học. Đây là nghiên cứu mô tả, không có can thiệp nên không ảnh hưởng đến tiến độ, phương pháp điều trị cho bệnh nhân.

2.8. Hạn chế của nghiên cứu

- Không thực hiện các xét nghiệm kiểm tra thuốc gây dị ứng (test áp da, phản ứng chuyển dạng lympho bào).

- Khó khăn trong việc xác định thời gian bán thải của các thuốc đông y để tính điểm theo bảng ALDEN.

- Không có nhóm chứng cho nghiên cứu về *HLA-B*.

- Không thực hiện các xét nghiệm vi sinh vật tìm nguyên nhân ngoài thuốc của SJS/TEN.

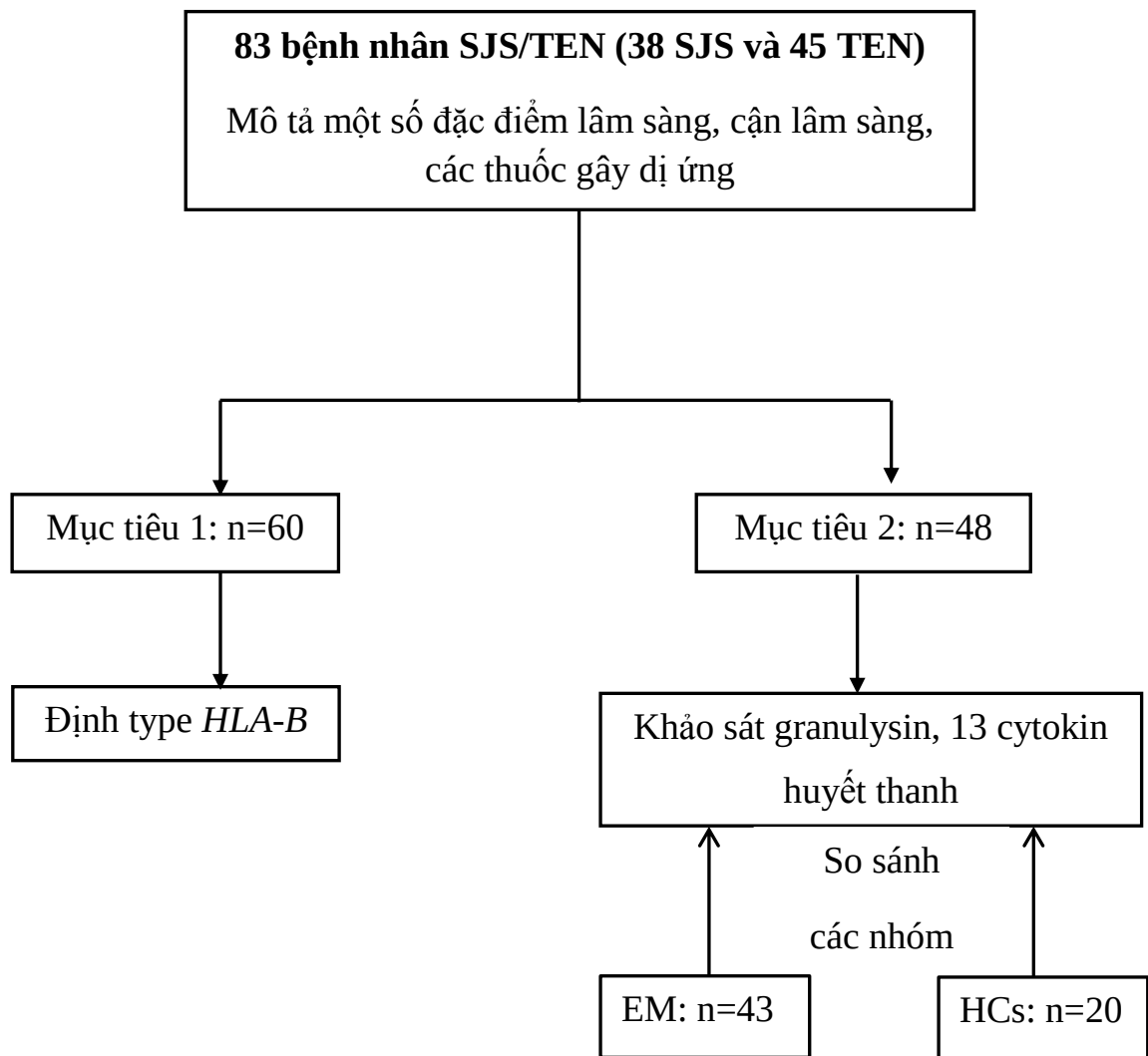
2.9. Cách không chế sai số trong nghiên cứu

- Các công cụ thu thập thông tin được thiết kế thích hợp theo các mục tiêu nghiên cứu.

- Nghiên cứu sinh trực tiếp thu thập thông tin.

- Chẩn đoán SJS/TEN và EM dựa trên ý kiến của ít nhất hai bác sỹ chuyên khoa da liễu và/hoặc dị ứng.

- Các xét nghiệm được tiến hành tại các cơ sở có uy tín.



Hình 2.3. Sơ đồ nghiên cứu

Chú thích:

SJS: Hội chứng Stevens-Johnson (Stevens-Johnson syndrome)

TEN: Hoại tử thượng bì nhiễm độc (toxic epidermal necrolysis)

EM: Hồng ban đa dạng (erythema multiforme)

HCs: Những người khỏe mạnh (healthy controls)

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Xác định một số gen (allele *HLA-B*) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam

3.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân SJS/TEN

Trong thời gian từ tháng 01/2018 tới tháng 10/2019, có 83 bệnh nhân SJS/TEN tham gia nghiên cứu (38 bệnh nhân SJS, chiếm 45,8%; 45 bệnh nhân TEN, chiếm 54,2%, không có bệnh nhân overlap SJS/TEN). Có 2 bệnh nhân dân tộc Tày, còn lại 81 bệnh nhân đều dân tộc Kinh.

Bảng 3.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân SJS/TEN

	SJS (n=38)	TEN (n=45)	SJS/TEN (n=83)
Tuổi (năm)			
Trung bình $\pm$ SD	47,9 $\pm$ 16,9	51,4 $\pm$ 14,9	49,8 $\pm$ 15,9
Nhóm tuổi, n (%)			
<30	6 (15,8)	5 (11,1)	11 (13,3)
30-39	8 (21,1)	5 (11,1)	13 (15,7)
40-50	6 (15,8)	7 (15,6)	13 (15,7)
>50	18 (47,3)	28 (62,2)	46 (55,3)
Giới tính, n (%)*			
Nam	20 (52,6)	22 (48,9)	42 (50,6)
Nữ	18 (47,4)	23 (51,1)	41 (49,4)
Tiền sử dị ứng thuốc, n (%)			
Allopurinol	1 (2,6)	0 (0)	1 (1,2)
Piroxicam	0 (0)	1 (2,2)	1 (1,2)
Không ghi nhận	37 (97,4)	44 (97,8)	81 (97,4)

*Không có sự khác nhau về tỷ lệ nam và nữ trong từng nhóm, $p > 0,05$, test χ^2 .

Nhận xét: Tuổi trung bình của các bệnh nhân SJS/TEN là 49,8 (thấp nhất là 19, cao nhất là 77), nam chiếm 50,6%; nữ chiếm 49,4%. Độ tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là trên 50, tiếp theo là 30-39 tuổi. Có hai bệnh nhân được ghi nhận có tiền sử dị ứng thuốc trước đó.

Bảng 3.2. Các thuốc gây dị ứng trong SJS/TEN

Thuốc	SJS		TEN		p (SJS với TEN)	SJS/TEN	
	n	%	n	%		n	%
Allopurinol	12	31,7	4	8,9	<0,05	16	19,3
Carbamazepin	10	26,3	6	13,4	>0,05	16	19,3
Thuốc đông y	2	5,2	15	33,4	<0,05	17	20,5
Kháng sinh ^ε	3	7,9	2	4,4	>0,05	5	6
Diclofenac	0	0	1	2,2	NA	1	1,2
Phenylbutazon	1	2,6	0	0	NA	1	1,2
Piracetam	0	0	1	2,2	NA	1	1,2
Piroxicam	0	0	1	2,2	NA	1	1,2
Thalidomid	0	0	1	2,2	NA	1	1,2
Lamotrigin	0	0	1	2,2	NA	1	1,2
Không rõ	10	26,3	13	28,9	>0,05	23	27,7
Tổng	38	100	45	100		83	100

^εamoxicillin, cefalexin, zodocin (metronidazol và spiramycin), metronidazol; NA: non applicable (không áp dụng vì cỡ mẫu bé)

Nhận xét: Trong SJS/TEN, thuốc đông y chiếm tỷ lệ cao nhất, tiếp theo là allopurinol và carbamazepin. Có 23 bệnh nhân không rõ thuốc gây dị ứng. Tỷ lệ thuốc đông y trong nhóm TEN cao hơn nhóm SJS, tỷ lệ thuốc

allopurinol trong nhóm SJS cao hơn nhóm TEN, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (test χ^2). Các thuốc khác không có sự khác nhau giữa hai nhóm.

Bảng 3.3. Thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát (ngày)

Thuốc	Trung bình $\pm$ SD	Khoảng
Allopurinol (n=16)	15,9 $\pm$ 6,3	7-30
Carbamazepin (n=16)	20,3 $\pm$ 16,7	7-60
Thuốc đông y (n=17)	23,1 $\pm$ 14,3	10-60
Kháng sinh (n=5)	8,0 $\pm$ 4,5	5-15
Các thuốc khác* (n=6)	25 $\pm$ 24,2	1-60
Tất cả các thuốc (n=60)	19,4 $\pm$ 14,5	1-60

*diclofenac, phenylbutazon, piracetam, piroxicam, thalidomid, lamotrigin

Nhận xét: Thuốc đông y có thời gian trung bình từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát là 23,1 ngày; allopurinol 15,9 ngày, carbamazepin 20,3 ngày; các thuốc khác 25 ngày. Với tất cả các loại thuốc, thời gian trung bình là 19,4 ngày. Đáng chú ý, với kháng sinh, thời gian trung bình là 8 ngày, ngắn nhất trong các thuốc.

Bảng 3.4. Diện tích thương tổn da (%)

	SJS (n=38)	TEN (n=45)	p (SJS với TEN)	SJS/TEN (n=83)
Trung bình $\pm$ SD	5,3 $\pm$ 2,4	68,2 $\pm$ 22,1	<0,001	39,5 $\pm$ 35,5
Khoảng	1-9	30-100		1-100

Nhận xét: Diện tích da bị hoại tử, trợt, bong nước ở nhóm SJS là 5,3% so với diện tích cơ thể; ở nhóm TEN là 68,2%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ (t-test). Ở nhóm SJS/TEN nói chung, diện tích da trung bình là 39,5%.

Bảng 3.5. Điểm SCORTEN 6 tiêu chí của nhóm SJS/TEN

	SJS (n=38)	TEN (n=45)	p (SJS với TEN)	SJS/TEN (n=83)
Trung bình $\pm$ SD	1 $\pm$ 0,8	2 $\pm$ 0,7	<0,001	1,5 $\pm$ 0,9
Khoảng (điểm)	0-3	1-4		0-4
Phân bố theo điểm, n (%)				
0 điểm	11 (28,9)	0 (0)	<0,05	11 (13,3)
1 điểm	18 (47,4)	10 (22,2)	<0,05	28 (33,7)
2 điểm	8 (21,1)	26 (57,8)	<0,05	34 (41)
3 điểm	1 (2,6)	8 (17,8)	<0,05	9 (10,8)
4 điểm	0 (0)	1 (2,2)	>0,05	1 (1,2)
Tổng	38 (100)	45 (100)		83 (100)

Nhận xét: Điểm SCORTEN trung bình của nhóm SJS/TEN là 1,5; trong đó, điểm trung bình của nhóm TEN cao hơn nhóm SJS (2 so với 1, $p < 0,05$). Ở nhóm SJS, điểm có tần số cao nhất là 1 điểm (47,4%), ở nhóm TEN, điểm có tần số cao nhất là 2 (57,8%). Điểm SCORTEN cao nhất là 4 nhưng chỉ gặp ở một bệnh nhân TEN.

Bảng 3.6. Thương tổn các niêm mạc trong SJS/TEN

Niêm mạc	SJS (n=38)		TEN (n=45)		p (SJS với TEN)	SJS/TEN (n=83)	
	n	%	n	%		n	%
Mắt	25	65,8	28	62,2	>0,05	53	63,9
Miệng	36	94,7	34	75,6	<0,05	70	84,3
Sinh dục	20	52,6	26	57,8	>0,05	46	55,4
Mũi	4	10,5	5	11,1	>0,05	9	10,8
Hậu môn	5	13,2	6	13,3	>0,05	22	26,5
Chung	37	97,4	34	75,6	<0,05	71	85,5

Nhận xét: Tỷ lệ có thương tổn niêm mạc nói chung của nhóm SJS (97,4%) cao hơn so với nhóm TEN (75,6%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$. Tỷ lệ có thương tổn niêm mạc miệng ở nhóm SJS là 94,7%; ở nhóm TEN là 75,6%, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$ (test χ^2).

Bảng 3.7. Các đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng khác

Đặc điểm	SJS (n=38)		TEN (n=45)		p (SJS với TEN)	SJS/TEN (n=83)	
	n	%	n	%		n	%
Sốt	20	52,6	31	68,9	>0,05	51	61,4
Tăng men gan	23	60,5	32	71,1	>0,05	55	66,3
Hạ bạch cầu	3	7,9	8	17,8	>0,05	11	13,3
Rối loạn chức năng thận	12	31,6	21	46,7	>0,05	33	39,8
Viêm phế quản phổi	2	5,3	11	24,4	<0,05	13	15,7
Nhiễm khuẩn khác ^o	3	7,9	1	2,2	>0,05	4	4,8

^oNhiễm khuẩn huyết, viêm màng não

Nhận xét: Tỷ lệ bệnh nhân SJS/TEN có sốt là 61,4%; tăng men gan 66,3%; hạ bạch cầu 13,3%; rối loạn chức năng thận 39,8%; viêm phế quản phổi 15,7%. Nhóm TEN có tỷ lệ viêm phế quản phổi cao hơn nhóm SJS (24,4% so với 5,3%), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (test χ^2). Các đặc điểm khác không có sự khác nhau giữa hai nhóm.

Bảng 3.8. Thuốc điều trị và thời gian TTTB

	SJS (n=38)	TEN (n=45)	p (SJS với TEN)	SJS/TEN (n=83)
Thuốc điều trị, n (%)				
Corticosteroid toàn thân	34 (89,5)	35 (77,8)	$>0,05$	69 (83,1)
Ciclosporin A	4 (10,5)	8 (17,8)	$<0,05$	12 (14,5)
Chỉ chăm sóc hỗ trợ	0 (0)	2 (4,4)	NA	2 (2,4)
Thời gian TTTB, ngày				
Trung bình $\pm$ SD	13,3 $\pm$ 3,9	17,0 $\pm$ 4,3	$<0,01$	15,9 $\pm$ 4,6
Khoảng	5-23	10-31		9-31
Số ngày nằm viện, ngày				
Trung bình $\pm$ SD	12,3 $\pm$ 4,5	17,9 $\pm$ 6,1	$<0,001$	15,1 $\pm$ 6,0
Khoảng	5-23	6-30		5-30

NA: non applicable (không áp dụng vì cỡ mẫu bé)

Nhận xét: Thuốc điều trị chính trong SJS/TEN là corticosteroid toàn thân, chiếm 83,1% (trong nhóm SJS là 89,5%; trong nhóm TEN là 77,8%). Ciclosporin A được sử dụng ít hơn, có 12 bệnh nhân, chiếm 14,5%. Thời gian TTTB trung bình cho nhóm SJS là 13,3 ngày, ngắn hơn so với nhóm TEN (17 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (t-test); trung bình cho

nhóm SJS/TEN là 15,9 ngày. Thời gian nằm viện trung bình của nhóm SJS là 12,3 ngày, ngắn hơn so với nhóm TEN (17,9 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$ (t-test).

3.1.2. Xác định một số gen (allele *HLA-B*) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam

Trong số 83 bệnh nhân SJS/TEN tham gia nghiên cứu, có 60 bệnh nhân người Việt (dân tộc Kinh) được làm xét nghiệm *HLA-B* độ phân giải cao.

Bảng 3.9. Kết quả genotype *HLA-B* (n=60)

Bệnh nhân	Chẩn đoán	Thuốc	Allele 1	Allele 2
1	SJS	Carbamazepin	15:02	15:25
2	SJS	Carbamazepin	15:02	40:01
3	SJS	Carbamazepin	15:02	51:01
4	SJS	Carbamazepin	15:02	56:04
5	SJS	Carbamazepin	15:02	15:02
6	SJS	Carbamazepin	15:02	46:01
7	SJS	Carbamazepin	15:02	46:01
8	TEN	Carbamazepin	15:02	44:03
9	TEN	Carbamazepin	15:02	40:01
10	TEN	Carbamazepin	15:02	55:02
11	TEN	Carbamazepin	15:02	54:01
12	TEN	Carbamazepin	15:02	13:01
13	TEN	Carbamazepin	15:02	13:01
14	SJS	Không rõ	15:02	51:02
15	SJS	Không rõ	15:02	13:01
16	SJS	Không rõ	15:02	73:01
17	SJS	Không rõ	15:02	57:01
18	SJS	Không rõ	15:02	40:01
19	TEN	Không rõ	15:02	35:05

Bệnh nhân	Chẩn đoán	Thuốc	Allele 1	Allele 2
20	TEN	Không rõ	15:02	15:02
21	TEN	Thuốc đông y	15:02	51:02
22	TEN	Thuốc đông y	15:02	54:01
23	SJS	Allopurinol	15:02	58:01
24	SJS	Zodocin*	15:02	15:02
25	TEN	Piroxicam	15:02	15:02
26	SJS	Allopurinol	58:01	13:02
27	SJS	Allopurinol	58:01	57:01
28	SJS	Allopurinol	58:01	40:06
29	SJS	Allopurinol	58:01	13:01
30	SJS	Allopurinol	58:01	46:01
31	SJS	Allopurinol	58:01	51:01
32	SJS	Allopurinol	58:01	38:02
33	SJS	Allopurinol	58:01	40:01
34	TEN	Allopurinol	58:01	40:01
35	TEN	Allopurinol	58:01	46:01
36	TEN	Allopurinol	58:01	56:04
37	TEN	Allopurinol	58:01	40:01
38	TEN	Không rõ	58:01	07:02
39	SJS	Không rõ	58:01	35:05
40	SJS	Không rõ	07:05	46:01
41	SJS	Không rõ	38:02	46:01
42	TEN	Không rõ	15:25	46:01
43	TEN	Không rõ	13:01	51:02
44	TEN	Không rõ	56:04	51:02
45	SJS	Không rõ	13:01	38:02
46	SJS	Không rõ	13:01	07:02
47	SJS	Không rõ	07:05	51:01
48	TEN	Không rõ	07:05	51:01

Bệnh nhân	Chẩn đoán	Thuốc	Allele 1	Allele 2
49	SJS	Không rõ	56:02	38:02
50	TEN	Không rõ	07:05	73:01
51	TEN	Thuốc đông y	51:02	46:01
52	TEN	Thuốc đông y	15:01	51:02
53	TEN	Thuốc đông y	15:21	51:02
54	TEN	Thuốc đông y	37:01	51:02
55	TEN	Thuốc đông y	15:25	51:02
56	TEN	Thuốc đông y	54:01	54:01
57	TEN	Diclofenac	13:01	51:01
58	SJS	Phenylbutazon	35:05	38:02
59	TEN	Thalidomid**	15:21	57:01
60	TEN	Lamotrigin	15:21	46:01

*zodocin gồm metronidazol và spiramycin; **điều trị đa u tủy xương

Nhận xét: Ở 60 bệnh nhân SJS/TEN, có tổng cộng 24 haplotype *HLA-B* (*HLA-B**07:02; 07:05; 13:01; 13:02; 15:01; 15:02; 15:21; 15:25; 35:05; 37:01; 38:02; 40:01; 40:06; 44:03; 46:01; 51:01; 51:02; 54:01; 55:02; 56:02; 56:04; 57:01; 58:01 và 73:01). Trong đó, allele *HLA-B**15:02 gặp ở 25 bệnh nhân, chiếm 41,7%; allele *HLA-B**58:01 gặp ở 15 bệnh nhân, chiếm 25%; allele *HLA-B**46:01 gặp ở 9 bệnh nhân, chiếm 15%; allele *HLA-B**51:02 và *HLA-B**13:01 đều gặp ở 8 bệnh nhân, chiếm 13,3%; allele *HLA-B**07:05 gặp ở 4 bệnh nhân, chiếm 6,6%. Các allele khác có tần suất ít hơn.

- Ở 25 bệnh nhân mang allele *HLA-B**15:02, có 13/25 bệnh nhân bị SJS/TEN do carbamazepin, chiếm 52%; 2 bệnh nhân do thuốc đông y (8%); 1 bệnh nhân do allopurinol (4%); 1 bệnh nhân do piroxicam (4%); 1 bệnh nhân do zodocin (4%); có 7 bệnh nhân không rõ thuốc nghi ngờ gây dị ứng (28%).

- Ở 15 bệnh nhân mang allele *HLA-B**58:01, có 13 bệnh nhân bị SJS/TEN do allopurinol, 2 bệnh nhân bị SJS/TEN không rõ thuốc gây dị ứng.

- Ở các bệnh nhân SJS/TEN do thuốc đông y, có 6/8 bệnh nhân mang allele *HLA-B**51:02, chiếm 75%.

3.2. Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN

Có 48 bệnh nhân SJS/TEN, 43 bệnh nhân EM và 20 người khỏe mạnh được định lượng granulysin và các cytokin huyết thanh.

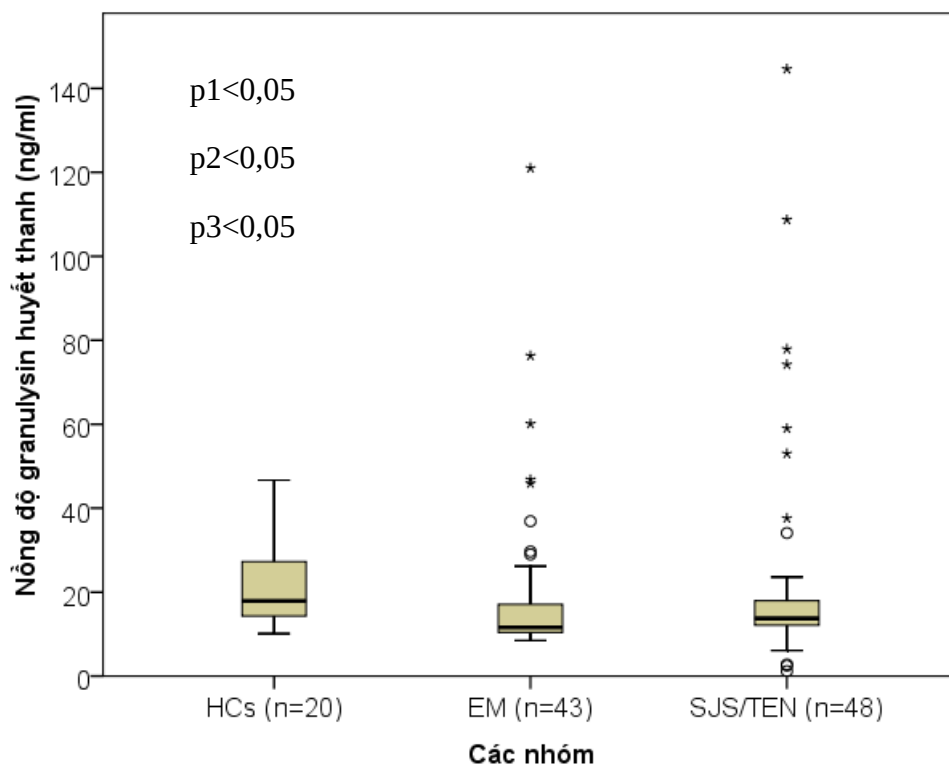
Bảng 3.10. Đặc điểm của nhóm EM, SJS/TEN và HCs

	EM (n=43)	HCs (n=20)	SJS/TEN (n=48)
Tuổi (năm)			
Trung bình $\pm$ SD	41,4 $\pm$ 17,3	28,4 $\pm$ 3,5	49,3 $\pm$ 15,0
Khoảng	19-76	25-37	19-77
Giới, n (%)			
Nam	13 (30,2)	10 (50)	23 (47,9)
Nữ	30 (69,8)	10 (50)	25 (52,1)
Nguyên nhân, n (%)		NA	
- Thuốc	18 (41,9)		
Thuốc đông y	8 (44,4)		14 (29,1)
Kháng sinh	5 (27,8)		3 (6,2)
Allopurinol	3 (16,6)		6 (12,5)
Thực phẩm chức năng	2 (11,2)		0 (0)
- Không rõ	25 (58,1)		14 (29,2)
Thương tổn da, n (%)		NA	NA
Hình bia bắn điển hình	7 (16,3)		
Hình bia bắn không điển hình	30 (69,7)		
Cả hai loại hình bia bắn	6 (14)		
Thương tổn niêm mạc, n (%)	9 (20,9)	NA	39 (81,2)
Sốt, n (%)	10 (23,3)	NA	27 (56,2)

NA: non applicable (không áp dụng)

Nhận xét: Trong nhóm EM, tuổi trung bình là 41,4 (dao động từ 19-76 tuổi), nam chiếm 30,2%, nữ chiếm 69,8%; nguyên nhân do thuốc chiếm 41,9%, chưa rõ nguyên nhân 58,1%. Các bệnh nhân EM có hình bia bản không điển hình (69,7%), điển hình (16,3%) và cả hai loại (14%); tỷ lệ có thương tổn niêm mạc là 20,9%, có sốt là 23,3%. Nhóm HCs có tuổi trung bình là 28,4 (25-37 tuổi), nam chiếm 50%, nữ chiếm 50%.

3.2.1. Nồng độ granulysin huyết thanh

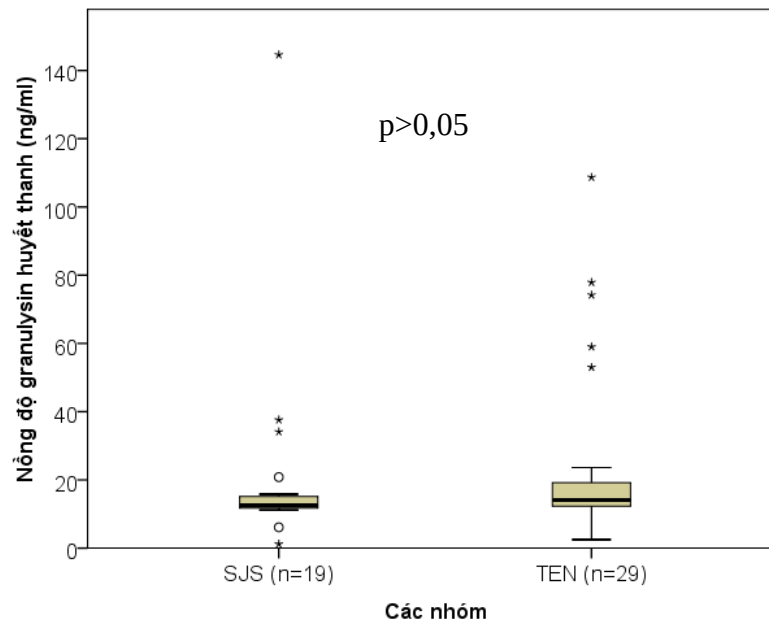


Biểu đồ 3.1. Nồng độ granulysin huyết thanh của ba nhóm tại thời điểm nhập viện

p1: so sánh nhóm SJS/TEN với nhóm EM, p2: nhóm SJS/TEN với nhóm HCs, p3: nhóm EM với nhóm HCs

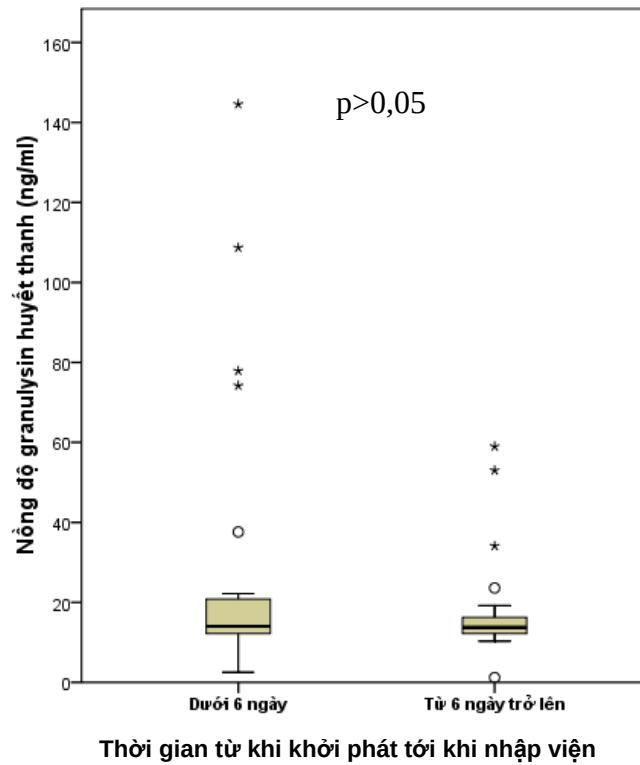
Nhận xét: Nồng độ granulysin huyết thanh tại thời điểm nhập viện của nhóm SJS/TEN là $23,0 \pm 27,3$ ng/ml (dao động từ 1,2-144,6 ng/ml), cao hơn so với nhóm EM ($20,0 \pm 21,6$ ng/ml; dao động từ 8,5-121 ng/ml, $p < 0,05$) và nhóm

HCs ($20,8 \pm 9,4$ ng/ml; dao động từ 10,1-46,7 ng/ml), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (test Mann-Whitney U). Nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm EM cao hơn nhóm HCs ($p < 0,05$; test Mann-Whitney U).



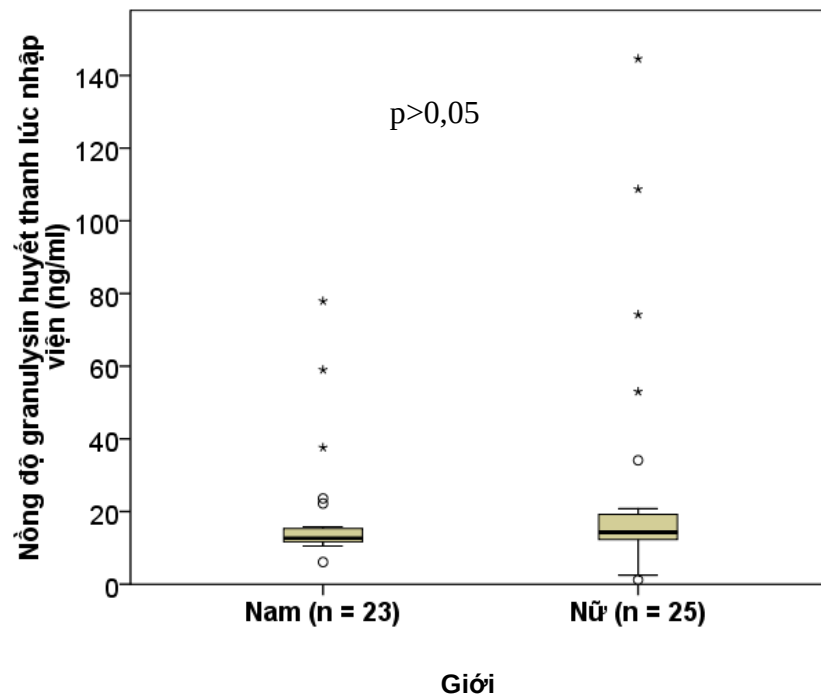
Biểu đồ 3.2. Nồng độ granulysin huyết thanh của nhóm SJS và TEN tại thời điểm nhập viện

Nhận xét: Nồng độ granulysin huyết thanh của nhóm SJS là $21,7 \pm 30,9$ ng/ml; của nhóm TEN là $23,9 \pm 25,3$ ng/ml, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ (test Mann-Whitney U).



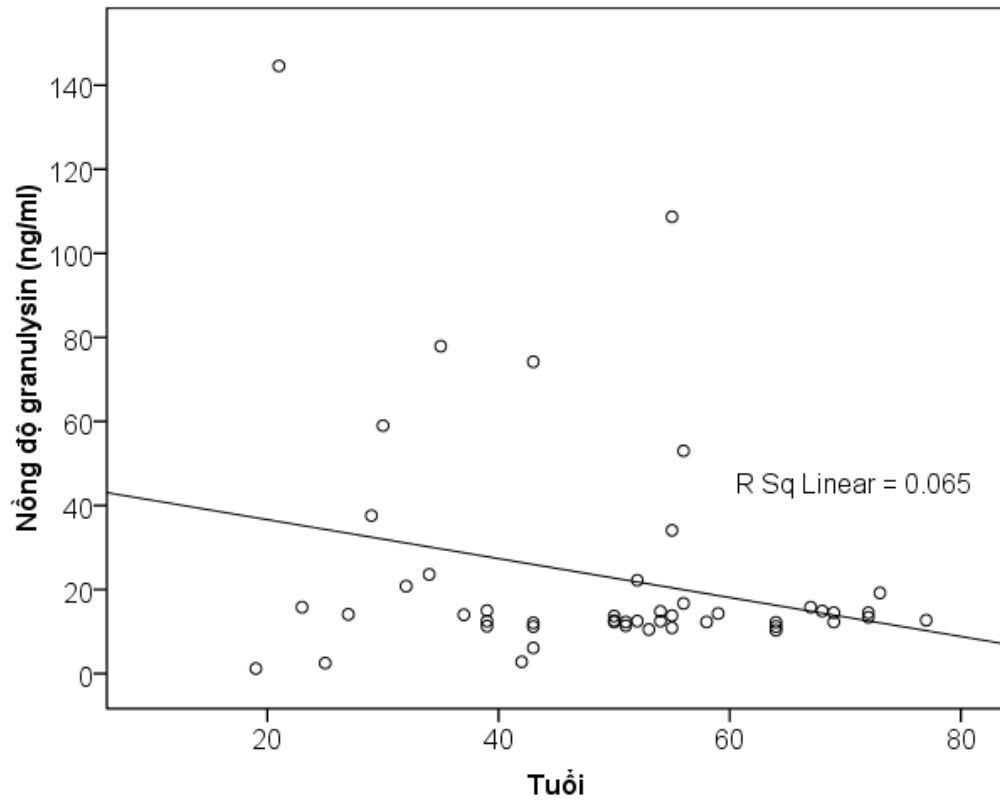
Biểu đồ 3.3. Nồng độ granulysin huyết thanh theo thời gian khởi phát của nhóm SJS/TEN

Nhận xét: Nồng độ granulysin huyết thanh ở 25 mẫu thu thập dưới 6 ngày sau khi khởi phát là $27,7 \pm 35,4$ ng/ml (dao động từ 2,5-144,6 ng/ml), cao hơn so với 23 mẫu thu thập sau khởi phát từ 6 ngày trở lên ($17,9 \pm 13,4$ ng/ml; dao động từ 1,2-59 ng/ml), tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ (test Mann-Whitney U).



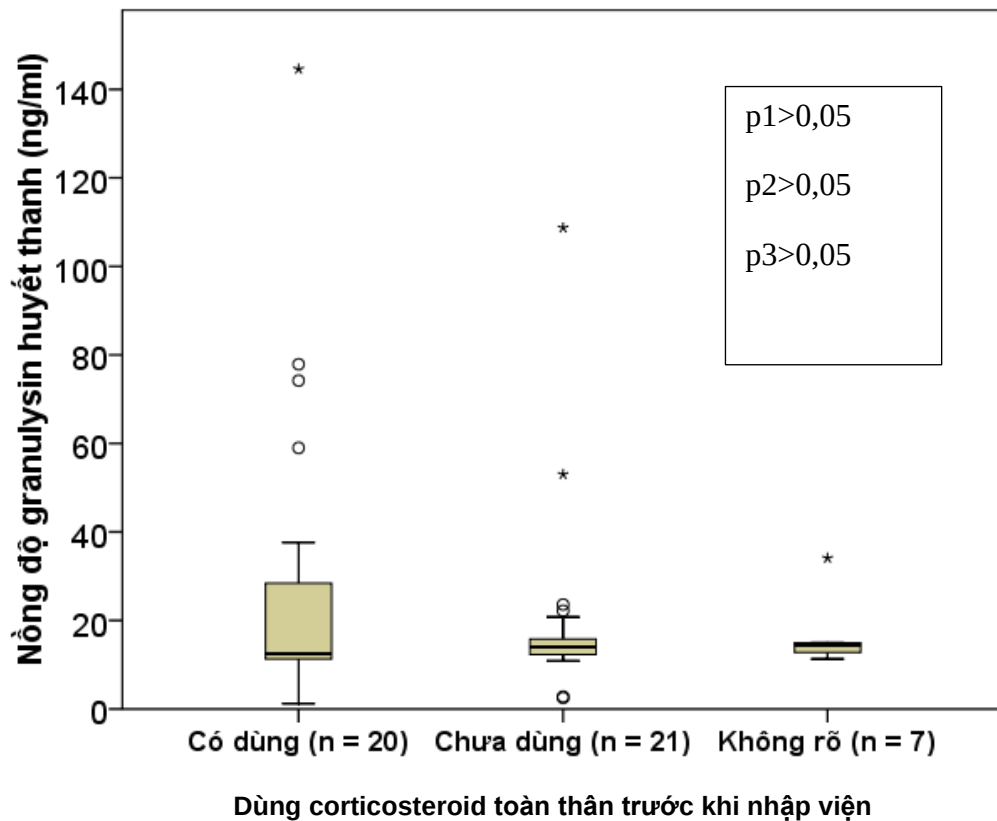
Biểu đồ 3.4. Nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm SJS/TEN theo giới tính tại thời điểm nhập viện

Nhận xét: Nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm bệnh nhân nam là 19,3 ng/ml (dao động từ 6,1-77,9 ng/ml), thấp hơn nhóm bệnh nhân nữ (26,5 ng/ml; dao động từ 1,2-144,6 ng/ml). Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$, test Mann-Whitney U).



Biểu đồ 3.5. Tương quan giữa nồng độ granulysin huyết thanh và tuổi

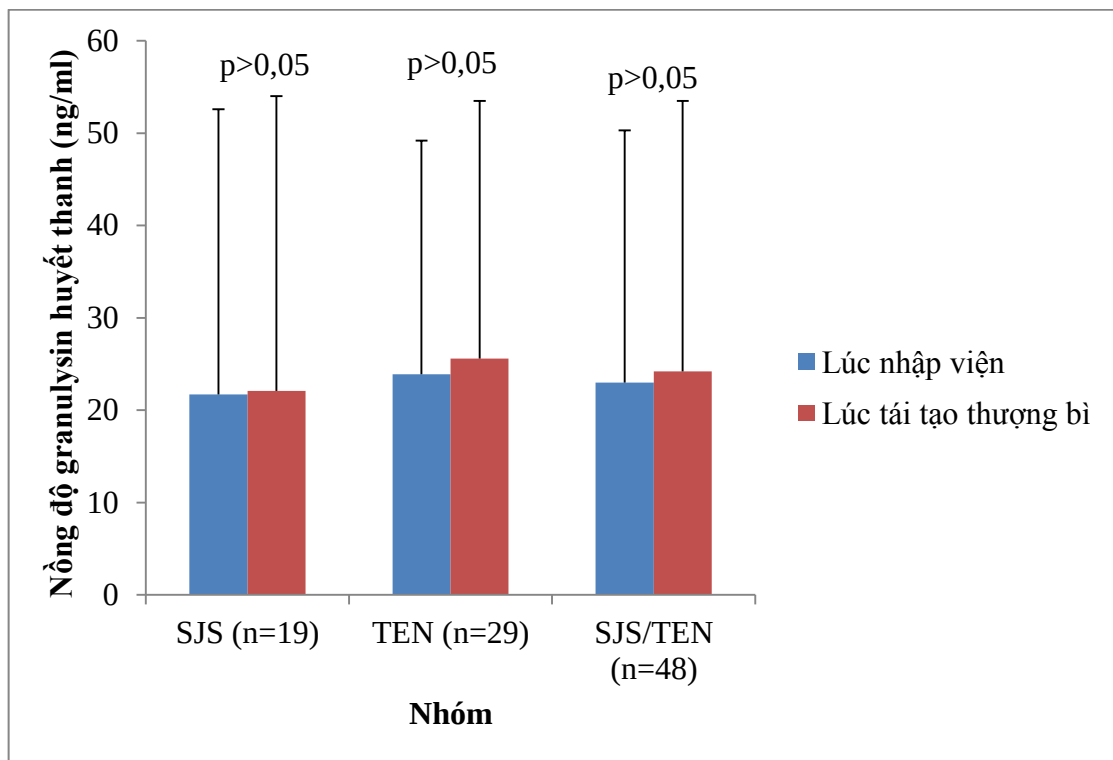
Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, có mối tương quan nghịch biến giữa nồng độ granulysin huyết thanh và tuổi, hệ số $r = (-0,25)$ nhưng không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.6. Nồng độ granulysin huyết thanh của nhóm SJS/TEN theo điều trị corticosteroid trước khi nhập viện

p1: so sánh nhóm có dùng và nhóm chưa dùng, p2: nhóm có dùng và nhóm không rõ, p3: nhóm chưa dùng và nhóm không rõ

Nhận xét: Nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm đã dùng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện là $28,5 \pm 35,1$ ng/ml (dao động từ 1,2-144,6 ng/ml); ở nhóm chưa dùng là $20 \pm 22,6$ ng/ml (dao động từ 2,5-108,7 ng/ml); ở nhóm không rõ đã dùng hay chưa là $16,5 \pm 7,9$ ng/ml (dao động từ 11,3-34,1 ng/ml). Sự khác nhau giữa các nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ (test Mann-Whitney U).



Biểu đồ 3.7. So sánh nồng độ granulysin huyết thanh lúc nhập viện và lúc TTTB của nhóm SJS/TEN

Nhận xét: Nồng độ granulysin huyết thanh lúc nhập viện của nhóm SJS, TEN và SJS/TEN lần lượt là $21,7 \pm 30,9$ ng/ml (dao động từ 1,2-144,6 ng/ml); $23,9 \pm 25,3$ ng/ml (dao động từ 2,5-108,7 ng/ml) và $23,0 \pm 27,3$ ng/ml (dao động từ 1,2-144,4 ng/ml). Nồng độ granulysin lúc TTTB của nhóm SJS là $22,1 \pm 31,9$ ng/ml (dao động từ 0,9-148,9 ng/ml), của nhóm TEN là $25,6 \pm 27,9$ ng/ml (dao động từ 2,2-100,5 ng/ml), của nhóm SJS/TEN là $24,2 \pm 29,3$ ng/ml (dao động từ 0,9-148,9 ng/ml). Sự khác nhau giữa hai thời điểm không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$ (test Wilcoxon).

3.2.2. Nồng độ các cytokin huyết thanh

3.2.2.1. Nồng độ các cytokin huyết thanh của các bệnh nhân lúc nhập viện

Bảng 3.11. So sánh nồng độ các cytokin huyết thanh tại thời điểm nhập viện (pg/ml) của ba nhóm

Cytokin - Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	SJS/TEN (n=48)	EM (n=43)	HCs (n=20)	P (test Mann-Whitney U)
GM-CSF	10,6 $\pm$ 19,2 3,1 3,1-87,7	6,3 $\pm$ 14,6 3,1 3,1-79	10,4 $\pm$ 15,6 3,1 3,1-55,5	p1<0,05 p2>0,05 p3<0,05
IFN- γ	32,1 $\pm$ 91,6 1,7 0-579,9	6,1 $\pm$ 13,4 0,1 0-70,6	0,4 $\pm$ 0,9 0,1 0,1-2,9	p1<0,05 p2<0,01 p3<0,05
IL-1 β	26,4 $\pm$ 81,7 0,5 0,5-447	33 $\pm$ 179 0,5 0,5-1174,1	98,6 $\pm$ 130,6 43,5 0,5-405,9	p1>0,05 p2<0,001 p3<0,05
IL-2	7,6 $\pm$ 17 2,3 2,3-76,8	4,8 $\pm$ 12 2,3 2,3-73,5	4,2 $\pm$ 4,5 2,3 2,3-19,6	p1>0,05 p2>0,05 p3>0,05
IL-4	3 $\pm$ 7,5 0,8 0,8-43,8	1,6 $\pm$ 4,1 0,8 0,8-25,8	2,5 $\pm$ 3 0,8 0,8-9	p1>0,05 p2<0,05 p3>0,05
IL-5	4,5 $\pm$ 9,8 0,5 0,9-43,8	6,9 $\pm$ 18,5 0,5 0,5-92,9	8,2 $\pm$ 14,5 0,5 0,5-37,4	p1>0,05 p2>0,05 p3>0,05
IL-6	455,0 $\pm$ 1696,9 4,7 1,1 - 11392	302,6 $\pm$ 1324 1,1 1,1 - 8086,2	675,3 $\pm$ 1206 112,8 1,1-3490,9	p1<0,001 p2>0,05 p3<0,05

Cytokin				
- Trung bình $\pm$ SD	SJS/TEN	EM	HCs	p
- Trung vị	(n=48)	(n=43)	(n=20)	(test Mann-Whitney U)
- Khoảng				
IL-8	364,6 $\pm$ 647,9	239,4 $\pm$ 546,8	916,1 $\pm$ 577,9	p1>0,05
	51	41,4	734,7	p2<0,001
	1,9-2998,9	1,9-2843,3	218,5-2446,1	p3<0,05
IL-10	8,4 $\pm$ 14,4	9,8 $\pm$ 15,4	4,4 $\pm$ 4,6	p1>0,05
	4,6	3,2	3	p2>0,05
	0,5-84,4	0,5-67	0,5-14,9	p3>0,05
IL-12	1,9 $\pm$ 2,6	1 $\pm$ 2,5	2,6 $\pm$ 2,7	p1<0,001
	0,7	0,1	1,8	p2>0,05
	0,1-11,5	0,1-10,9	0,1-8,8	p3>0,05
IL-13	1,6 $\pm$ 0,6	1,5	1,5	p1>0,05
	1,5	1, 5	1,5	p2>0,05
	1,5-5,1	1,5-1,5	1,5-1,5	p3>0,05
IL-17A	0,6 $\pm$ 1,1	0,4 $\pm$ 0,8	0,3 $\pm$ 0,1	p1>0,05
	0,2	0,2	0,2	p2>0,05
	0,2-5,6	0,2-5,1	0,2-0,7	p3>0,05
TNF- α	32,6 $\pm$ 125	7,6 $\pm$ 26,9	27,7 $\pm$ 37,9	p1>0,05
	1,3	1,3	6	p2<0,05
	1,3-771,2	1,3-172,4	1,3-109,3	p3>0,05

p1: so sánh nhóm SJS/TEN với nhóm EM; p2: nhóm SJS/TEN với nhóm HCs; p3: nhóm EM với nhóm HCs

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ GM-CSF, IFN- γ , IL-6 và IL-12 huyết thanh cao hơn so với nhóm EM; nồng độ IFN- γ , IL-4 và TNF- α huyết thanh cao hơn so với nhóm HCs. Nồng độ IL-1 β và IL-8 huyết thanh ở nhóm HCs cao hơn so với nhóm SJS/TEN. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với các giá trị p<0,05; p <0,01 và p <0,001.

Bảng 3.12. So sánh nồng độ các cytokin (pg/ml) của nhóm SJS và TEN tại thời điểm nhập viện

Cytokin - Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	SJS (n=19)	TEN (n=29)	P (test Mann-Whitney U)
GM-CSF	15 $\pm$ 22,4 3,1 3,1-83,4	7,6 $\pm$ 16,4 3,1 3,1-87,7	>0,05
IFN- γ	2,6 $\pm$ 7,8 0,1 0,1-33,8	52,1 $\pm$ 115 13,8 0,1-579,9	<0,001
IL-1 β	35,8 $\pm$ 81,4 1,1 0,5-330,3	20,3 $\pm$ 82,7 0,5 0,5-447	>0,05
IL-2	11,5 $\pm$ 20,6 2,3 2,3-76,1	5,1 $\pm$ 13,8 2,3 2,3-76,8	>0,05
IL-4	4,1 $\pm$ 6,7 0,8 0,8-22	2,3 $\pm$ 8 0,8 0,8-43,9	>0,05
IL-5	6,5 $\pm$ 11,5 0,5 0,5-42,6	3,2 $\pm$ 8,4 0,5 0,9-43,8	>0,05
IL-6	418,1 $\pm$ 795,6 8,7 1,1-3075,5	479,2 $\pm$ 2103,6 27,7 1,1-11392	>0,05

Cytokin - Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	SJS (n=19)	TEN (n=29)	P (test Mann-Whitney U)
IL-8	553 $\pm$ 794 123,7 1,9-2998,9	236,8 $\pm$ 502,9 39,4 1,9-2245,5	>0,05
IL-10	10,5 $\pm$ 19,2 4,6 0,5-84,4	7 $\pm$ 10,2 4,6 0,5-49,1	>0,05
IL-12	2,1 $\pm$ 2,6 0,7 0,1-8,9	1,8 $\pm$ 2,7 0,7 0,1-11,5	>0,05
IL-13	1,6 $\pm$ 0,3 1, 5 1,5-3	1,6 $\pm$ 0,7 1,5 1,5-5,1	>0,05
IL-17A	0,8 $\pm$ 1,3 0,2 0,2-4,7	0,5 $\pm$ 1 0,2 0,2-5,7	>0,05
TNF- α	57,6 $\pm$ 179,7 1,3 1,3-771,2	16,2 $\pm$ 68,9 1,3 1,3-373,2	>0,05

Nhận xét: Nồng độ IFN- γ huyết thanh ở nhóm TEN cao hơn so với nhóm SJS, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Nồng độ huyết thanh các cytokin khác ở hai nhóm tương đương nhau.

Bảng 3.13. So sánh nồng độ cytokin (pg/ml) của nhóm SJS/TEN theo thời gian

Cytokin - Trung bình ± SD - Trung vị - Khoảng	Thời gian từ khi khởi phát tới khi nhập viện		p (test Mann-Whitney U)
	< 6 ngày (n=25)	≥ 6 ngày (n=23)	
GM-CSF	13,5 ± 24,9 3,1 3,1-87,7	7,3 ± 8,8 3,1 3,1-30	>0,05
IFN-γ	49,1 ± 121,9 0,1 0,1-580	12,9 ± 26 0,1 0,1-108,9	> 0,05
IL-1β	40,3 ± 110,4 0,5 0,5-447	11,3 ± 22 0,5 0,5-89,5	> 0,05
IL-2	10,9 ± 22,2 2,3 2,3-76,8	4,1 ± 7,1 2,3 2,3-36,3	> 0,05
IL-4	4,4 ± 9,8 0,8 0,8-43,8	1,4 ± 3,1 0,8 0,8-15,6	>0,05
IL-5	6 ± 12,5 0,5 0,5-43,9	2,9 ± 5,2 0,5 0,5-17,4	>0,05
IL-6	712,2 ± 2321,2 47,3 1,1-11392	175,4 ± 342,1 47,3 1,1-1514,1	>0,05

Cytokin - Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	Thời gian từ khi khởi phát tới khi nhập viện		P (test Mann-Whitney U)
	< 6 ngày (n=25)	$\geq$ 6 ngày (n=23)	
IL-8	469,4 $\pm$ 808,2 104,6 1,9-2998,9	245,5 $\pm$ 380,7 104,6 5,1-1373,4	>0,05
IL-10	10,8 $\pm$ 18,7 4,4 0,5-84,4	5,7 $\pm$ 6,7 4,4 0,5-30,8	>0,05
IL-12	2 $\pm$ 3 0,6 0,1-11,5	1,7 $\pm$ 2,2 0,6 0,1-8,5	>0,05
IL-13	1,6 $\pm$ 0,7 1,5 1,5-5,1	1,5 $\pm$ 0,31 1,5 1,5-3	>0,05
IL-17A	0,8 $\pm$ 1,5 0,2 0,2-5,7	0,4 $\pm$ 0,5 0,2 0,2-2,3	>0,05
TNF- α	5,7 $\pm$ 170,7 1,3 1,3-771,2	5,8 $\pm$ 10,7 1,3 1,3-47,5	>0,05

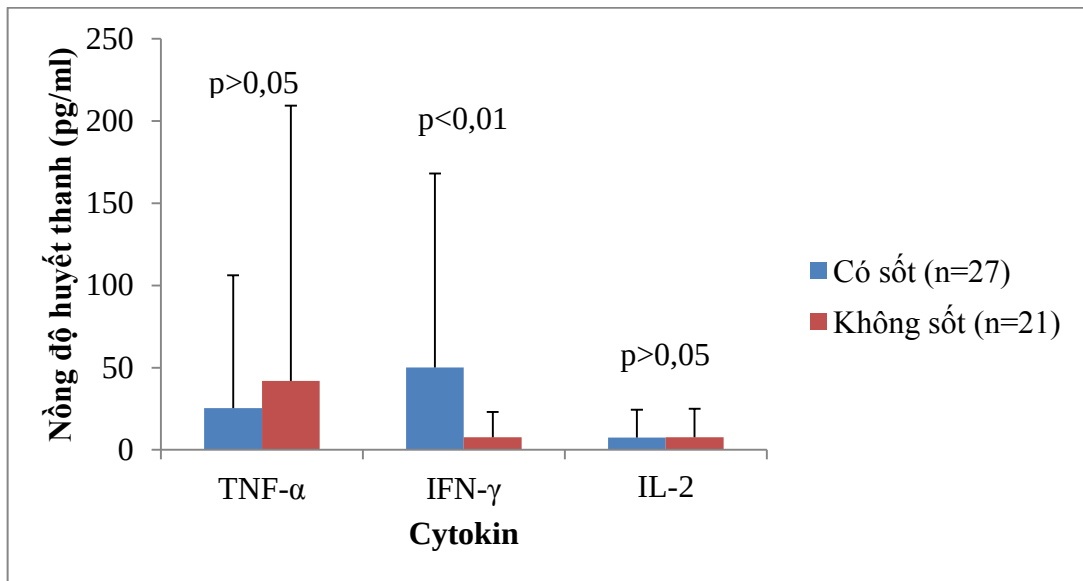
Nhận xét: Nồng độ các cytokin (trừ TNF- α) huyết thanh ở các mẫu thu thập sau khởi phát từ 6 ngày trở lên thấp hơn ở các mẫu thu thập sau khởi phát dưới 6 ngày, đặc biệt là IFN γ , IL-1 β , IL-2, IL-8 và IL-10. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$.

Bảng 3.14. So sánh nồng độ các cytokin (pg/ml) của nhóm SJS/TEN theo sử dụng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện

Cytokin - Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	Sử dụng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện		p (test Mann-Whitney U)
	Có (n=20)	Không (n=21)	
GMCSF	10,6 $\pm$ 22,1 3,1 3,1-83,4	12,9 $\pm$ 19,6 3,1 3,1-87,7	>0,05
IFN- γ	10,5 $\pm$ 25,3 1,3 0,1-108,9	45 $\pm$ 127,2 1,6 0,1-580	>0,05
IL-1 β	26 $\pm$ 79,3 0,5 0,5-330,3	32,4 $\pm$ 97,5 0,5 0,5-447	>0,05
IL-2	8,5 $\pm$ 19,2 2,3 2,3-76	8,6 $\pm$ 17,6 2,3 2,3-76,8	>0,05
IL-4	3,2 $\pm$ 6 0,8 0,8-22	3,5 $\pm$ 9,8 0,8 0,8-43,8	>0,05
IL-5	4,6 $\pm$ 10,8 0,5 0,5-42,6	5,3 $\pm$ 10,2 0,5 0,5-43,9	>0,05
IL-6	280,5 $\pm$ 741,8 23,9 1,1-3075,5	737,2 $\pm$ 2465,9 83,2 1,1-11392	>0,05
IL-8	427,6 $\pm$ 791,5 67,9 1,9-2998,9	385,8 $\pm$ 611,3 36,9 1,9-2245,5	>0,05

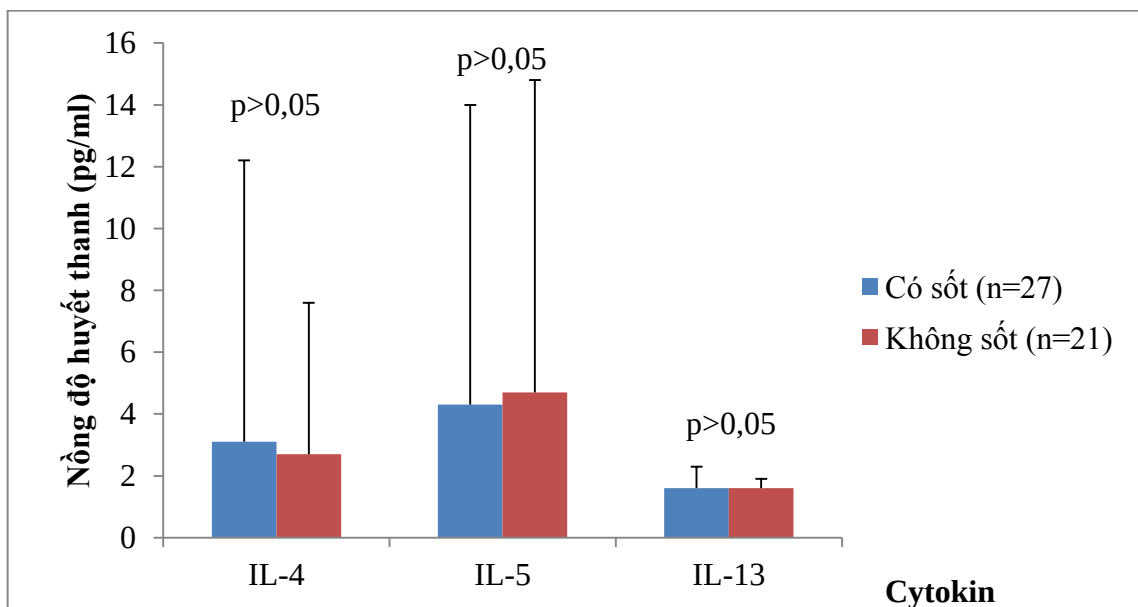
Cytokin - Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	Sử dụng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện		P (test Mann-Whitney U)
	Có (n=20)	Không (n=21)	
IL-10	8,2 $\pm$ 18,4 4,2 0,5-84,4	7,1 $\pm$ 8,4 5,2 0,5-30,8	>0,05
IL-12	1,8 $\pm$ 2,7 0,5 0,1-8,9	1,9 $\pm$ 2,6 0,7 0,1-11,5	>0,05
IL-13	1,5 $\pm$ 0 1,5 1,5-1,5	1,7 $\pm$ 0,8 1,5 1,5-5,1	>0,05
IL-17A	0,6 $\pm$ 1,3 0,2 0,2-4,7	0,7 $\pm$ 1,3 0,2 0,2-5,7	>0,05
TNF- α	50,8 $\pm$ 176,2 1,3 1,3-771,2	24,7 $\pm$ 80,7 1,3 1,3-373,2	>0,05

Nhận xét: Với IFN- γ , IL-1 β và IL-6, nồng độ huyết thanh ở nhóm không dùng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện cao hơn nhóm có dùng. Với TNF- α và IL-10, nồng độ huyết thanh ở nhóm có dùng cao hơn nhóm không dùng. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Với các cytokin khác, không có sự khác nhau nhiều giữa hai nhóm.



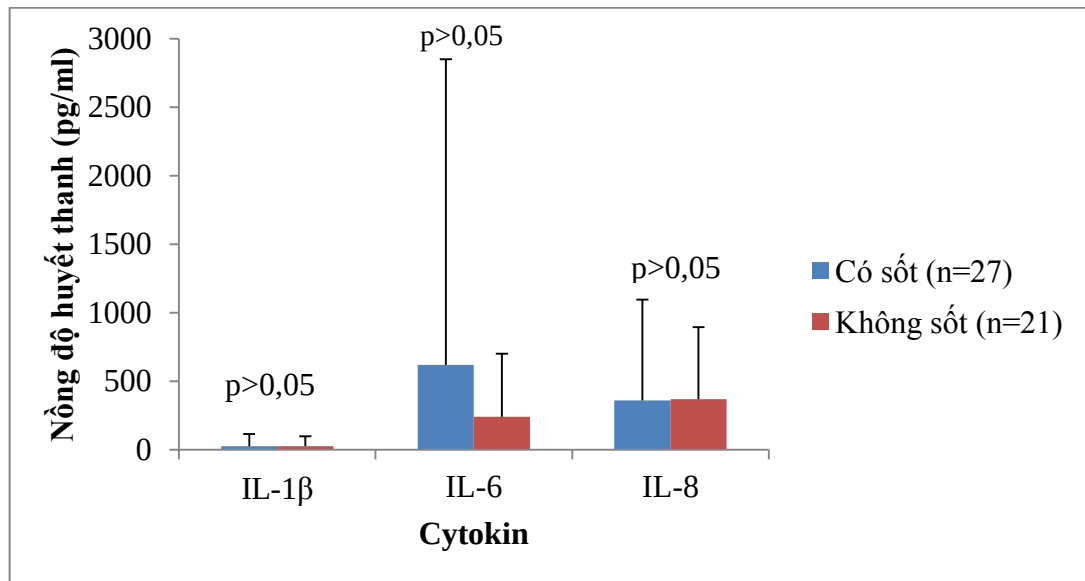
Biểu đồ 3.8. Nồng độ TNF- α , IFN- γ và IL-2 ở 48 bệnh nhân SJS/TEN

Nhận xét: Nồng độ IFN- γ huyết thanh ở nhóm có sốt cao hơn nhiều so với nhóm không sốt, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$. Nồng độ TNF- α ở nhóm có sốt thấp hơn so với nhóm không sốt nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$). Nồng độ IL-2 ở hai nhóm tương đương nhau.



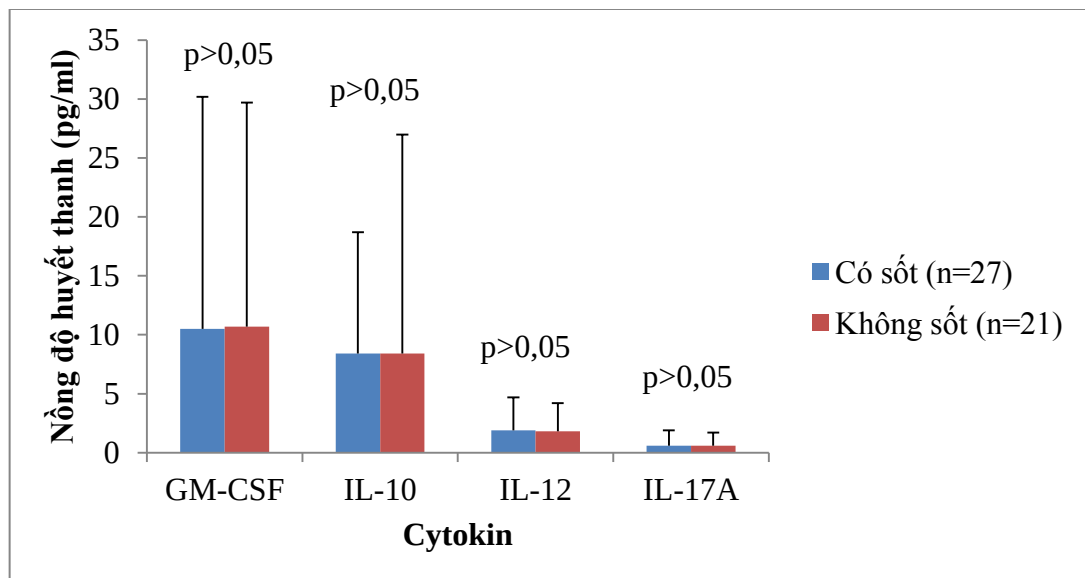
Biểu đồ 3.9. Nồng độ IL-4, IL-5 và IL-13 ở 48 bệnh nhân SJS/TEN

Nhận xét: Nồng độ IL-4, IL-5 và IL-13 huyết thanh không có sự khác nhau giữa nhóm có sốt và không sốt ($p > 0,05$).



Biểu đồ 3.10. Nồng độ IL-1 β , IL-6 và IL-8 ở 48 bệnh nhân SJS/TEN

Nhận xét: Nồng độ IL-6 huyết thanh ở nhóm có sốt cao hơn nhóm không sốt, nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nồng độ IL-1 β và IL-8 huyết thanh ở hai nhóm như nhau.



Biểu đồ 3.11. Nồng độ huyết thanh các cytokin ở 48 bệnh nhân SJS/TEN

Nhận xét: Nồng độ IL-10, GM-CSF, IL-12 và IL-17A huyết thanh ở nhóm có sốt và không sốt tương đương nhau ($p > 0,05$).

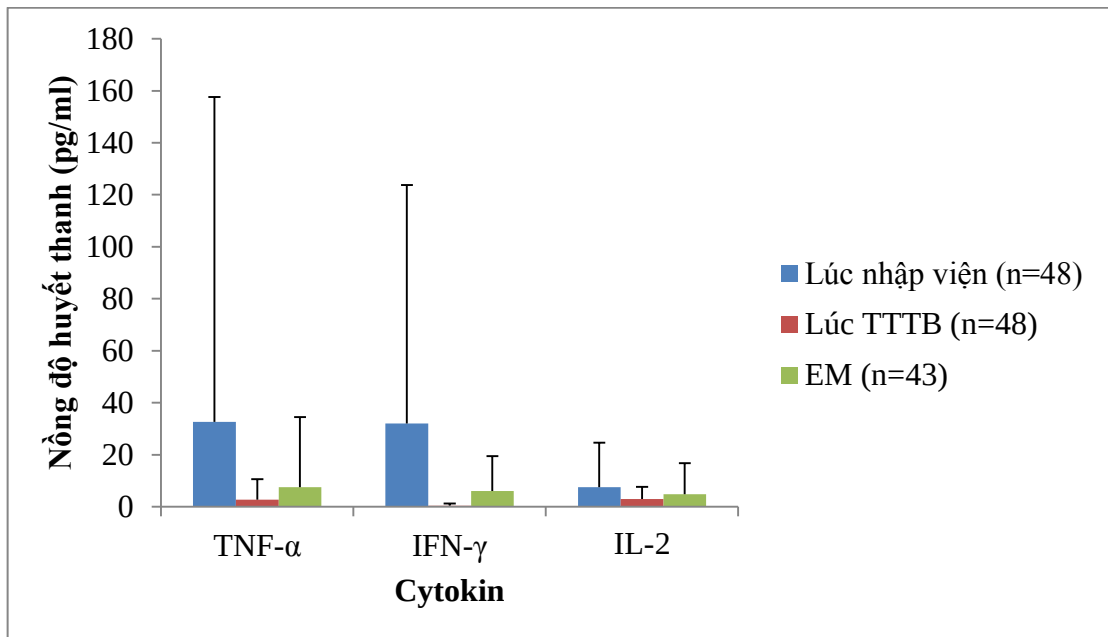
3.2.2.2. So sánh nồng độ các cytokin huyết thanh ở bệnh nhân SJS/TEN lúc nhập viện và lúc TTTB

Bảng 3.15. So sánh nồng độ các cytokin huyết thanh (pg/ml) lúc nhập viện và lúc TTTB ở nhóm SJS/TEN

Cytokin	Lúc nhập viện	Lúc TTTB	p (test Wilcoxon)
- Trung bình $\pm$ SD			
- Trung vị			
- Khoảng			
GM-CSF	10,6 $\pm$ 19,2 3,1 3,1-87,7	3,6 $\pm$ 3,7 3,1 3,1-29,9	<0,05
IFN- γ	32,1 $\pm$ 91,6 1,7 0,1-579,9	0,4 $\pm$ 0,9 0,1 0,1-4,0	<0,001
IL-1 β	26,4 $\pm$ 81,7 0,5 0,5-447	1,9 $\pm$ 5,6 0,5 0,5-32,8	<0,01
IL-2	7,6 $\pm$ 17 2,3 2,3-76,8	3 $\pm$ 4,7 2,3 2,3-34,7	>0,05
IL-4	3 $\pm$ 7,5 0,8 0,8-43,8	1,1 $\pm$ 2,1 0,8 0,8-15,6	>0,05
IL-5	4,5 $\pm$ 9,8 0,5 0,9-43,8	1 $\pm$ 2,8 0,5 0,5-19,3	<0,05
IL-6	455,0 $\pm$ 1696,9 4,7 1,1-11392	78 $\pm$ 341,6 1,1 1,1-1328,8	<0,001

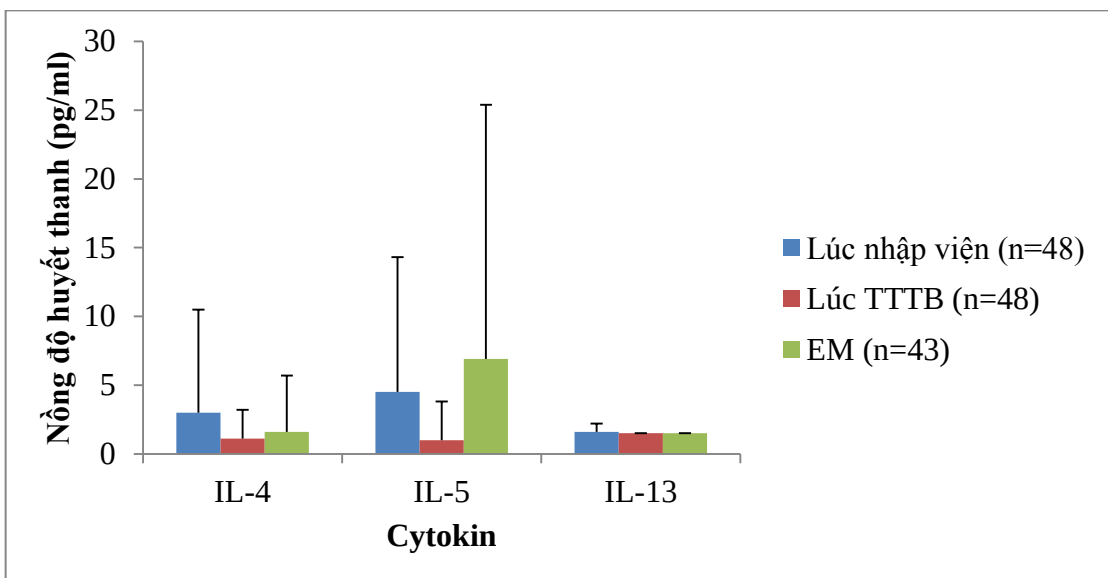
Cytokin			
- Trung bình $\pm$ SD - Trung vị - Khoảng	Lúc nhập viện (n=48)	Lúc TTTB (n=48)	p (test Wilcoxon)
IL-8	364,6 $\pm$ 647,9 51 1,9-2998,9	211,7 $\pm$ 542,1 5,4 1,9-2549	>0,05
IL-10	8,4 $\pm$ 14,4 4,6 0,5-84,4	4,9 $\pm$ 7,4 1,2 0,5-28,3	>0,05
IL-12	1,9 $\pm$ 2,6 0,7 0,1-11,5	0,8 $\pm$ 0,8 0,6 0,1-4,5	<0,01
IL-13	1,6 $\pm$ 0,6 1,5 1,5-5,1	1,5 $\pm$ 0 1,5 1,5-1,5	>0,05
IL-17A	0,6 $\pm$ 1,1 0,2 0,2-5,6	1,2 $\pm$ 7,9 0,2 1,2-45,1	>0,05
TNF- α	32,6 $\pm$ 125 1,3 1,3-771,2	2,7 $\pm$ 7,9 1,3 1,3-55,2	<0,01

Nhận xét: Nồng độ GM-CSF, IFN- γ , IL-1 β , IL-5, IL-6, IL-12 và TNF- α huyết thanh lúc TTTB thấp hơn so với lúc nhập viện, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$; $p < 0,001$; $p < 0,01$; $p < 0,05$; $p < 0,001$; $p < 0,01$ và $p < 0,01$ tương ứng. Nồng độ các cytokin khác không thay đổi giữa hai thời điểm.



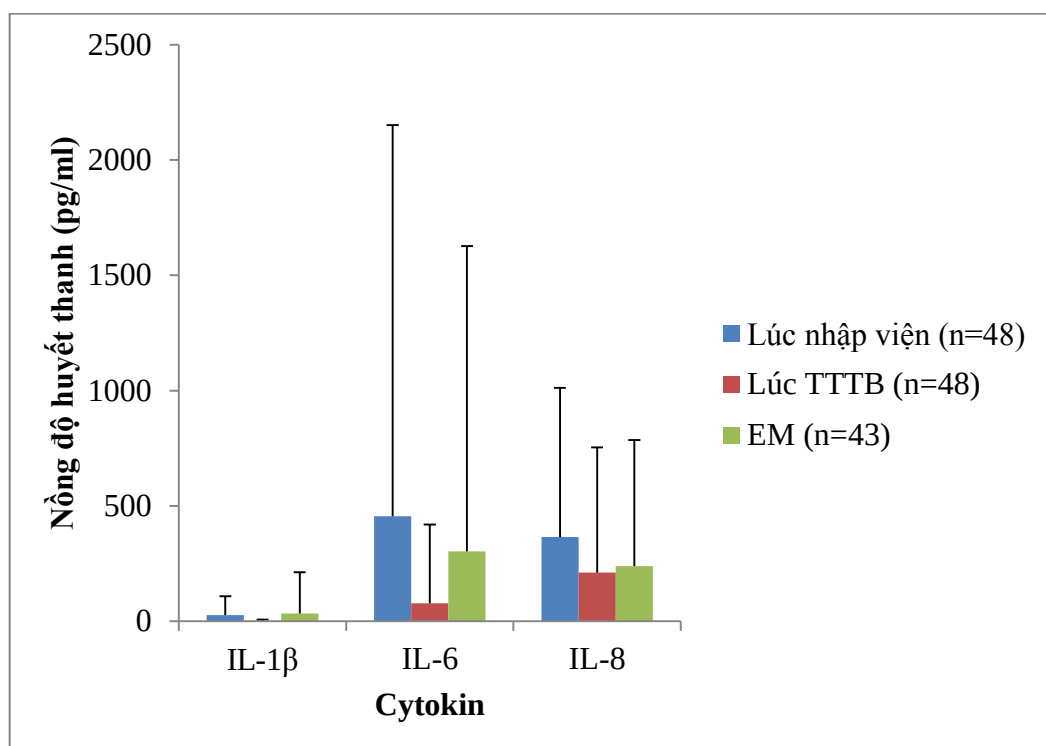
Biểu đồ 3.12. Nồng độ các cytokin của Th1

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ TNF- α , IFN- γ và IL-2 huyết thanh lúc nhập viện cao hơn so với lúc TTTB (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với IFN- γ và TNF- α) và so với nhóm EM (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với IFN- γ). Khi TTTB, nồng độ các cytokin này thấp hơn so với nhóm EM.



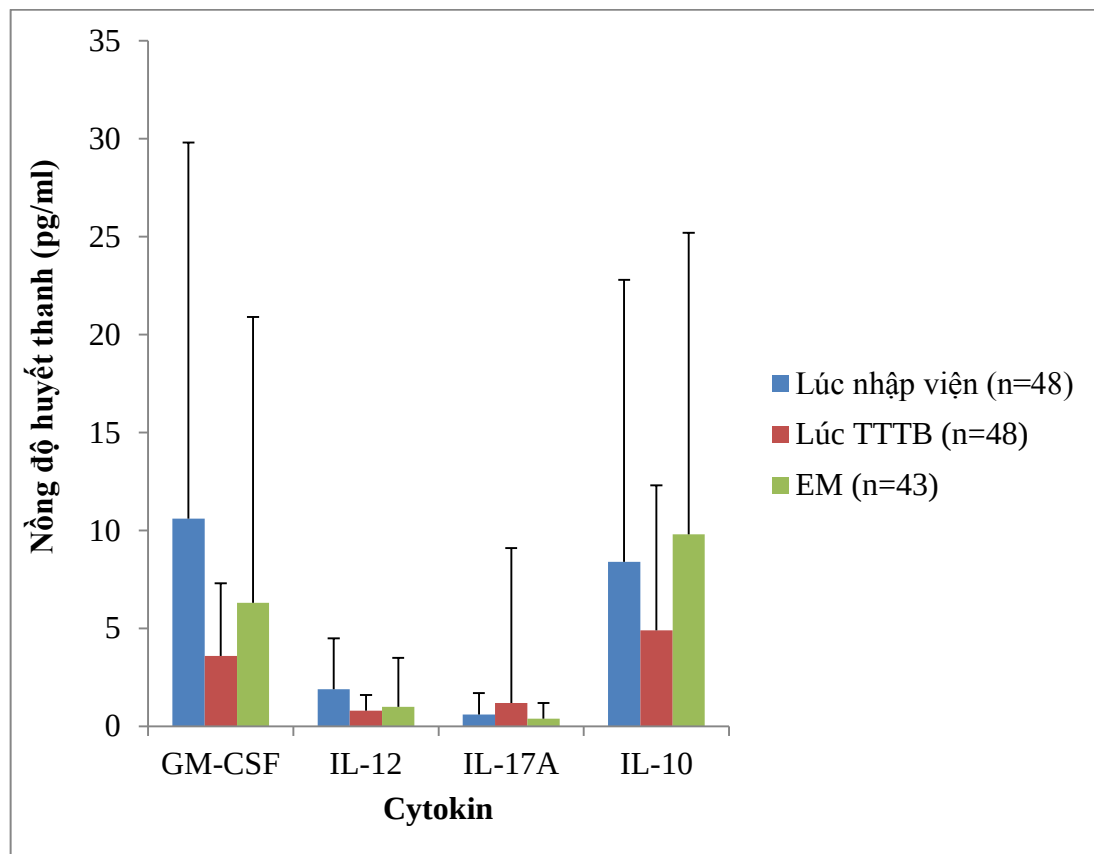
Biểu đồ 3.13. Nồng độ các cytokin của Th2

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ IL-4, IL-5 và IL-13 huyết thanh lúc nhập viện cao hơn lúc TTTB (sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với IL-5), nồng độ IL-4 cao hơn nhóm EM, nồng độ IL-5 thấp hơn nhóm EM. Lúc TTTB, nồng độ IL-4 và IL-5 thấp hơn so với nhóm EM. Nồng độ IL-13 gần như không có sự khác nhau giữa nhóm SJS/TEN và EM, lúc nhập viện và lúc TTTB.



Biểu đồ 3.14. Nồng độ IL-1 β , IL-6 và IL-8

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ IL-6 và IL-8 huyết thanh lúc nhập viện cao hơn lúc TTTB, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với IL-6; lúc TTTB thấp hơn so với nhóm EM. Nồng độ IL-1 β lúc nhập viện tương đương nhóm EM, nhưng cao hơn so với lúc TTTB ($p < 0,01$).

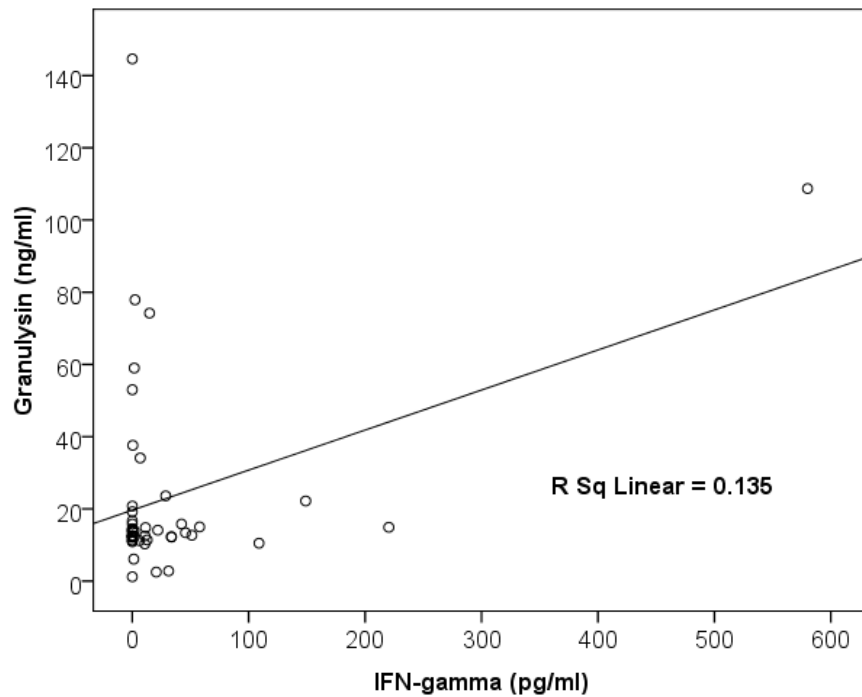


Biểu đồ 3.15. Nồng độ GM-CSF, IL-12, IL-17A và IL-10

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ GM-CSF và IL-12 huyết thanh lúc nhập viện cao hơn so với lúc TTTB ($p < 0,05$); lúc TTTB thấp hơn so với nhóm EM; nồng độ IL-17A huyết thanh lúc TTTB cao hơn so với lúc nhập viện và so với nhóm EM (nhưng $p > 0,05$); nồng độ IL-10 lúc nhập viện cao hơn so với lúc TTTB nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p > 0,05$. Nồng độ IL-10 huyết thanh ở nhóm EM cao hơn nhóm SJS/TEN (cả lúc nhập viện và lúc TTTB).

3.2.3. *Mối tương quan giữa nồng độ granulysin, một số cytokin huyết thanh ở nhóm SJS/TEN*

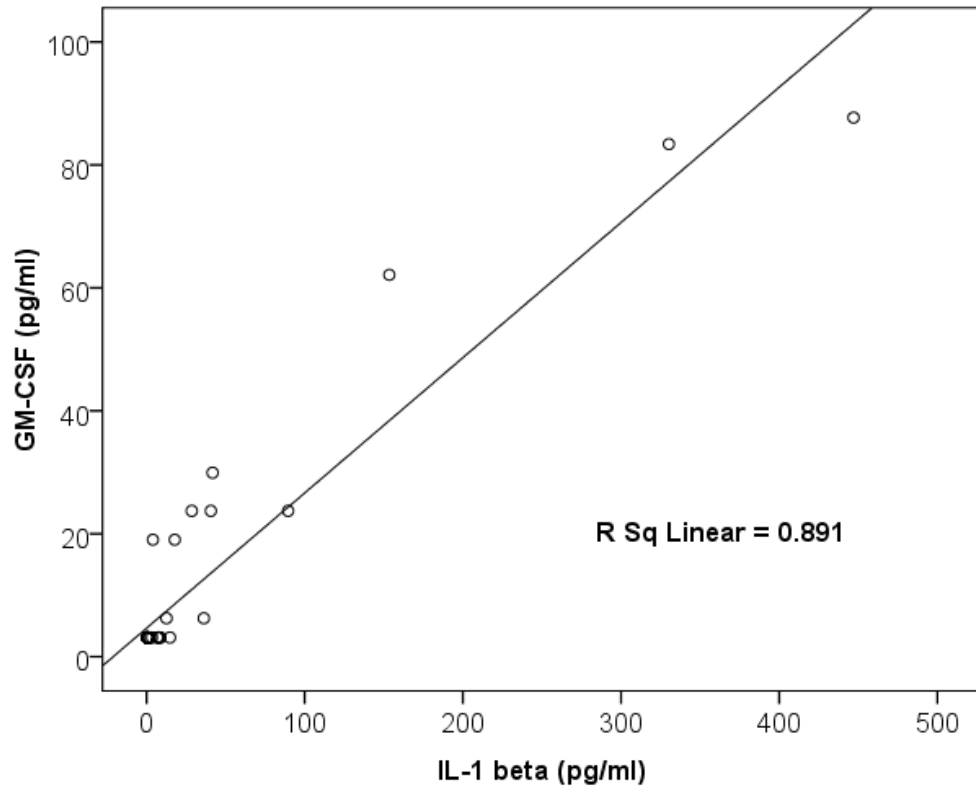
3.2.3.1. *Mối tương quan giữa nồng độ granulysin với nồng độ các cytokin huyết thanh*



Biểu đồ 3.16. Tương quan giữa nồng độ granulysin và IFN- γ huyết thanh

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ granulysin huyết thanh có tương quan tuyến tính với nồng độ IFN- γ huyết thanh, tuy nhiên, mối tương quan này không chặt chẽ ($r=0,368$; $p<0,05$).

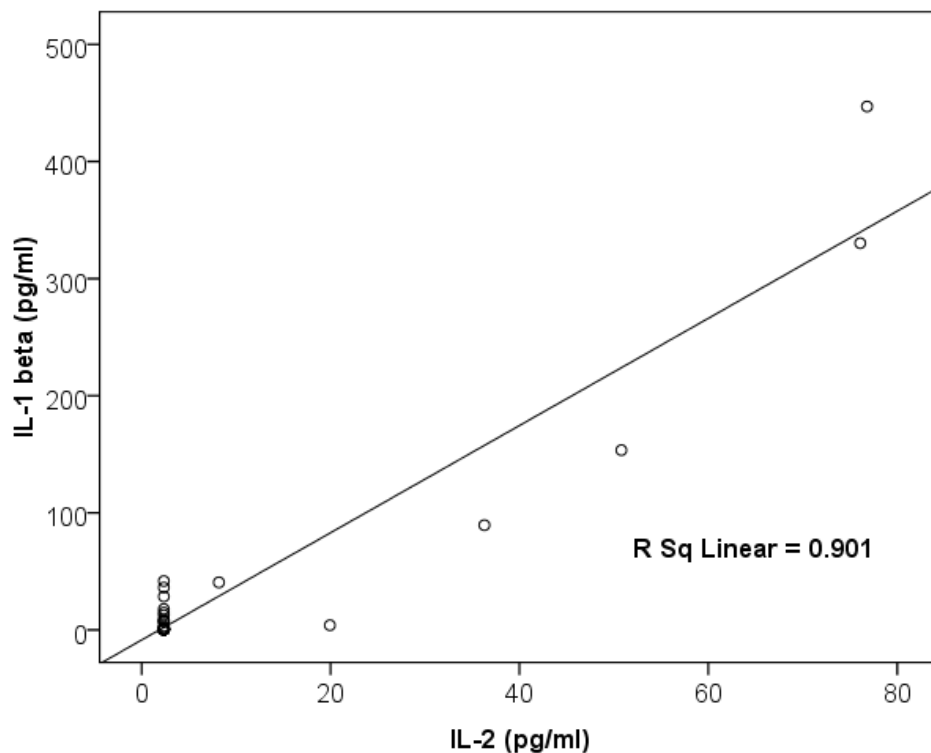
3.2.3.2. *Mối tương quan giữa nồng độ GM-CSF huyết thanh với nồng độ các cytokin khác*



Biểu đồ 3.17. Tương quan giữa nồng độ GM-CSF và IL-1 β

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ GM-CSF huyết thanh có mối tương quan chặt chẽ với nồng độ IL-1 β , với $r=0,944$; $p<0,001$.

3.2.3.3. *Mối tương quan giữa nồng độ IL-1 β huyết thanh với các cytokin khác*

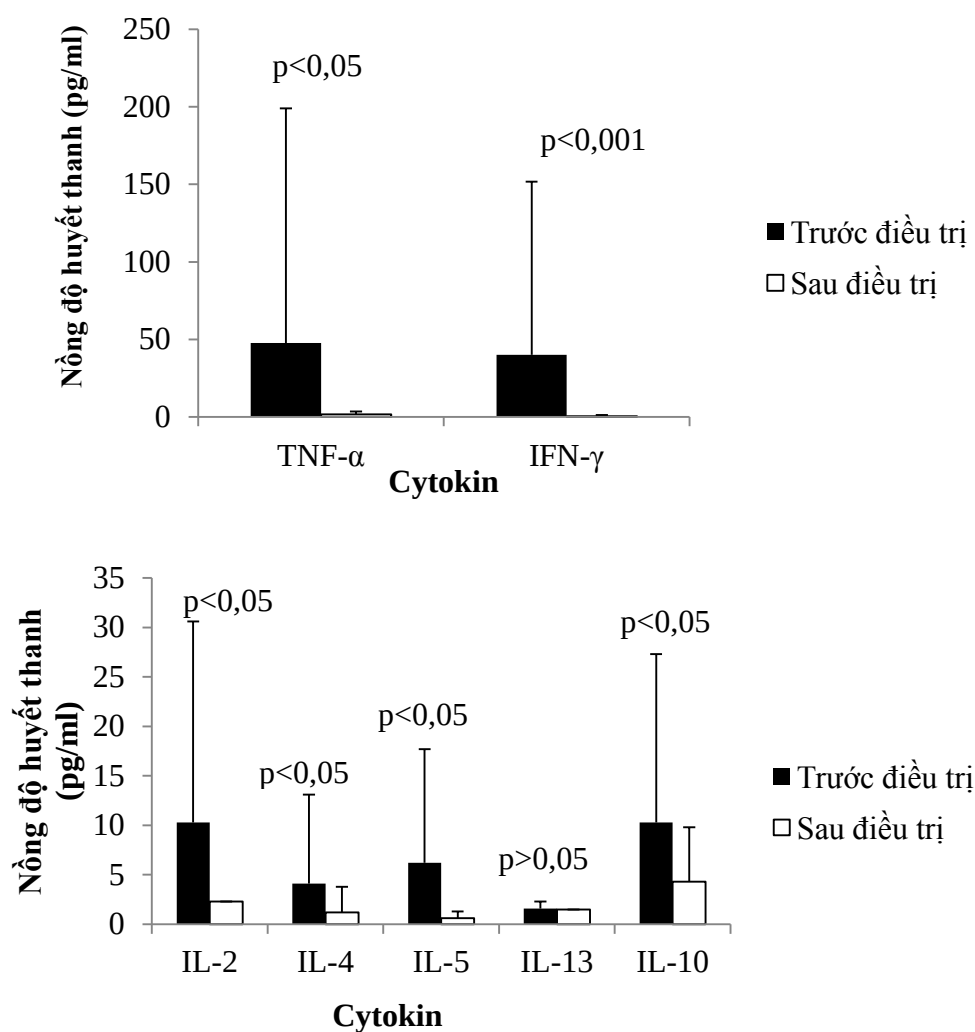


Biểu đồ 3.18. *Mối tương quan giữa nồng độ IL-2 và IL-1 β*

Nhận xét: Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ IL-1 β huyết thanh có mối tương quan chặt chẽ với nồng độ IL-2 ($r=0,949$; $p<0,001$).

3.2.4. *Thay đổi nồng độ huyết thanh một số cytokin trước và sau điều trị corticosteroid toàn thân ở nhóm SJS/TEN*

Trong số 48 bệnh nhân SJS/TEN được định lượng các cytokin huyết thanh, có 32 bệnh nhân được điều trị bằng corticosteroid toàn thân kết hợp với chăm sóc hỗ trợ, không dùng các thuốc ức chế miễn dịch khác. Sự thay đổi nồng độ một số cytokin huyết thanh trước và sau điều trị corticosteroid toàn thân được thể hiện ở biểu đồ 3.19.

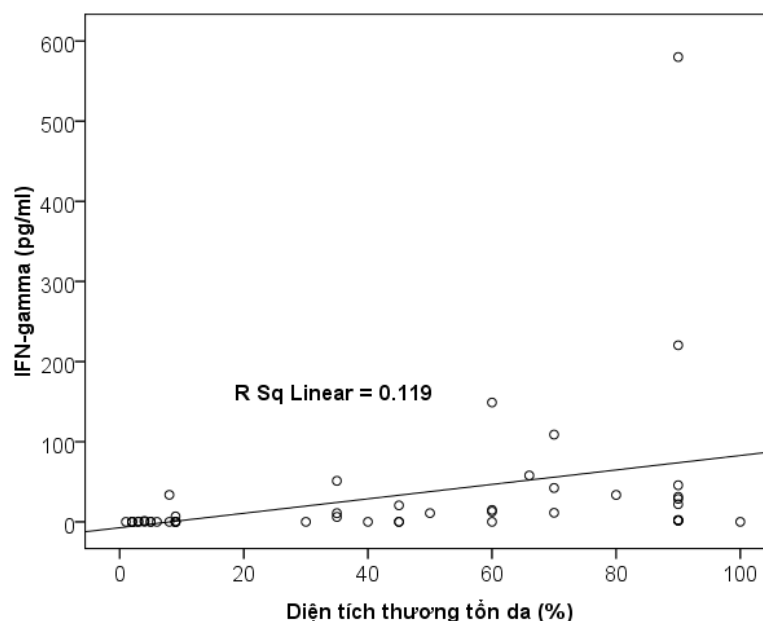


Biểu đồ 3.19. Sự thay đổi một số cytokin trước và sau điều trị corticosteroid toàn thân (n=32)

Nhận xét: Nồng độ TNF-α, IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-5 và IL-10 huyết thanh sau điều trị giảm xuống rất nhiều so với trước điều trị ($p < 0,05$). Nồng độ IL-13 huyết thanh không có sự khác nhau giữa hai thời điểm ($p > 0,05$). Sự thay đổi nhiều nhất là với IFN-γ ($p < 0,001$).

3.2.5. Mối liên quan giữa nồng độ granulysin, một số cytokin huyết thanh với diện tích thương tổn da, điểm SCORTEN ở nhóm SJS/TEN

3.2.5.1. Diện tích thương tổn da

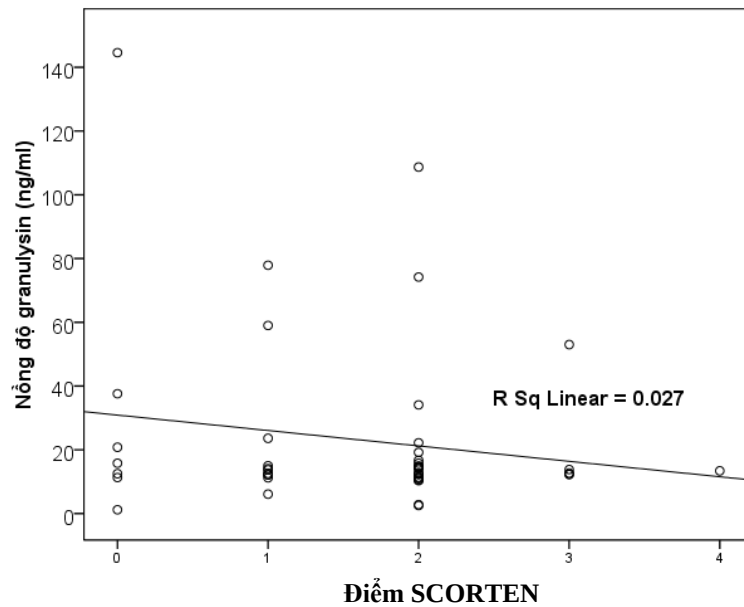


Biểu đồ 3.20. Tương quan giữa diện tích da với nồng độ IFN- γ

Trong số các cytokin và granulysin được khảo sát, chỉ có nồng độ IFN- γ huyết thanh có tương quan với diện tích thương tổn da (hoại tử, bong nước, vết trợt). Mối tương quan này thể hiện ở biểu đồ 3.20 với $r=0,345$; $p<0,05$.

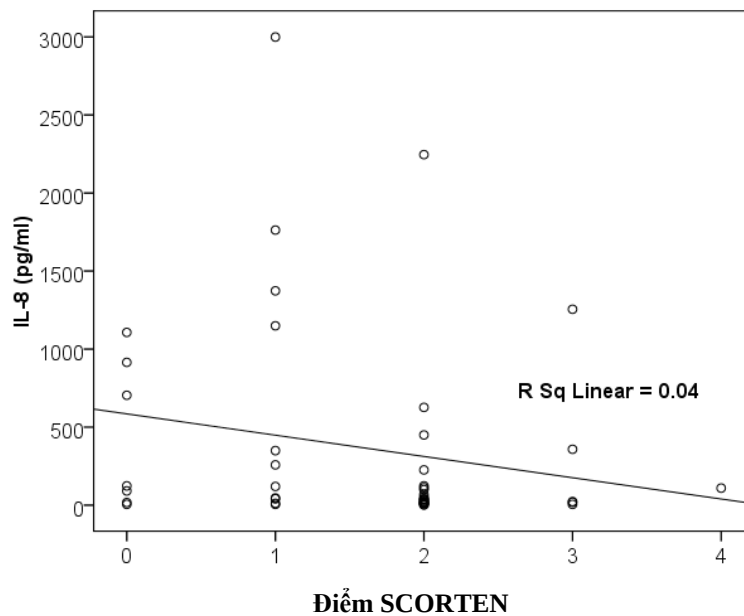
3.2.5.2. Điểm SCORTEN 6 tiêu chí

Trong số các cytokin được khảo sát, không có cytokin nào có nồng độ huyết thanh tương quan với điểm SCORTEN ở các bệnh nhân SJS/TEN.



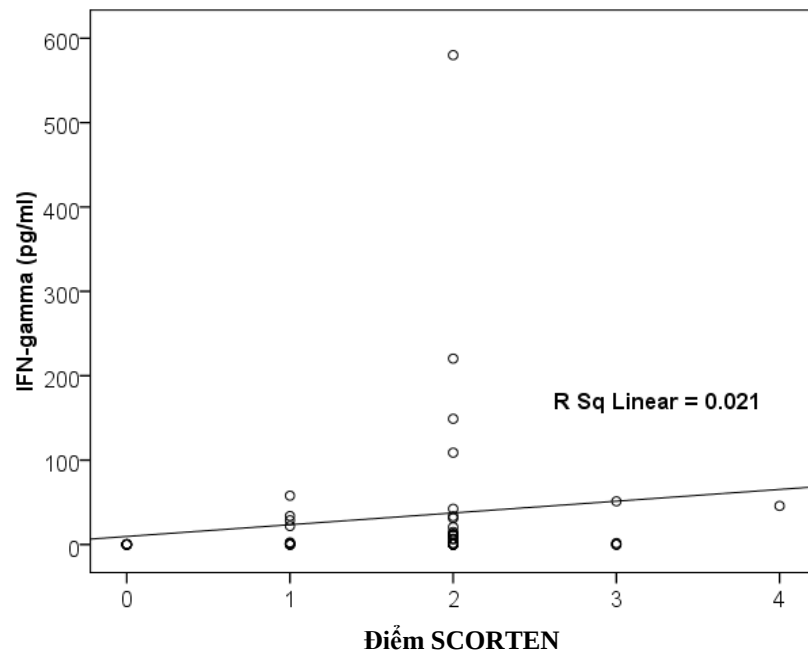
Biểu đồ 3.21. Tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ granulysin

Nhận xét: Không có mối tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ granulysin huyết thanh với $r = (-0,16)$; $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.22. Tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ IL-8

Nhận xét: Không có mối tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ IL-8 huyết thanh với $r = (-0,2)$; $p > 0,05$.



Biểu đồ 3.23. Tương quan giữa điểm SCORTEN và nồng độ IFN- γ

Nhận xét: Có mối tương quan đồng biến giữa điểm SCORTEN và nồng độ IFN- γ huyết thanh, tuy nhiên, mối tương quan này không chặt chẽ và không có ý nghĩa thống kê với $r=0,14$; $p>0,05$.

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. Xác định một số gen (allele *HLA-B*) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam

4.1.1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân SJS/TEN

Tuổi và giới tính của các bệnh nhân SJS/TEN

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy tuổi trung bình của các bệnh nhân SJS/TEN là 49,8, độ tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất là trên 50 tuổi (bảng 3.1). Kết quả này cũng tương tự một số nghiên cứu khác. Theo tác giả Lương Đức Dũng, dị ứng thuốc có hội chứng SJS và TEN gặp ở mọi độ tuổi, bệnh nhân nhỏ tuổi nhất là 11 tuổi và lớn tuổi nhất là 79 tuổi, tuổi trung bình là 47,3. Nhóm tuổi gặp nhiều nhất là trên 50 tuổi, chiếm 45% [22]. Một nghiên cứu khác thực hiện ở Hà Nội trên 102 bệnh nhân SJS/TEN cho thấy nhóm trên 50 tuổi chiếm tỷ lệ cao nhất (40,2%), tuổi trung bình của các bệnh nhân là 46,6 tuổi [23]. Phạm Thị Hoàng Bích Dịu (2005) cũng nhận thấy dị ứng thuốc gặp ở tất cả các nhóm tuổi. Trong đó, nhóm tuổi có tỷ lệ dị ứng thuốc cao nhất là 20-39 tuổi (43,7%), tiếp đó là nhóm 40-59 tuổi (37,5%) [35]. Một số nghiên cứu ở nước ngoài cũng cho kết quả tương tự. Tuổi trung bình của 159 bệnh nhân SJS/TEN trong nghiên cứu của Gueudry là 49,9 [97], của Zajicek là 48,4 [98]. Nghiên cứu của Su cho thấy, tuổi trung bình của 77 bệnh nhân SJS/TEN Đài Loan là 52,8; của 52 bệnh nhân ở châu Âu là 49,1 [3]. Tuy nhiên, trên những vùng dịch tễ nhất định, tuổi trung bình của các bệnh nhân SJS/TEN có thể trẻ hơn. Ví dụ, nghiên cứu về SJS/TEN ở vùng hạ Sahara có độ tuổi trung bình là 32,3, các bệnh nhân SJS/TEN có tỷ lệ nhiễm HIV cao, thuốc chính gây dị ứng là các kháng sinh chống lao, sulfonamid, thuốc chống virus nevirapin [59].

Nhìn chung, tần suất dị ứng thuốc thường gặp ở độ tuổi 20-59 [22]. Các tác giả cho rằng, ở lứa tuổi cao (từ trên 50 tuổi), hầu hết các chức năng của các cơ quan trong cơ thể đều giảm sút, khả năng đáp ứng miễn dịch giảm, làm tăng nhạy cảm với thuốc và các dị nguyên khác. Do vậy, ở nhóm tuổi này có nguy cơ dị ứng thuốc cao hơn các nhóm tuổi khác. Mặt khác, ở những bệnh nhân trên 50 tuổi, các cơ quan trong cơ thể bắt đầu có biểu hiện của thoái hóa, xuất hiện các bệnh về tim mạch, hô hấp, rối loạn chuyển hóa, thoái hóa hệ cơ xương khớp. Điều này làm tăng tần suất sử dụng các thuốc chuyên khoa, tiềm ẩn nguy cơ dị ứng thuốc cao hơn [22].

Trong số 83 bệnh nhân SJS/TEN, nam chiếm 50,6%, nữ chiếm 49,4% (bảng 3.1). Các nghiên cứu khác cũng cho thấy trong SJS/TEN, tỷ lệ nam nữ bằng nhau. Theo Lương Đức Dũng, trong 60 bệnh nhân SJS/TEN được nghiên cứu, tỷ lệ nam/nữ là 1/1 [22]. Các bệnh nhân SJS/TEN ở Đài Loan có nam giới chiếm 46,8%, ở châu Âu nam giới chiếm 43,6% [3]. Tuy nhiên, trên quần thể có các bệnh nền đặc biệt thì phân bố giới tính của SJS/TEN có thể không cân bằng [98],[99]. Nghiên cứu của Saka có tỷ lệ nam thấp hơn nữ (36,2% so với 63,8%) [99]. Nghiên cứu của Zajicek cũng tương tự (nam 40%, nữ 60%) [98]. Nguyên nhân có thể do các quần thể nghiên cứu khác nhau về địa điểm, dịch tễ các bệnh nền khiến bệnh nhân sử dụng thuốc gây SJS/TEN. Nghiên cứu của Saka thực hiện tại Togo, châu Phi, nơi có tỷ lệ nhiễm HIV khá cao, với nữ nhiều hơn nam [99].

Các thuốc gây SJS/TEN

Trong nghiên cứu này, chúng tôi xác định thuốc gây dị ứng dựa trên bảng điểm ALDEN, không thực hiện các xét nghiệm dị ứng như phản ứng chuyển dạng lympho bào, test áp da. Thực tế, xác định thuốc gây dị ứng cho tới nay vẫn là một bài toán khó. Các thử nghiệm *in vitro* có độ nhạy và độ đặc hiệu

thấp [8] vì một số thuốc khi đi vào cơ thể sẽ chuyển hóa qua gan, tạo hoạt chất có tính hapten kích hoạt hệ thống miễn dịch. Nghiên cứu ở châu Âu cho thấy bảng điểm này có độ nhạy cao hơn các phương pháp thông thường, có tương quan với các phân tích bệnh-chứng. Vì thế, nó là một công cụ tốt trong thực hành lâm sàng khi không thể làm các xét nghiệm dị ứng hoặc dùng thuốc nhắc lại [6]. Tuy nhiên, ở Việt Nam, các bệnh nhân thường dùng thuốc không kê đơn, dùng nhiều loại thuốc và dùng các thuốc đông y, dân gian không rõ thành phần làm cho việc xác định thuốc gây dị ứng gặp khó khăn. Mặt khác, thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát có thể kéo dài từ vài ngày tới hai tháng. Nhiều bệnh nhân không nhớ rõ các thuốc họ đã dùng. Một số nghiên cứu trên thế giới cho thấy, ngoài nguyên nhân do thuốc, SJS/TEN có thể liên quan tới vi sinh vật hoặc chưa rõ nguyên nhân (khoảng 20%) [7]. Điều này góp phần giải thích vì sao có 27,7% bệnh nhân SJS/TEN không rõ thuốc hay nguyên nhân gây bệnh trong nghiên cứu này.

Các thuốc gây dị ứng hay gặp nhất là allopurinol, carbamazepin, thuốc đông y và kháng sinh (bảng 3.2). Các thuốc khác có tần suất ít hơn. Đáng chú ý, trong nhóm TEN, tỷ lệ dị ứng do thuốc đông y cao hơn so với nhóm SJS, trong nhóm SJS, tỷ lệ thuốc allopurinol cao hơn nhóm TEN. Kết quả của chúng tôi cũng tương tự nghiên cứu tại bệnh viện Bạch Mai năm 2014, có 33 thuốc được xác định là nguyên nhân gây SJS/TEN, hay gặp nhất là allopurinol (21,7%), thuốc đông y (21,7%), tiếp đến là carbamazepin (20%) [22]. Theo Phạm Thị Hoàng Bích Dịu, carbamazepin chiếm tỷ lệ cao nhất (21,9%), sau đó đến thuốc đông y (18,8%) và amoxicillin (6,2%) [35]. Tần suất các loại thuốc gây SJS/TEN còn tùy thuộc vào dịch tễ, mô hình bệnh tật từng khu vực trên thế giới. Nghiên cứu ở châu Phi trên 177 bệnh nhân SJS/TEN (tỷ lệ dương tính với HIV là 59%) cho thấy nguyên nhân phổ biến nhất là sulfonamid (35,6%) và nevirapin (24,3%) [99]. Nghiên cứu ở Trung

Quốc trên 213 bệnh nhân SJS/TEN cho thấy nhóm thuốc hay gặp nhất là kháng sinh (28,6%), chống co giật (24,4%) và kháng viêm không steroid (11,3%), nhóm thuốc cổ truyền chỉ chiếm 5,2%. Trong số đó, carbamazepin là thuốc phổ biến nhất, chiếm 18,3% [100]. Ở Mỹ La-tinh, nhóm thuốc chính gây SCARs là các thuốc chống co giật (44,3%), kháng sinh nhóm betalactam (15,7%) [101]. Nghiên cứu ở Đài Loan cho thấy các nhóm thuốc hay gây SJS/TEN nhất là chống co giật (28,6%), kháng sinh (20,8%), allopurinol (15,6%); ở châu Âu, các thuốc phổ biến là allopurinol (19,2%), chống co giật (17,7%), kháng sinh, bao gồm sulfonamid (23,1%) [3]. Tỷ lệ SJS/TEN do kháng sinh trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với các nghiên cứu trên thế giới.

Các nghiên cứu ở Việt Nam cho thấy thuốc đông y chiếm tỷ lệ cao trong các căn nguyên gây SJS/TEN, bên cạnh các thuốc kinh điển như carbamazepin và allopurinol [22],[23],[35],[102]. Thời gian từ khi dùng thuốc tới khi khởi phát SJS/TEN của thuốc đông y khá dài, trung bình 23 ngày. Các nghiên cứu và y văn trên thế giới đều cho thấy carbamazepin là thuốc hàng đầu gây SJS/TEN [2] [3],[6]. Đặc biệt, các bệnh nhân dị ứng với carbamazepin có thể dị ứng chéo với các thuốc chống co giật cùng nhóm như lamotrigin, phenytoin, phenobarbital và oxcarbazepin [103],[104],[105],[106],[107]. Wang và cộng sự cho thấy 52,9% bệnh nhân có tiền sử dị ứng với carbamazepin có phản ứng với phenytoin, 69,2% bệnh nhân dị ứng với phenytoin có phản ứng với carbamazepin [106]. Seitz và cộng sự chỉ ra rằng phản ứng chéo giữa các thuốc chống co giật nhân thơm có thể lên tới 80% [104].

Một số đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng

Kết quả của chúng tôi cho thấy, trong số 83 bệnh nhân SJS/TEN, có 85,5% có thương tổn niêm mạc (ít nhất một niêm mạc). Tỷ lệ có thương tổn

niêm mạc của nhóm SJS cao hơn so với nhóm TEN, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (bảng 3.6). Trong số 11 bệnh nhân TEN không có thương tổn niêm mạc, nguyên nhân do thuốc đông y có 4 bệnh nhân, chưa rõ nguyên nhân có 3 bệnh nhân, các thuốc khác là allopurinol, carbamazepin, diclofenac và piroxicam (mỗi thuốc có 1 bệnh nhân). Kết quả về thương tổn niêm mạc của chúng tôi cũng tương tự một số nghiên cứu khác ở trong nước [22],[23],[27],[35] và nước ngoài. Theo Meyer Sauter, bệnh nhân SJS có tổn thương niêm mạc miệng 100%, tổn thương niêm mạc mắt 97%, tổn thương niêm mạc sinh dục 70% [108]. Theo Rajaratnam, bệnh nhân TEN có tổn thương niêm mạc miệng 71,4%, tổn thương niêm mạc mắt 57,1%, tổn thương niêm mạc sinh dục 33,3% [109]. Watanabe cho rằng tất cả các bệnh nhân SJS/TEN đều có tổn thương niêm mạc trên 2 hốc tự nhiên [110]. Theo Saka, tỷ lệ SJS/TEN có tổn thương niêm mạc mắt là 29,6% trong đó 16,6% bệnh nhân có di chứng mù lòa sau ra viện, hội chứng khô mắt 3,7%, tổn thương niêm mạc âm đạo 7,4%, niêm mạc miệng họng 11,1% [59].

Nghiên cứu của Cát Vân Anh về đặc điểm thương tổn kết giác mạc ở 9 bệnh nhân SJS/TEN do dị ứng thuốc cho thấy tất cả các bệnh nhân đều có cương tụ, xung huyết kết mạc, tiết tố nhày và viêm bờ mi. Dính mi cầu gặp trong 22,2%, chấm nông giác mạc gặp trong 44,4%. Tác giả cho rằng các triệu chứng như ngứa, đỏ mắt và tiết nhày báo hiệu thương tổn niêm mạc mắt, vốn rất đa dạng trong SJS/TEN. Điều đáng lưu ý là thương tổn ban đầu lại không đặc hiệu và dễ bị bỏ sót do hay xuất hiện cùng lúc với các biểu hiện toàn thân [111].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, tỷ lệ có thương tổn niêm mạc miệng là cao nhất (bảng 3.6). Các bệnh nhân này đều có thương tổn da kèm theo (trợt da, bong nước, hoại tử hoặc dát đỏ thâm màu). Trong số đó, có một số bệnh nhân ưu thế thương tổn ở niêm mạc hơn là ở da và chưa tìm được thuốc nghi

ngờ gây dị ứng. Với những bệnh nhân này, chúng ta nên tìm các nguyên nhân ngoài thuốc như nhiễm *Mycoplasma pneumoniae*, *Coxsackievirus A6*, cytomegalovirus hay herpes virus [7],[57]. Trong nghiên cứu này, chúng tôi chưa thực hiện được, đó cũng là một hạn chế. Ở Đài Loan, vào mùa dịch enterovirus năm 2010-2012, có 21 bệnh nhân biểu hiện thương tổn da, niêm mạc mà không tìm được thuốc nghi ngờ gây dị ứng. Các kết quả xét nghiệm cho thấy DNA của *Coxsackievirus A6* được phát hiện trong thương tổn bong nước của 6 bệnh nhân. Hình ảnh mô bệnh học có xâm nhập chủ yếu các CTL và tế bào NK bộc lộ granulyisin giống với SJS [57]. Trên lâm sàng, chúng tôi nhận thấy thương tổn niêm mạc miệng là một dấu hiệu nặng của SJS/TEN, làm cho người bệnh ăn uống khó, thậm chí phải đặt sond dạ dày hay nuôi dưỡng tĩnh mạch. Trong khi đó, nhu cầu năng lượng của các bệnh nhân SJS/TEN phải tăng gấp rưỡi bình thường để TTTB và hồi phục [8]. Những bệnh nhân TEN không có thương tổn niêm mạc thường phục hồi nhanh hơn.

Các bệnh nhân TEN có tỷ lệ viêm phế quản phổi cao hơn nhóm SJS, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tỷ lệ bệnh nhân SJS/TEN có sốt, tăng men gan, hạ bạch cầu, rối loạn chức năng thận trong nghiên cứu của chúng tôi (bảng 3.7) cũng tương tự một số nghiên cứu trước ở Việt Nam [22],[23],[112]. Như vậy, tỷ lệ các bệnh nhân SJS/TEN có thương tổn nội tạng, toàn thân khá cao, phản ánh mức độ nguy hiểm, đe dọa tính mạng của bệnh. Mặt khác, khi bệnh nhân có vấn đề về thận, độ thanh thải thuốc sẽ chậm hơn, nồng độ các protein gây độc trong huyết thanh như granulyisin tăng cao kéo dài, góp phần làm nặng thêm bệnh cảnh dị ứng thuốc [113].

Vì xét nghiệm bicarbonat máu không thực hiện ở tất cả các bệnh nhân nên chúng tôi chỉ tính được điểm SCORTEN 6 tiêu chí để đánh giá mức độ nặng của SJS/TEN. Điểm SCORTEN trung bình là 1,5 (bảng 3.5) tương

đương với điểm SCORTEN trong các nghiên cứu trước ở Việt Nam [21],[22],[112]. Nguyên nhân là do trong nghiên cứu của chúng tôi, số bệnh nhân TEN nhiều hơn SJS, ngược lại, ở các nghiên cứu tham khảo, số bệnh nhân SJS nhiều hơn TEN [21],[22],[112]. Ngoài ra, chỉ số bicarbonat ở trên 30 bệnh nhân mà chúng tôi thu thập được không ảnh hưởng tới tổng điểm SCORTEN. Việc đánh giá mức độ nặng, tiên lượng bệnh nhân SJS/TEN còn dựa vào diện tích da bị hoại tử, trợt, bong nước và các thương tổn nội tạng, triệu chứng toàn thân.

Các thuốc điều trị trong SJS/TEN

Trong nghiên cứu này, thuốc điều trị chính cho SJS/TEN là corticosteroid toàn thân, ciclosporin A được sử dụng ít hơn (bảng 3.8). Một nghiên cứu ở cộng hòa Séc cho thấy tỷ lệ sử dụng corticosteroid toàn thân trong điều trị SJS/TEN là 68% [98], thấp hơn so với kết quả của chúng tôi. Nguyên nhân là do ở Việt Nam, corticosteroid thường sẵn có, giá thành thấp, các bác sỹ có nhiều kinh nghiệm sử dụng (hay nói đúng hơn là quen sử dụng). Các liệu pháp khác trong điều trị SJS/TEN như ciclosporin A, kháng TNF- α chưa phổ biến ở Việt Nam, thiếu các dữ liệu về hiệu quả và các tác dụng phụ.

Vai trò của corticosteroid trong điều trị SJS/TEN chưa thống nhất. Những người ủng hộ nhấn mạnh vai trò ức chế viêm của liều cao corticosteroid trong giai đoạn sớm của bệnh; những người phản đối cho rằng corticosteroid toàn thân làm tăng nguy cơ nhiễm trùng, chậm lành vết thương [8]. Phân tích hồi cứu của dữ liệu EuroSCAR cho thấy ở nhóm bệnh nhân SJS/TEN người Đức điều trị corticosteroid có tỷ lệ tử vong thấp hơn nhóm chỉ chăm sóc hỗ trợ đơn thuần [114]. Để hạn chế tác dụng phụ của liệu pháp corticosteroid kéo dài, một số tác giả sử dụng liều rất cao trong thời gian ngắn

(pulse therapy) [115],[116]. Trong nghiên cứu của Kardaun, 12 bệnh nhân điều trị bằng dexamethason tĩnh mạch 100 mg hoặc 1,5 mg/kg trong 3 ngày có tỷ lệ tử vong thấp hơn so với tỷ lệ tử vong ước tính theo bảng SCORTEN [116]. Hirahara và cộng sự theo dõi 8 bệnh nhân SJS/TEN điều trị bằng methylprednisolon tĩnh mạch 1000 mg trong ba ngày liên tục, sau đó giảm liều bằng prednisolon uống hoặc 2 ngày methylprednisolon với liều bằng một nửa liều ban đầu. Không có bệnh nhân nào tử vong mặc dù số tử vong ước tính theo SCORTEN là 1,6 [115]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tại Bệnh viện Da liễu Trung ương, các bệnh nhân SJS/TEN được điều trị bằng methylprednisolon với liều trung bình 1,6 mg/kg/ngày (giao động từ 0,7-2,5 mg/kg/ngày). Các bệnh nhân này đều có đáp ứng tốt, không có bệnh nhân nào tử vong trong 32 bệnh nhân được khảo sát. Các biến chứng hay gặp nhất là tăng đường máu thoáng qua (40,6%), hạ kali máu (21,9%), viêm phế quản phổi (12,5%) và nhiễm *Candida* miệng (9,45). Không có bệnh nhân nào bị nhiễm khuẩn huyết.

Tác dụng ức chế các tế bào lympho xác định ciclosporin là thuốc chuẩn về mặt lý thuyết có tác dụng trong SJS/TEN [8]. Nghiên cứu của Valeyrie-Allanore ở Creteil, Paris cho thấy 29 bệnh nhân SJS/TEN điều trị bằng ciclosporin (liều 1,5-0,5 mg/kg/ngày) đều có tác dụng tốt. Không có bệnh nhân tử vong, mặc dù số tử vong ước tính theo SCORTEN là 2,75/29 [117]. Singh báo cáo 11 bệnh nhân SJS/TEN điều trị ciclosporin 3 mg/kg/ngày trong 7 ngày, sau đó giảm liều. Nhóm này được so sánh với 6 bệnh nhân SJS/TEN điều trị bằng corticosteroid. Ciclosporin có hiệu quả hơn corticosteroid khi so sánh tỷ lệ tử vong ước tính theo SCORTEN [118]. Kirchhof nghiên cứu hồi cứu 64 bệnh nhân SJS/TEN điều trị ciclosporin hoặc immunoglobulin tĩnh

mạch (IVIG) với liều khác nhau theo từng bệnh nhân. So sánh tỷ lệ tử vong ước tính theo SCORTEN với tỷ lệ tử vong thực tế cho thấy lợi ích của ciclosporin so với IVIG [119].

Thời gian tái tạo thượng bì

Thời gian TTTB trung bình của nhóm SJS ngắn hơn so với nhóm TEN, trung bình cho SJS/TEN nói chung là 15,9 ngày. Thời gian điều trị nội trú của nhóm SJS ngắn hơn so với nhóm TEN, trung bình cho các bệnh nhân SJS/TEN là 15,1 ngày (bảng 3.8). Kết quả của chúng tôi cũng tương tự một số tác giả khác. Theo Hirahara, thời gian TTTB ngắn nhất là 7 ngày và dài nhất là 28 ngày [115]. Tác giả Lương Đức Dũng cho thấy phần lớn các bệnh nhân SJS/TEN có thời gian điều trị nội trú trong vòng 2 tuần (61,7%). Các bệnh nhân TEN có thời gian nằm viện trung bình là 19,6 ngày, cao hơn các bệnh nhân SJS (13,3 ngày), sự khác biệt có ý nghĩa với $p < 0,01$ [22]. Nguyễn Thị Hà Vinh cho thấy thời gian điều trị nội trú trung bình của các bệnh nhân SJS/TEN là 18,7 ngày [27]. Một số nghiên cứu cho thấy khi điều trị bằng ciclosporin, thời gian TTTB và nằm viện ngắn hơn so với corticosteroid [117],[118], thậm chí chỉ 4 ngày [120]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, thời gian TTTB được tính từ khi bệnh khởi phát tới khi da lành hoàn toàn, không có vết trợt. Nhiều bệnh nhân nhập viện sau khởi phát nhiều ngày, điều này góp phần giải thích vì sao có sự chênh lệch giữa thời gian TTTB và thời gian nằm viện. Ở nhóm điều trị bằng corticosteroid, thời gian TTTB trung bình tương đương với nhóm điều trị bằng ciclosporin (15,7 ngày so với 15,8 ngày). Như vậy, thời gian TTTB còn phụ thuộc vào nhiều yếu tố khác (như mức độ nặng của bệnh, diện tích thương tổn da, tình trạng nhiễm khuẩn) hơn là thuốc điều trị.

4.1.2. Xác định một số gen (allele *HLA-B*) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam

Nghiên cứu của chúng tôi đã xác định được 24 loại haplotype *HLA-B* khác nhau ở 60 bệnh nhân SJS/TEN, trong đó, allele hay gặp nhất là *HLA-B*15:02*. Trong số 25 bệnh nhân mang allele *HLA-B*15:02*, có 13 bệnh nhân bị SJS/TEN do carbamazepin, chiếm 52% (bảng 3.9). Theo nghiên cứu của Hoa BK và cộng sự trên 170 người Kinh, Việt Nam, allele *HLA-B*15:02* có tần suất cao nhất (13,5%) trong các allele thuộc gen *HLA-B* [94]. Tỷ lệ bệnh nhân SJS/TEN mang allele *HLA-B*15:02* trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với quần thể người Kinh. Nguyên nhân là do các bệnh nhân có thuốc gây dị ứng hay gặp là carbamazepin (13/60 bệnh nhân, chiếm 21,7%), allele *HLA-B*15:02* có mối liên quan chặt chẽ với SJS/TEN do carbamazepin [21],[105]. Nghiên cứu ở Hàn Quốc cho thấy allele này chỉ chiếm 0,3% gen *HLA-B*, thấp hơn so với quần thể người Kinh, trong khi đó, *HLA-B*44:03* là allele có tần suất cao nhất (10%) [121]. Ở quần thể người Thái Lan, *HLA-B*46:01* có tần suất cao nhất trong gen *HLA-B* (11,51%), còn *HLA-B*15:02* chiếm 8,16% [122], thấp hơn so với người Kinh. Gen *HLA-B* có tính đa hình cao, tần suất của các allele phụ thuộc vào từng dân tộc. Việc sàng lọc các dấu ấn dược lý-gen *HLA-B* phổ biến trong cộng đồng giúp phòng tránh nguy cơ dị ứng thuốc nặng do các thuốc liên quan tới một số *HLA-B* nhất định [17],[86],[87],[121].

Có 15/60 bệnh nhân mang allele *HLA-B*58:01*, chiếm 25% (bảng 3.9). Trong số 15 bệnh nhân này, có 13 bệnh nhân SJS/TEN do allopurinol. Tỷ lệ người mang allele này trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với trong cộng đồng người Kinh [94]. Nguyên nhân là do có 21,7% bệnh nhân SJS/TEN do allopurinol trong số 60 bệnh nhân SJS/TEN có định type *HLA-B*. Mối liên quan giữa SJS/TEN do allopurinol với allele *HLA-B*58:01* gặp ở cả chủng tộc châu Á và châu Âu [17],[86]. Có 9/60 bệnh nhân SJS/TEN, chiếm

15%, mang allele *HLA-B*46:01*, cao hơn tần suất của allele này trong quần thể người Kinh [94], Hàn Quốc [121] và Thái Lan [122]. Trong số 9 bệnh nhân này, các thuốc gây SJS/TEN là allopurinol (2 bệnh nhân), carbamazepin (2 bệnh nhân), không rõ thuốc (3 bệnh nhân), lamotrigin (1 bệnh nhân) và thuốc đông y (1 bệnh nhân). Nghiên cứu trước đây ở Việt Nam cho thấy tần suất của allele *HLA-B*46:01* ở những bệnh nhân SJS/TEN do carbamazepin thấp hơn so với những người dung nạp thuốc. Tác giả cho rằng *HLA-B*46:01* là allele có tính chất bảo vệ, ngăn sự tiến triển của SJS/TEN do carbamazepin [21]. Vai trò của allele này cần được nghiên cứu sâu hơn.

Có một bệnh nhân mang allele *HLA-B*15:02* bị SJS do allopurinol. Trong khi đó, SJS do allopurinol có mối liên quan chặt chẽ với allele *HLA-B*58:01* [19],[20]. Thực tế, bệnh nhân này có genotype của *HLA-B* là 15:02 và 58:01. Việc xác định allele *HLA-B* giúp bệnh nhân tránh sử dụng thuốc có nguy cơ cao gây SJS/TEN (cả allopurinol và carbamazepin). Đáng chú ý, có 6/8 bệnh nhân SJS/TEN do thuốc đông y (chiếm 75%) mang allele *HLA-B*51:02*. Allele *HLA-B*51:02* thuộc serotype B5102. Vai trò của nó trong SJS/TEN do thuốc đông y cần được làm rõ thêm. Đáng tiếc là các thành phần có tính chất dược lý trong thuốc đông y chưa được phân tích.

Cả 13 bệnh nhân SJS/TEN do carbamazepin đều mang allele *HLA-B*15:02*. Kết quả này cũng tương tự với các nghiên cứu khác ở châu Á [17],[18],[88]. Việc sàng lọc allele này là cần thiết trước khi chỉ định carbamazepin cũng như các thuốc chống co giật nhân thơm khác, vì giữa các thuốc này có phản ứng dị ứng chéo [103],[104],[105].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, thuốc chống động kinh nhân thơm gây SJS/TEN hay gặp nhất là carbamazepin. Chỉ có một bệnh nhân bị TEN do uống lamotrigin điều trị trầm cảm. Nghiên cứu ở cộng đồng người Thái Lan cho thấy tỷ lệ người mang allele *HLA-B*15:02* và *HLA-A*02:07* trong nhóm

SCARs do lamotrigin cao hơn so với nhóm chứng dung nạp thuốc này [123]. Bệnh nhân TEN do lamotrigin trong nghiên cứu của chúng tôi mang allele *HLA-B*15:21* và *HLA-B*46:01*. Allele *HLA-B*15:21* thuộc serotype *HLA-B75*, giống với *HLA-B*15:02*, *B*15:11* và *B*15:08*, có chung vị trí gắn với phân tử carbamazepin [124]. Một trường hợp bệnh nhân overlap SJS/TEN nghi do carbamazepin người Philippin không mang allele *HLA-B*15:02* nhưng dương tính với serotype *HLA-B75* [125]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 2 bệnh nhân khác mang allele *HLA-B*15:21*, một người bị TEN do thuốc nam (điều trị đau khớp) và một người bị TEN do thalidomid. Nghiên cứu ở Hàn Quốc cho thấy có 3/5 bệnh nhân SJS/TEN do lamotrigin mang allele *HLA-B*44:03* [17]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có một bệnh nhân mang allele này. Đó là bệnh nhân TEN do carbamazepin, có phenotype *HLA-B* là 15:02 và 44:03. Nguyên nhân có thể là do tần suất allele *HLA-B*44:03* khác nhau trong quần thể người Hàn Quốc [121] và người Việt [94].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi góp phần chỉ ra một số mối liên hệ giữa thuốc gây SJS/TEN và các allele *HLA-B*. Đáng chú ý là có một số bệnh nhân chưa rõ thuốc gây dị ứng hoặc nghi ngờ dị ứng do thuốc đông y nhưng mang các allele *HLA-B* đặc hiệu cho carbamazepin (*HLA-B*15:02*) hoặc allopurinol (*HLA-B*58:01*). Nguyên nhân có thể do tính phổ biến của các allele này trong quần thể dân cư nói chung. Mặt khác, các chỉ định điều trị cho những bệnh nhân này là đau khớp, đau do nguyên nhân thần kinh. Ở Việt Nam, tuy chưa có số liệu báo cáo nhưng việc trộn các thuốc tây y một cách có chủ ý vào các thuốc đông y hoặc thuốc dân gian có thể xảy ra. Các xét nghiệm chẩn đoán thuốc gây dị ứng có độ nhạy và độ đặc hiệu không cao. Việc xác định genotype của *HLA-B* có thể gợi ý những thuốc có nguy cơ cao cho một số bệnh nhân, giúp phòng tránh SJS/TEN nói riêng và SCARs nói chung.

Nghiên cứu về allele *HLA-B* ở bệnh nhân SJS/TEN của chúng tôi có một số hạn chế. Thứ nhất, cỡ mẫu chưa đủ lớn (60 bệnh nhân SJS/TEN), do nhiều loại thuốc khác nhau gây ra, chưa có số lượng lớn cho một loại thuốc nhất định gây SJS/TEN. Thứ hai, không có nhóm chứng là những người dung nạp với thuốc hay những người khỏe mạnh. Do đó, không phân tích được mối liên quan giữa allele *HLA-B* với SJS/TEN do các thuốc nhất định. Thứ ba, nghiên cứu này chỉ phân tích gen *HLA-B*, chưa phân tích được các gen khác có liên quan tới SJS/TEN do thuốc như *HLA-A*, *HLA-C* hay các gen chuyển hóa thuốc ngoài *HLA*. Cần có thêm những nghiên cứu sâu hơn trên cỡ mẫu lớn hơn về mối liên quan giữa SJS/TEN do thuốc với các gen *HLA* và ngoài *HLA* khác ở người Việt.

4.2. Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN

4.2.1. Nồng độ granulysin huyết thanh

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy nồng độ granulysin huyết thanh của nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM và nhóm HCs (biểu đồ 3.1). Không có sự khác nhau giữa nhóm SJS và nhóm TEN (biểu đồ 3.2). Ở những bệnh nhân nhập viện trong vòng 5 ngày sau khi khởi phát, nồng độ granulysin huyết thanh cao hơn so với nhóm nhập viện sau khởi phát từ 6 ngày trở lên (biểu đồ 3.3). Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Ở nhóm SJS/TEN, nồng độ granulysin lúc nhập viện và lúc TTTB không có sự khác nhau (biểu đồ 3.7). Việc sử dụng corticosteroid toàn thân trước khi nhập viện không ảnh hưởng tới nồng độ granulysin huyết thanh (biểu đồ 3.6).

Granulysin là một phân tử gây ly giải tế bào do các tế bào T gây độc (CTL) và tế bào NK sản xuất, bài tiết [126]. Nó tác động trên các loại tế bào ung thư, các vi sinh vật, bao gồm các vi khuẩn gram âm, gram dương, nấm và ký sinh trùng [126],[127]. Khi kết hợp với perforin tinh khiết, granulysin tái

tổ hợp gây ly giải 90% *Mycobacterium tuberculosis* nội bào, tổn thương trên bề mặt các tế bào này [127]. Các đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và miễn dịch học trong SJS/TEN ủng hộ cho quan điểm rằng SJS/TEN là các phản ứng quá mẫn được khởi phát bởi các tế bào lympho ở da [9],[71]. Các CTL và tế bào NK xâm nhập vào thương tổn da của các bệnh nhân SJS/TEN. Chung và cộng sự cho thấy các tế bào bạch huyết trong SJS/TEN chủ yếu bao gồm CD8⁺ CTL và CD56⁺ NK và các tế bào NKT, các tế bào hiệu ứng này có tác động gây độc lên các tế bào đích [9]. Các kết quả này ủng hộ vai trò quan trọng của granulysin, sản phẩm của TCD8⁺ và tế bào NK, trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN.

Trong nghiên cứu này, nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM (biểu đồ 3.1). EM là một phản ứng ngoài da đặc trưng bởi các hình bia bắn điển hình hoặc không điển hình. Nguyên nhân có thể do vi sinh vật (virus herpes, *Mycoplasma pneumoniae*) hoặc do thuốc hoặc có thể cả hai [1]. Các nghiên cứu khác cho thấy, nồng độ granulysin huyết thanh có thể tăng trong các tình trạng nhiễm virus [128], ví dụ như EM do virus. Điều đó giải thích vì sao trong EM, nồng độ granulysin có thể tăng cao. Tuy nhiên, kết quả của chúng tôi cho thấy granulysin huyết thanh có thể là một dấu ấn tốt để chẩn đoán phân biệt SJS/TEN và EM. Ngoài ra, trong SJS/TEN, nồng độ granulysin huyết thanh thường tăng trước khi khởi phát bệnh (xuất hiện thương tổn niêm mạc, bong nước) 2-4 ngày [31]. Phần lớn các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi được lấy mẫu huyết thanh định lượng granulysin sau khởi phát bệnh trung bình là 6 ngày. Thế nhưng, kết quả của chúng tôi cũng tương tự với nghiên cứu trước ở Nhật Bản (nồng độ granulysin huyết thanh ở 5 bệnh nhân SJS/TEN 2-4 ngày trước khởi phát là 24,8 ng/ml) [31]. Nguyên nhân có thể do sự khác nhau về cỡ mẫu, chủng tộc, môi trường của bệnh nhân. Thực tế, nồng độ granulysin huyết thanh có thể bị

ảnh hưởng bởi một số yếu tố như nhiễm trùng [128],[129],[130], ung thư [129],[131], tuổi [128] và tình trạng miễn dịch [130]. Điều này góp phần giải thích vì sao nồng độ granulysin huyết thanh ở các cá thể khác nhau có mức dao động lớn.

Ogawa và cộng sự (2003) sử dụng phương pháp ELISA sandwich để khảo sát nồng độ granulysin trong huyết thanh người khỏe mạnh (tuổi trung bình là 38,8; dao động từ 0-99 tuổi). Nồng độ trung bình đo được là $3,7 \pm 3,2$ ng/ml. Nồng độ granulysin huyết thanh tăng dần theo độ tuổi, trong khi đó, ở trẻ dưới 2 tuổi có nồng độ tương đương với người lớn. Ở hai giới nam và nữ không có sự khác biệt [128]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ granulysin huyết thanh ở 20 người khỏe mạnh cao hơn so với nghiên cứu của Ogawa [128] và so với các nhân viên y tế làm việc trong các bệnh viện lao ở Hà Nội [130]. Trong nhóm SJS/TEN, có mối tương quan nghịch biến giữa nồng độ granulysin huyết thanh với tuổi, tuy không chặt chẽ và không có ý nghĩa thống kê. Nguyên nhân có thể do sự khác nhau về cỡ mẫu nghiên cứu, chủng tộc, tình trạng miễn dịch của đối tượng nghiên cứu.

Trong nghiên cứu của Cho và cộng sự (2014), các mẫu huyết thanh trong giai đoạn cấp của bệnh (trong vòng 3 ngày sau khi nhập viện) được thu thập từ 12 bệnh nhân hồng ban cố định nhiễm sắc thể lan tỏa có bọng nước (generalized bullous fixed drug eruption, GBFDE) và 21 bệnh nhân overlap SJS/TEN hoặc TEN [132]. Nồng độ granulysin ở nhóm GBFDE (10,35 ng/ml) thấp hơn so với nhóm overlap SJS/TEN (24,98 ng/ml) và nhóm TEN (64,21 ng/ml), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Trong GBFDE, granulysin chủ yếu do các tế bào NK sản xuất, hơn là các CTL. Sự bộc lộ của granulysin ở cả thương tổn da và huyết thanh là đặc điểm giúp phân biệt SJS/TEN với GBFDE [132]. Ngoài ra, nồng độ granulysin huyết thanh không chỉ tăng trong SJS/TEN mà còn tăng trong các bệnh lý da khác như nhiễm virus, mảnh ghép chống vật chủ [128],[133], hội chứng tăng nhạy cảm do thuốc, phản ứng

thuốc có tăng bạch cầu ái toan và có triệu chứng hệ thống (DRESS) [134]. Nghiên cứu của Chung và cộng sự (2014) cho thấy nồng độ granulysin huyết tương có tương quan với tình trạng suy thận và tỷ lệ tử vong ở các bệnh nhân SJS/TEN do allopurinol. Ngay cả khi ngừng allopurinol, nồng độ granulysin huyết tương ở các bệnh nhân suy thận (342 ng/ml) vẫn cao hơn và kéo dài hơn so với nhóm có chức năng thận bình thường (dưới 40 ng/ml). Các bệnh nhân SJS/TEN tử vong có nồng độ granulysin cao hơn và kéo dài hơn so với các bệnh nhân sống sót [113]. Nghiên cứu của Su cho thấy, nồng độ granulysin huyết thanh ở các bệnh nhân SJS/TEN chưa loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 66,9 ng/ml, ở các bệnh nhân SJS/TEN đã loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 31,5 ng/ml. Nồng độ granulysin huyết thanh liên quan khá chặt chẽ với mức độ nặng và tỷ lệ tử vong trong SJS/TEN [3]. Như vậy, granulysin huyết thanh không những có giá trị chẩn đoán mà còn có giá trị tiên lượng trong SCARs nói chung và SJS/TEN nói riêng.

Dù giống nhau về thương tổn da trong giai đoạn sớm, SJS/TEN và EM có thể được phân biệt trên hình ảnh hóa mô miễn dịch thương tổn da. Các phân tử gây độc tế bào, đặc biệt là granulysin có mặt ở da của các bệnh nhân SJS/TEN, gây chết tế bào keratin diện rộng [9],[12]. Ở nhóm SJS/TEN, thương tổn da bộc lộ mạnh các phân tử granulysin, granzym B và perforin ở thượng bì, bong nước, trong khi đó, chúng thưa thớt hoặc không có ở nhóm EM [135]. Những phát hiện này là bằng chứng ủng hộ, giải thích vì sao nồng độ granulysin trong dịch bong nước của bệnh nhân SJS/TEN tăng cao.

Nghiên cứu của chúng tôi về nồng độ granulysin huyết thanh có một số hạn chế. Thứ nhất, các mẫu huyết thanh ở nhóm SJS/TEN được thu thập sau khởi phát trung bình là 6 ngày, lúc đó nồng độ granulysin huyết thanh có thể đã giảm xuống nhiều, so với thời điểm khởi phát hoặc trước khi khởi phát. Thứ hai, nhóm HCs không có tương đồng về nhóm tuổi, tuổi trung bình so với các bệnh nhân SJS/TEN, EM. Điều này có thể ảnh hưởng tới việc so sánh

nồng độ granulysin huyết thanh giữa các nhóm. Thứ ba, chúng tôi đánh giá mối tương quan giữa nồng độ granulysin huyết thanh với điểm SCORTEN 6 tiêu chí của bệnh nhân (vì không có đầy đủ các tiêu chí của bảng điểm SCORTEN). Tuy nhiên, chúng tôi có so sánh nồng độ granulysin huyết thanh giữa hai nhóm SJS và TEN (khác nhau về diện tích thương tổn da có bong nước, bóc tách thượng bì). Thứ tư, chúng tôi không làm hóa mô miễn dịch về dấu ấn của granulysin và các tế bào tiết granulysin ở da bệnh nhân SJS/TEN và EM, không đo nồng độ granulysin trong dịch bong nước. Một số protein gây độc khác ngoài granulysin [16] hay các chất như annexin A1 [60] được chứng minh có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN.

4.2.2. Nồng độ 13 cytokin huyết thanh

4.2.2.1. Nồng độ các cytokin của Th1 ($TNF-\alpha$, $IFN-\gamma$ và $IL-2$)

a) Yếu tố hoại tử α ($TNF-\alpha$)

$TNF-\alpha$ là một cytokin tiền viêm hoạt lực mạnh, có vai trò trong nhiều bệnh nhiễm trùng và không nhiễm trùng [136]. Có nhiều tế bào bài tiết cytokin này, bao gồm các tế bào miễn dịch (đại thực bào, dưỡng bào, tế bào T) và tế bào không miễn dịch (tế bào biểu mô và tế bào cơ trơn đường dẫn khí, tế bào keratin) [136]. Ban đầu, $TNF-\alpha$ được xem có hai hiệu ứng sinh học: 1) gây hoại tử chảy máu các khối u ác tính; 2) gây suy nhược liên quan tới viêm. Ngoài ra, nó là chất trung gian quan trọng của các tình trạng viêm da, hầu như tất cả các bệnh viêm da đều sinh ra $TNF-\alpha$, thậm chí là khi da tiếp xúc với tia cực tím. Khi bị kích thích bởi $TNF-\alpha$, các tế bào Langerhan di chuyển về các hạch lympho, gây miễn cảm các tế bào T ngây thơ [90].

Sự bộc lộ quá mức $TNF-\alpha$ có nguồn gốc từ các đại thực bào và các tế bào keratin trong thương tổn của TEN chỉ ra mối liên hệ giữa $TNF-\alpha$ và tình trạng hoại tử diện rộng trong TEN. $TNF-\alpha$ cũng là một cytokin gây CTCT các tế bào, hoạt hóa tế bào, biệt hóa và gây viêm. Khi gắn vào các thụ thể bề mặt,

TNF- α kích hoạt CTCT thông qua hoạt hóa dòng thác caspase, thay đổi ty thể, dẫn tới một loạt quá trình gây độc, bao gồm sản xuất các gốc tự do và tấn công DNA của nhân bởi men endonuclease. Ngoài hoạt hóa CTCT, trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN, TNF- α còn gây hiệu ứng lên đáp ứng viêm. Nó làm thay đổi tính thấm của tế bào nội mô mạch máu, tương tác giữa các bạch cầu và các tế bào nội mô mạch máu. Khi phối hợp bộc lộ các phân tử kết dính đặc hiệu tế bào, TNF- α huy động các quần thể tế bào miễn dịch khác nhau. Hình ảnh mô bệnh học của SJS/TEN chủ yếu là sự xâm nhập các bạch cầu, có thể do sự hóa ứng động của TNF- α [12].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ TNF- α của nhóm SJS/TEN là 32,6 pg/ml, cao hơn so với nhóm EM (7,6 pg/ml) và HCs (27,7 pg/ml) (bảng 3.11). Không có sự khác nhau giữa nhóm SJS so với nhóm TEN (bảng 3.12). Sau điều trị, khi đã TTTB, nồng độ TNF- α chỉ còn 2,7 pg/ml, giảm nhiều so với lúc nhập viện, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (bảng 3.15). Nồng độ TNF- α huyết thanh trong nghiên cứu này thấp hơn so với nghiên cứu của Su [3] nhưng cao hơn so với nghiên cứu của Wang [92]. Theo Su, nồng độ TNF- α ở nhóm SJS/TEN đã loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 58,2 pg/ml, ở nhóm chưa loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 98,1 pg/ml. Các bệnh nhân được chẩn đoán là nhiễm khuẩn huyết dựa vào kết quả cấy máu hoặc procalcitonin máu > 2 ng/ml [3]. Trong nghiên cứu của chúng tôi không có bệnh nhân nào có tình trạng nhiễm trùng như thế. Cùng với IL-6 và IL-1, TNF- α là cytokin có vai trò chính trong nhiễm khuẩn huyết [136]. Nghiên cứu của Wang đo nồng độ TNF- α huyết thanh và dịch bọt nước của 27 bệnh nhân SJS/TEN bằng phương pháp ELISA. Nồng độ TNF- α huyết thanh của các bệnh nhân SJS/TEN giai đoạn cấp là 3,33 pg/ml, ở giai đoạn lui bệnh là 2,53 pg/ml. Nồng độ TNF- α trong dịch bọt nước của 6 bệnh nhân SJS/TEN là 13,4 pg/ml, cao hơn so với nồng độ TNF- α huyết thanh [92]. Như vậy, nồng độ

TNF- α tăng trong giai đoạn cấp của SJS/TEN, có tác dụng khởi động bệnh, giảm đi trong giai đoạn lui bệnh. Nghiên cứu về vai trò của TNF- α có thể mở ra hướng điều trị mới, sử dụng các thuốc sinh học kháng TNF- α trong SJS/TEN, giống như trong bệnh vảy nến [137],[138], viêm khớp dạng thấp [139],[140].

Nghiên cứu tổng quan của Zhang và cộng sự (2020) cho thấy các chất kháng TNF- α được dùng như đơn liệu pháp, phác đồ thứ hai hoặc kết hợp trong điều trị SJS/TEN. Các bài báo nghiên cứu về sử dụng kháng TNF- α trong điều trị SJS/TEN chủ yếu là các ca lâm sàng (21 bài), chùm bệnh (4 bài), chỉ có hai thử nghiệm lâm sàng có nhóm chứng. Có 86,8% bệnh nhân (79/91) đáp ứng tốt, ít tác dụng phụ và biến chứng [141]. Đã có báo cáo về bệnh nhi 11 tuổi bị SJS do sulfamethoxazol-trimethoprim đáp ứng chậm với methylprednisolon kết hợp với ciclosporin nhưng bệnh ngừng tiến triển khi bắt đầu thêm vào phác đồ điều trị thuốc kháng TNF- α [142]. Trị liệu này có ưu điểm là có thể chỉ dùng một liều đơn thuần. Paradisi báo cáo về 10 bệnh nhân SJS/TEN điều trị bằng etanercept (kháng TNF- α) với liều đơn 50 mg tiêm dưới da. Nghiên cứu không có nhóm chứng. Tất cả bệnh nhân đáp ứng với thời gian TTTB trung bình là 8,5 ngày. Không có bệnh nhân tử vong, mặc dù tỷ lệ tử vong ước tính theo SCORTEN là 50% [143].

Ngoài các thuốc sinh học, thalidomid cũng là thuốc kháng TNF- α . Nhưng trong SJS/TEN, thalidomid không có hiệu quả rõ rệt, thậm chí còn có hại, làm tăng tỷ lệ tử vong [4],[144]. Nguyên nhân thất bại có thể là do thalidomid có tác dụng ngược, làm tăng sản xuất TNF- α . Nồng độ TNF- α huyết tương ở nhóm điều trị thalidomid cao hơn nhóm placebo vào ngày thứ hai, tuy sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê [4]. Ngoài ra, thalidomid cũng là tác nhân gây SJS/TEN [145],[146],[147], tương tự với dẫn xuất của nó là lenalidomid [148],[149]

b) Interferon γ

Các interferon là nguyên mẫu cho các cytokin truyền tín hiệu thông qua con đường JAK/STAT (Janus kinase/signal transducers and activators of transcription-đầu dò tín hiệu và chất kích hoạt phiên mã), chúng được chia thành ba nhóm: 1) IFN- α (IFN bạch cầu); 2) IFN- β (IFN nguyên bào xơ) và 3) IFN- γ (IFN miễn dịch). IFN- γ do các tế bào NK, TCD8+ và Th1 CD4 sản xuất. Các tế bào Th1 sản xuất IFN- γ dưới sự kích thích của IL-12, IL-18 [150]. Các tế bào NK sản xuất IFN- γ dưới tác dụng của các cytokin được giải phóng bởi đại thực bào, bao gồm IFN- γ , IL-12 và IL-18. IFN- γ có tác dụng kháng virus nhưng hiệu lực kém hơn các IFN nhóm 1. Vai trò sinh lý chính của IFN- γ là điều hòa các đáp ứng miễn dịch, giúp sinh tổng hợp nhiều protein đóng vai trò thiết yếu trong việc trình diện kháng nguyên tới các tế bào T, bao gồm các glycoprotein của *HLA* lớp I và *HLA* lớp II. Những thay đổi này làm tăng khả năng trình diện kháng nguyên tới các tế bào TCD4+ và TCD8+. IFN- γ cũng cần thiết cho đại thực bào hoàn chỉnh khả năng kháng vi sinh vật [90]. Các tế bào bọt nước của bệnh nhân SJS/TEN bài tiết IFN- γ và kích thích các tế bào keratin bộc lộ TNF- α , FasL và IL-10, chúng có mặt với nồng độ cao trong dịch bọt nước như là cơ chế đề kháng với các lympho T ở da. Mặc dù không truyền tín hiệu CTCT thông qua các thụ thể truyền thống, IFN- γ chỉ huy các hoạt động gây độc bằng cách sinh ra các gốc oxy phản ứng (reactive oxygen species), một cơ chế chia sẻ liên quan tới sự tham gia của IFN- γ trong SJS/TEN cùng với TNF- α và FasL. Hơn nữa, các hiệu ứng CTCT của IFN- γ có thể được giải thích bằng sự điều hòa dịch mã của nó tới nhiều gen có vai trò then chốt trong CTCT, như thụ thể của TNF- α , Fas/FasL, caspase-1, caspase-4 và caspase-8. Ngoài ra, IFN- γ khởi động trình diện kháng nguyên và sau đó kích hoạt miễn dịch qua trung gian tế bào bằng cách điều chỉnh phân tử *HLA* [12].

Nồng độ IFN- γ huyết thanh của nhóm SJS/TEN trong nghiên cứu này cao hơn so với nhóm EM và nhóm HCs, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ và $p < 0,001$, tương ứng (bảng 3.11). Lúc TTTB, nồng độ IFN- γ huyết thanh của nhóm SJS/TEN chỉ còn 0,4 pg/ml, giảm rất nhiều so với lúc nhập viện ($p < 0,001$) (bảng 3.15). Mặt khác, ở nhóm TEN, nồng độ IFN- γ huyết thanh cao hơn rất nhiều so với nhóm SJS ($p < 0,001$) (bảng 3.12). Nồng độ IFN- γ có tương quan với diện tích da bị trợt, hoại tử, bong nước (biểu đồ 3.20). Trong khi đó, các cytokin khác không có sự khác nhau giữa nhóm SJS và nhóm TEN, không tương quan với diện tích thương tổn da. Như vậy, trong SJS/TEN, IFN- γ được các tế bào Th1, tế bào NK sản xuất rất nhiều. Nghiên cứu trước cũng cho thấy trong dịch bong nước của SJS/TEN có nồng độ IFN- γ rất cao, do các tế bào đơn nhân trong dịch bong nước tiết ra [150]. Theo Akkurt, nồng độ IFN- γ huyết thanh của 32 bệnh nhân EM là 12,95 pg/ml, không có sự khác biệt so với nhóm HCs [24]. Nồng độ cao của IFN- γ mà không phải là các cytokin khác phản ánh mô hình miễn dịch ưu thế qua Th1 trong SJS/TEN. Đây có thể là một dấu ấn huyết thanh tốt để đánh giá sự tiến triển, mức độ hoại tử thượng bì của SJS/TEN cũng như chẩn đoán phân biệt SJS/TEN với EM trên lâm sàng.

Ngoài ra, IFN- γ còn là dấu ấn sinh học đánh giá hiệu quả điều trị trong SJS/TEN. Trong nghiên cứu của Hirahara, IFN- γ và TNF- α huyết thanh được đo lường ở 5 bệnh nhân SJS/TEN điều trị bằng methylprednisolon liều pulse. Vào ngày thứ tư sau điều trị, nồng độ trung bình của các cytokin này giảm so với trước điều trị, nhưng sự thay đổi có ý nghĩa chỉ với IFN- γ . Vào ngày thứ 19, sự giảm có ý nghĩa với cả IFN- γ và TNF- α [115]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 32 bệnh nhân SJS/TEN điều trị bằng corticosteroid toàn thân được định lượng các cytokin huyết thanh. Sau điều trị, nồng độ các cytokin

giảm so với trước điều trị nhưng có ý nghĩa nhất là với IFN- γ ($p < 0,001$) (biểu đồ 3.19). Corticosteroid toàn thân có tác dụng làm giảm các cytokin tiền viêm, giúp bệnh nhân SJS/TEN tránh được tử vong. Nồng độ IFN- γ huyết thanh ở nhóm SJS/TEN có sốt cao hơn nhiều so với nhóm không có sốt (50,2 pg/ml so với 7,7 pg/ml, $p < 0,01$) (biểu đồ 3.8). Đây là cytokin có vai trò quan trọng trong nhiễm trùng, nhiễm khuẩn máu và hội chứng đáp ứng viêm hệ thống, bên cạnh vai trò chống virus, đề kháng vi sinh vật [136].

c) *Interleukin-2*

Interleukin-2 được sản xuất chủ yếu bởi tế bào Th1, là 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 các bệnh dị ứng liên quan đến Th2 và các cytokin của nó. 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. IL-2 là cytokin tiềm năng hấp dẫn bạch cầu ưa acid, kích thích tế bào T tăng sản xuất IL-5 nhưng ức chế các tế bào TCD8+ có trí nhớ. Trong khi đó, IL-15 giúp dòng tế bào này tăng sinh, biệt hóa [90].

Nghiên cứu của Akkurt (2014) cho thấy nồng độ IL-2 huyết thanh của nhóm EM (32 bệnh nhân) là 13,65 pg/ml, cao hơn so với nhóm HCs [24]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ IL-2 của nhóm SJS/TEN là 7,6 pg/ml, cao hơn so với nhóm EM (4,8 pg/ml) và HCs (4,2 pg/ml), tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê (bảng 3.11). Như vậy, trong SJS/TEN, nồng độ IL-2 huyết thanh gần như không tăng. Điều này có thể được giải thích là do vai trò nổi bật của IL-15 trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN. IL-15 ngăn cản sự chết tế bào gây ra bởi các hoạt hóa qua trung gian IL-2; giúp cho sự sống còn, hằng định nội môi của các tế bào TCD8+, tế bào NK và tế bào NKT [93]. IL-2 liên quan nhiều hơn tới việc ức chế các tế bào T tự hoạt

hóa. Ở chuột thiếu hụt IL-2 hoặc thụ thể của IL-2 (IL-2R α) dễ mắc các bệnh tự miễn, còn chuột thiếu hụt IL-15 hoặc IL-15R α sẽ bị giảm dòng lympho và suy giảm miễn dịch [90].

4.2.2.2. *Nồng độ các cytokin của Th2 (IL-4, IL-5 và IL-13)*

Interleukin-4 và IL-13 do các tế bào Th2 hoạt hóa sinh ra, chúng có cấu trúc tương đồng nhau khoảng 30% nhưng hoạt tính sinh học khác nhau. Thụ thể đặc hiệu cho IL-4 không gắn IL-13 được tìm thấy ở tế bào T và tế bào NK. Chúng bao gồm IL-4R α (CD124) và γ_c , truyền các tín hiệu thông qua JAK1 và JAK3. Phức hợp thụ thể thứ hai có thể gắn hoặc IL-4 hoặc IL-13 được tìm thấy ở các tế bào keratin, tế bào nội mô và các tế bào không tạo máu khác. Nó bao gồm IL-13 α 1 và IL-4R α , truyền các tín hiệu thông qua JAK1 và JAK2. Các thụ thể này ít được bộc lộ ở các tế bào đang trong trạng thái nghỉ nhưng tăng lên khi có các tín hiệu hoạt hóa [90].

Các hiệu ứng sinh học của IL-4 khi gắn vào các thụ thể khác nhau phụ thuộc loại tế bào đặc hiệu nhưng tác dụng chính là kích thích tăng trưởng và biệt hóa Th2, ức chế Th1 [151]. Sự tiếp xúc của các tế bào T ngây thơ với IL-4 giúp chúng trưởng thành và biệt hóa thành Th2, tới lượt nó, Th2 lại sản xuất nhiều IL-4, kích thích tại chỗ, giúp kéo dài thời gian đáp ứng của Th2. Do đó, sự bộc lộ sớm của IL-4 trong đáp ứng miễn dịch có thể khởi động dòng thác phát triển Th2, gây ưu thế chủ yếu cho đáp ứng Th2. Các tế bào T ngây thơ có thể sản xuất nồng độ thấp IL-4 khi được hoạt hóa. Ngoài ra, IL-4 cũng được sinh ra bởi các tế bào NK [90].

Trong nghiên cứu này, nồng độ IL-4 huyết thanh ở nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM (nhưng $p>0,05$) và nhóm HCs ($p<0,05$) (bảng 3.11); ở nhóm SJS cao hơn so với nhóm TEN (nhưng $p>0,05$) (bảng 3.12). Trong nhóm SJS/TEN, ở giai đoạn sớm (sau khởi phát dưới 6 ngày), nồng độ IL-4 huyết thanh cao hơn so với giai đoạn muộn (sau khởi phát từ 6 ngày trở lên)

(tuy $p > 0,05$) (bảng 3.13). Nồng độ IL-4 lúc nhập viện cao hơn so với lúc TTTB (3 so với 1,1 pg/ml, $p > 0,05$) (bảng 3.15). Nồng độ IL-5 không có sự khác nhau giữa nhóm SJS/TEN so với nhóm EM và HCs (bảng 3.11), giữa nhóm SJS so với nhóm TEN (bảng 3.12). Lúc nhập viện, nhóm SJS/TEN có nồng độ IL-5 là 4,5 pg/ml; lúc TTTB giảm xuống còn 1 pg/ml, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p = 0,01$ (bảng 3.15). Như vậy, khi bệnh cải thiện thì nồng độ IL-5 giảm xuống nhưng vai trò của IL-5 trong SJS/TEN không nổi bật. Ngược lại, IL-5 đóng vai trò chủ chốt trong viêm gián tiếp qua bạch cầu ưa acid vì nó xúc tác cho sự biệt hóa và kéo dài đời sống của bạch cầu này [90].

Nồng độ IL-13 không có sự khác nhau giữa nhóm SJS/TEN và EM (bảng 3.11), giữa nhóm SJS và nhóm TEN (bảng 3.12), giữa lúc nhập viện và lúc TTTB (bảng 3.15). Kết quả của chúng tôi khác với nghiên cứu trước đó. Theo Quaglino và cộng sự, các bệnh nhân SJS/TEN có tăng nồng độ IL-13 huyết thanh còn các bệnh nhân EM thì không tăng [152].

Như vậy, trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ các cytokin có nguồn gốc Th1 (TNF- α , IFN- γ) ở nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM, đặc biệt là lúc nhập viện. Còn khi đã TTTB thì nồng độ của chúng giảm xuống, tương đương hoặc thấp hơn so với nhóm EM. Nồng độ các cytokin có nguồn gốc Th2 (IL-4, IL-5 và IL-13) ở nhóm SJS/TEN không cao hơn so với nhóm EM và không có sự thay đổi rõ rệt theo tiến triển của SJS/TEN trên lâm sàng. Điều này chứng tỏ, về mặt bài tiết cytokin trong SJS/TEN, Th1 đóng vai trò quan trọng hơn Th2. Nhận định này của chúng tôi cũng phù hợp với nghiên cứu trước [150]. Vai trò của Th2 bộc lộ rõ hơn trong các bệnh da khác như viêm da cơ địa, mảnh ghép chống lại vật chủ, phong thể u và Leishmaniasis lan tỏa. Dupilumab là thuốc sinh học có hiệu quả trong điều trị viêm da cơ địa ở người lớn [90]. Cơ chế tác dụng của nó là kháng lại tiểu đơn vị α của thụ thể IL-4, qua đó ức chế IL-4 và IL-13 (vốn có cấu trúc gần giống nhau) [90].

Trong cơn hen cấp trẻ em, nồng độ huyết thanh các cytokin của Th2 tăng, ngược lại, nồng độ TNF- α giảm (so với trẻ khỏe mạnh), chứng tỏ trẻ hen phế quản tăng đáp ứng viêm theo hướng tế bào Th2, giảm đáp ứng theo hướng Th1 [153]. Nghiên cứu của chúng tôi có hạn chế là không sinh thiết da, không đánh giá sự bộc lộ các cytokin trên mẫu sinh thiết. Theo Caproni, dựa trên quan sát hình ảnh hóa mô miễn dịch, trong EM, đáp ứng Th1 chiếm ưu thế; trong SJS/TEN, sự mất cân bằng giữa Th1 và Th2 không có ý nghĩa [91].

4.2.2.3. Nồng độ IL-1 β , IL-6 và IL-8 huyết thanh

Gia đình IL-1 gồm các cytokin như IL-1 α , IL-1 β , IL-18 và các cytokin khác. IL-1 β được sản xuất bởi các tế bào đơn nhân, đại thực bào, tế bào Langerhan, tế bào có tua; IL-1 α do các tế bào biểu mô, bao gồm tế bào keratin sản xuất. IL-1 α được dự trữ trong bào tương, khi tế bào bị tổn thương, IL-1 α 31-kDa có hoạt tính sinh học được giải phóng, gây ra phản ứng viêm. IL-1 β kích thích các tế bào Langerhan di chuyển khỏi thượng bì trong giai đoạn đầu của phản ứng quá mẫn do tiếp xúc, dẫn tới sự xâm nhập của các tế bào Langerhan ở các hạch lympho [90].

Nồng độ IL-1 β của nhóm SJS/TEN trong nghiên cứu này không khác biệt so với nhóm EM nhưng thấp hơn so với nhóm HCs ($p < 0,001$) (bảng 3.11), không có sự khác nhau giữa nhóm SJS so với nhóm TEN (bảng 3.12). Tuy nhiên, nồng độ IL-1 β lúc TTTB giảm, thấp hơn nhiều so với lúc nhập viện ($p < 0,01$) (bảng 3.15). Điều này có thể được giải thích là do IL-1 β được tế bào keratin hoại tử giải phóng ra trong giai đoạn tiến triển của SJS/TEN, tới lúc TTTB, lượng tế bào keratin hoại tử đã bong ra hết. Vai trò của IL-1 β trong SJS/TEN không rõ ràng, vì ở nhóm HCs, nồng độ huyết thanh của cytokin này cao hơn rất nhiều so với nhóm SJS/TEN. Có thể các tế bào keratin bình thường, khỏe mạnh sẽ sản xuất và dự trữ IL-1 β nhiều hơn so với các tế bào keratin bị bệnh, hoại tử.

Interleukin-6 là một cytokin quan trọng trong các bệnh da. Nó được sản xuất bởi tế bào keratin, nguyên bào sợi, tế bào nội mô cũng như tế bào đơn nhân, đại thực bào, lympho B và T. Dưới một số điều kiện nhất định, IL-6 kích thích sự biệt hóa của các tế bào keratin. Trong bệnh vẩy nến có tăng bậc lộ IL-6. Virus HHV8 (human herpesvirus 8) sản xuất ra các chất tương đồng IL-6 liên quan tới cơ chế bệnh sinh của các bệnh liên quan tới HHV-8 như sarcom Kaposi, u lympho ở các khoang cơ thể. IL-6 có hiệu lực kháng viêm, ức chế giải phóng IL-1 và TNF- α từ đại thực bào, điều hòa hoạt động tế bào TCD4+, kích thích sản xuất IL-4 trong quá trình biệt hóa Th2, ức chế biệt hóa Th1. IL-6 cũng là yếu tố biệt hóa tế bào lympho B và sản xuất các globulin miễn dịch [90],[136], đóng vai trò quan trọng trong nhiễm khuẩn huyết, hội chứng đáp ứng viêm hệ thống [136].

Trong nghiên cứu này, nồng độ IL-6 huyết thanh của nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM ($p < 0,001$) nhưng tương đương với nhóm HCs (bảng 3.11); không có sự khác nhau giữa nhóm SJS và nhóm TEN (bảng 3.12). Lúc TTTB, nồng độ IL-6 giảm xuống, thấp hơn nhiều so với lúc nhập viện ($p < 0,001$) và so với nhóm HCs (bảng 3.15). Nghiên cứu của Akkurt cho thấy nồng độ IL-6 ở nhóm EM là 28,29 pg/ml, cao hơn so với nhóm HCs [24]. Nghiên cứu của Hirahara cho thấy nồng độ IL-6 giảm mạnh vào ngày thứ 4 sau điều trị methylprednisolon liều pulse, so với trước điều trị, nhưng vào ngày thứ 19, nồng độ IL-6 bắt đầu tăng lên. Điều này chứng tỏ liều cao corticosteroid toàn thân làm giảm nồng độ IL-6 [115] nhưng khi các tế bào keratin bắt đầu tái sinh, hồi phục, nó sẽ sản xuất IL-6, góp phần giải thích nồng độ cao của IL-6 ở nhóm HCs. Trong nghiên cứu của chúng tôi, tại thời điểm nhập viện, nhóm SJS/TEN chưa dùng corticosteroid toàn thân có nồng độ IL-6 huyết thanh cao hơn nhóm đã dùng. Nồng độ IL-6 huyết thanh còn có thể bị ảnh hưởng bởi tình trạng nhiễm khuẩn. Theo nghiên cứu của Su và cộng sự, ở nhóm SJS/TEN chưa loại trừ nhiễm khuẩn huyết, nồng độ IL-6 là

259,2 pg/ml; sau khi đã loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 131,3 pg/ml. Ở các bệnh nhân SJS/TEN tử vong, nồng độ IL-6 cao hơn so với các bệnh nhân sống sót. Đây cũng là một dấu ấn sinh học có giá trị tiên lượng mức độ nặng và tử vong trong SJS/TEN [3].

Interleukin-8 còn được gọi là chemokin CXCL8 (C-X-C motif chemokine ligand 8) được sản xuất bởi đại thực bào và các tế bào khác như tế bào biểu mô, tế bào nội mô, tế bào cơ trơn đường thở. Nó là yếu tố hấp dẫn bạch cầu đa nhân trung tính và các bạch cầu hạt khác di cư tới ổ viêm. Trong bệnh vảy nến, mật độ dày các bạch cầu đa nhân trung tính ở thượng bì là do nồng độ cao của IL-8. Ngoài ra, IL-8 còn kích thích 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, đồng thời bài tiết IL-8 để hấp dẫn bạch cầu đa nhân trung tính tới ổ viêm [90].

Nồng độ IL-8 huyết thanh lúc nhập viện của nhóm SJS/TEN không khác biệt so với nhóm EM nhưng thấp hơn so với nhóm HCs ($p < 0,001$) (bảng 3.11). Lúc TTTB, nồng độ huyết thanh IL-8 ở nhóm SJS/TEN giảm nhiều, tuy không có ý nghĩa thống kê (bảng 3.15). Nghiên cứu của Akkurt cho thấy nồng độ IL-8 huyết thanh của nhóm EM là 2,05 pg/ml, cao hơn so với nhóm HCs [24]. Có sự khác nhau lớn về nồng độ IL-8 huyết thanh giữa nghiên cứu của chúng tôi và của tác giả này. Tuy nhiên, một nghiên cứu khác về SJS/TEN có kết quả tương đồng với chúng tôi. Nồng độ IL-8 huyết thanh của nhóm SJS/TEN chưa loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 1127,8 pg/ml; sau khi đã loại trừ nhiễm khuẩn huyết là 174,3 pg/ml; ở nhóm bệnh nhân sống sót, nồng độ IL-8 thấp hơn so với nhóm tử vong (64,3 so với 641,6 pg/ml). Tác giả cho rằng IL-8 cũng có giá trị tiên lượng mức độ nặng và tử vong trong SJS/TEN, tuy không bằng IL-15 [3].

4.2.2.4. Nồng độ các cytokin khác (IL-10, GM-CSF, IL-12 và IL-17A)

a) Interleukin-10

Interleukin-10 là một cytokin kháng viêm, được sản xuất bởi Th2, ức chế sự sản xuất cytokin sau khi các tế bào T được hoạt hóa bởi kháng nguyên và các APC. IL-10 tăng cường hoạt động của nó thông qua các thụ thể bề mặt của đại thực bào, tế bào tua, bạch cầu trung tính, tế bào B, tế bào T và tế bào NK. Hiệu ứng của IL-10 trên các APC (tế bào đơn nhân, đại thực bào, tế bào tua) bao gồm ức chế sự bộc lộ của MHC II và các phân tử đồng kích thích, giảm sự sản xuất các cytokin kích thích tế bào T (ví dụ IL-1, IL-6 và IL-12). Nguồn chính sản xuất IL-10 trong da là các tế bào keratin thượng bì. Kích thích từ tia cực tím có thể làm tăng sản xuất IL-10. Sự vắng mặt IL-10 làm tăng phản ứng quá mẫn, dị ứng và kích ứng [90]. Đây cũng là một cytokin kháng viêm có vai trò quan trọng trong nhiễm khuẩn huyết [136].

Nồng độ IL-10 huyết thanh ở nhóm SJS/TEN lúc nhập viện là 8,4 pg/ml, không khác biệt so với nhóm EM và nhóm HCs (bảng 3.11), giữa nhóm SJS và TEN là như nhau (bảng 3.12), không bị ảnh hưởng bởi việc sử dụng corticosteroid trước khi nhập viện (bảng 3.14). Lúc TTTB, nồng độ IL-10 giảm xuống còn 4,9 pg/ml, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) (bảng 3.15). Trong nghiên cứu của Hirahana, nồng độ IL-10 huyết thanh ở các bệnh nhân SJS/TEN vào ngày thứ 4 sau điều trị liều pulse methylprednisolon giảm so với trước điều trị, nhưng vào ngày thứ 19 lại cao hơn so với trước điều trị (các nồng độ dao động từ 20-75 pg/ml) [115]. Nguyên nhân có thể do vào thời gian này, các tế bào keratin tái tạo, tăng cường sản xuất IL-10. Nghiên cứu của Akkurt cho thấy nồng độ IL-10 huyết thanh của nhóm EM thấp hơn so với nhóm HCs [24]. Như vậy, sự thay đổi nồng độ IL-10 ít có ý nghĩa trong chẩn đoán phân biệt SJS/TEN với EM. Nhưng khi nồng độ huyết thanh IL-10 tăng chứng tỏ các tế bào keratin đã được tái tạo, khỏe mạnh trở lại, góp phần đánh giá sự hồi phục của SJS/TEN trên lâm sàng.

b) Interleukin-12

Họ IL-12 bao gồm IL-12, IL-23, IL-27 và IL-35. IL-12 khác với các cytokin khác ở chỗ dạng hoạt hóa của nó có hai protein khác nhau, p35 và p40. IL-12 là sản phẩm của các APC như tế bào tua, tế bào đơn nhân, đại thực bào và các tế bào B nhất định trong đáp ứng với các phức hợp vi khuẩn, GM-CSF và IFN- γ . Ngoài ra, các tế bào keratin hoạt hóa là nguồn bổ sung của IL-12 ở da. Các tế bào keratin người sản xuất tiểu đơn vị p35, sự bộc lộ tiểu đơn vị p40 có thể do kích thích của các yếu tố như dị nguyên tiếp xúc, ester phorbol và tia cực tím [90]. IL-12 điều hòa đáp ứng miễn dịch tự nhiên, thúc đẩy đáp ứng miễn dịch thu được, tăng cường thực bào của các bạch cầu đơn nhân. Do đó, IL-2 kết nối các đáp ứng miễn dịch trong giai đoạn sớm (không đặc hiệu) và giai đoạn sau (đặc hiệu). Khi được giải phóng, IL-12 kích thích các tế bào T và NK sản xuất IFN- γ . Thêm vào đó, IL-12 kích thích các tế bào TCD4⁺ biệt hóa thành Th1, bảo vệ dòng tế bào này không bị CTCT do các kháng nguyên [136],[154].

Nồng độ IL-12 ở nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM ($p < 0,001$) nhưng tương đương nhóm HCs (bảng 3.11), không có sự khác nhau giữa nhóm SJS và TEN (bảng 3.12), không bị ảnh hưởng bởi thời gian từ khi khởi phát tới khi nhập viện (bảng 3.13) cũng như việc đã sử dụng corticosteroid trước đó hay chưa (bảng 3.14). Nhưng tại thời điểm TTTB, nồng độ IL-12 giảm nhiều so với lúc nhập viện, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,01$ (bảng 3.15). Sự thay đổi nồng độ IL-12 phù hợp với đáp ứng miễn dịch trong SJS/TEN, trong đó Th1 chiếm ưu thế. IL-12 có vai trò kích thích và duy trì đáp ứng Th1, kích thích tế bào NK tăng sinh, biệt hóa, gây độc, sản xuất các cytokin như IFN- γ [90]. Quaglino và cộng sự nghiên cứu trên 24 bệnh nhân EM và 7 bệnh nhân SJS/TEN chưa điều trị, định lượng IL-12, sFasL, chemokin điều hòa hoạt động tuyến ức (thymus-and activation-regulated

chemokine, TARC), chemokin có nguồn gốc đại thực bào (macrophage-derived chemokine, MDC) bằng phương pháp ELISA. Kết quả cho thấy, ở nhóm EM và SJS/TEN có nồng độ TARC, IL-12 và sFasL cao hơn so với nhóm HCs [152].

c) *Interleukin-17A*

Interleukin-17, còn gọi là IL-17A là thành viên đầu tiên của gia đình IL-17, các cytokin khác được ký hiệu từ IL-17B tới F, do tế bào Th17 hoạt hóa sản xuất. IL-17A và IL-17F có tác dụng tiền viêm giống nhau, gắn với cùng thụ thể IL-17RA và IL-17RC, hóa ứng động bạch cầu trung tính, sinh ra các peptid kháng khuẩn, chống lại các vi khuẩn và nấm ngoại bào. Đột biến gen *STAT3* liên quan với hội chứng tăng IgE ngăn cản sự phát triển của Th17, dẫn tới các bệnh nhiễm trùng tái phát (tụ cầu vàng, nhiễm nấm *Candida albicans*). Sự phát hiện vai trò của Th17 đã làm thay đổi quan điểm chính thống về luận thuyết Th1/Th2 trong miễn dịch và dường như Th17 khác với các dòng khác của Th. Nhưng nó không tồn tại riêng rẽ mà hoạt động trong cùng bối cảnh với các Th khác, hoặc là nguyên nhân hoặc là kết quả của một quá trình tiếp diễn. Thực tế, tế bào Th17 và các cytokin của nó (IL-17A, IL-17F, IL-21, IL-22) là yếu tố điều hòa quan trọng trong đáp miễn miễn dịch tự nhiên và miễn dịch thu được, trong các bệnh qua trung gian Th1 và/hoặc Th2. IL-17 cũng đóng vai trò quan trọng trong việc khởi động và duy trì các phản ứng tự miễn và sản xuất các cytokin tiền viêm. Sự có mặt của các tế bào bài tiết IL-17 hoặc các cytokin huyết thanh liên quan đến Th17 đã được chứng minh trong nhiều bệnh tự miễn, bệnh viêm như vẩy nến, viêm khớp vẩy nến, bệnh Behcet, pemphigoid bong nước, pemphigus thông thường, xơ cứng bì hệ thống và bạch biến. Ngoài vai trò sản xuất các cytokin tiền viêm, Th17 còn có chức năng bảo vệ cơ thể trước vi khuẩn, nấm do nó có khả năng huy động bạch cầu trung tính và là thành phần của hệ miễn dịch trên các lớp biểu mô bề mặt [90]. Vai trò của

Th17 trong SJS/TEN giống như yếu tố gia tốc, tăng bộc lộ các phân tử kết dính liên bào trên bề mặt các tế bào keratin, tăng gắn các tế bào T với các tế bào keratin, gây độc quanh tế bào T, dẫn tới các tế bào keratin bị CTCT [155]. Hashizume và cộng sự cho thấy Th17 và Treg chiếm ưu thế ở thương tổn da trong SJS/TEN và DIHS. Trục Th17/Treg đóng vai trò quan trọng trong thương tổn da của dị ứng thuốc [155].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, ở nhóm SJS/TEN, nồng độ IL-17A lúc nhập viện là 0,6 pg/ml, không khác biệt so với nhóm EM (0,4 pg/ml), với $p>0,05$; và tương đương với nhóm HCs (bảng 3.11). Lúc TTTB, nồng độ IL-17A tăng lên, cao hơn lúc nhập viện ($p>0,05$) (bảng 3.15). Nói cách khác, sự thay đổi nồng độ IL-17A ở nhóm SJS/TEN trong nghiên cứu này không có ý nghĩa chẩn đoán phân biệt SJS/TEN với EM và theo dõi tiến triển của SJS/TEN. Kết quả của chúng tôi khác với một vài nghiên cứu trước [24],[156]. Theo Morsy, nồng độ IL-17 huyết thanh ở nhóm SJS/TEN (68,19 pg/ml) cao hơn nhóm EM (35,1 pg/ml) với $p=0,001$ và có tương quan với mức độ nặng của SJS/TEN. Các bệnh nhân SJS/TEN này chưa được điều trị bằng corticosteroid trước khi lấy mẫu huyết thanh làm xét nghiệm IL-17 [156]. Theo Teraki, trong SJS/TEN, nồng độ IL-17 huyết thanh tăng, có mối tương quan giữa số lượng TCD4⁺ sản xuất IL-17 trong dịch bọt nước và tỷ lệ diện tích da bị hoại tử, bóc tách thượng bì [157].

Nguyên nhân nồng độ IL-17A huyết thanh thấp trong nghiên cứu của chúng tôi có thể là do trong SJS/TEN, sự hoạt động của Treg tăng lên, còn Th17 giảm xuống. Các tế bào Th17 có thể thay đổi phenotype và trở thành các tế bào Treg. Do đó, có những trường hợp SJS/TEN với Th17 giảm trong khi Treg tăng [66]. Ngoài ra, sự xâm nhập viêm ở da của Th17 thường xảy ra muộn, sau khởi phát dị ứng thuốc 12-21 ngày. Đầu tiên chúng xuất hiện ở máu ngoại vi, sau đó di chuyển tới da, đạt đỉnh cao vào ngày thứ 21 rồi giảm dần [158]. Điều này góp phần giải thích sự tăng nồng độ IL-17A lúc TTTB so

với lúc nhập viện, dù sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu này có một số hạn chế như không xét nghiệm các cytokin khác do Th17 sản xuất (IL-21 và IL-22), các mẫu huyết thanh được thu thập thuận tiện, không loại trừ những bệnh nhân đã điều trị corticosteroid trước đó, không khảo sát mật độ Th17 trong da bệnh nhân SJS/TEN bằng hóa mô miễn dịch.

Theo Akkurt và cộng sự, nồng độ IL-17A huyết thanh của nhóm EM (thể nặng và thể nhẹ) là 49,9 pg/ml, của nhóm HCs là 42,7 pg/ml. Khi nhuộm hóa mô miễn dịch, các tế bào trung bì bắt màu của IL-17 được quan sát thấy ở tất cả các mẫu [24]. EM là bệnh có sự xâm nhập viêm cấp tính của các bạch cầu đơn nhân, tế bào lympho. Số lượng TCD8⁺ xâm nhập ưu thế ở thượng bì, trong khi số lượng TCD4⁺ ưu thế ở trung bì. Ngoài ra còn có tăng số lượng tế bào Langerhan. Sự vận hành của các tế bào T tự hoạt hóa hướng thượng bì đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của EM. Yếu tố kích thích trong quá trình này là các mảnh vỡ DNA của virus herpes (HSV-DNA) ở da. Protein và DNA của virus được các đại thực bào ở vị trí thương tổn HSV tiêu hóa, tạo ra các mảnh vỡ, trình diện kháng nguyên cho các tế bào T trí nhớ [24].

d) *GM-CSF*

Yếu tố kích thích dòng tế bào hạt, đại thực bào, GM-CSF, là các cytokin được sản xuất từ các tế bào tủy và tế bào mô đệm cần thiết cho quá trình sinh trưởng của các tế bào gốc tạo máu, bạch cầu trung tính và đại thực bào [90], [153]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ GM-CSF huyết thanh ở nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM ($p < 0,05$) nhưng tương đương với nhóm HCs (bảng 3.11), không có sự khác nhau giữa nhóm SJS và nhóm TEN (bảng 3.12), không bị ảnh hưởng bởi việc dùng corticosteroid trước khi nhập viện (bảng 3.14). Sau khi TTTB, nồng độ GM-CSF giảm xuống còn 3,6 pg/ml, sự thay đổi có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$ (bảng 3.15). Vai trò điều hòa miễn dịch và tái tạo sinh học của G-CSF (yếu tố tăng sinh tế bào hạt) được sử dụng trong điều trị SJS/TEN. Liệu pháp này giúp ngừng hiện tượng quá mẫn, kích thích TTTB, kiểm soát tình trạng hạ bạch cầu trung tính [8],[26],[159], [160],[161].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi chỉ đo nồng độ các cytokin trong huyết thanh. Một số nghiên cứu khác đo nồng độ các cytokin trong dịch bọt nước của bệnh nhân SJS/TEN. Nassif so sánh nồng độ các cytokin trong dịch bọt nước SJS/TEN so với dịch bọt nước bệnh nhân bị bỏng. Kết quả cho thấy nồng độ IL-18 tăng cao trong dịch bọt nước SJS/TEN, các cytokin khác cũng tăng nhưng mức độ ít hơn, ví dụ IFN- γ , TNF- α hòa tan, IL-10. Còn nồng độ IL-2, IL-5, IL-12 và IL-15 không tăng [150]. Trong cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN, yếu tố then chốt là các tế bào gây độc TCD8⁺ [10], chúng bài tiết và giải phóng IFN- γ , gây hoạt hóa các tế bào keratin, làm bộc lộ phân tử MHC lớp I. Tới lượt mình, các tế bào keratin cũng giải phóng TNF- α , FasL hòa tan, như là cơ chế đề phòng sự xâm nhập của các CTL [150]. Điều này góp phần giải thích vì sao trên hình ảnh mô bệnh học của SJS/TEN, sự xâm nhập của các tế bào viêm không nhiều nhưng vẫn giải phóng ra lượng lớn các cytokin [33],[150].

Trong SJS/TEN, nồng độ một số cytokin có tương quan chặt chẽ với nhau, thể hiện cơ chế cùng được giải phóng và kích thích sự sản xuất lẫn nhau. Trong số 13 cytokin được khảo sát, chỉ có nồng độ IFN- γ có mối tương quan (tuy không chặt chẽ) với nồng độ granulysin huyết thanh (biểu đồ 3.16). Điều này có thể được giải thích là do cả IFN- γ và granulysin trong SJS/TEN đều do các tế bào TCD8⁺, tế bào NK [9],[70],[150] sản xuất khi có sự kích thích của phức hợp thuốc-hapten-*HLA* lên thụ thể của TCD8⁺ [7], [12], [71]. Granulysin sẽ tác dụng trực tiếp lên các tế bào keratin gây CTCT các tế bào này [9], còn IFN- γ kích thích các tế bào keratin bộc lộ phân tử MHC lớp I cũng như sản xuất các cytokin, phân tử khác như TNF- α , FasL hòa tan [150]. Nói cách khác, sự hoạt hóa các tế bào keratin bởi IFN- γ là bước quan trọng làm cho các tế bào này nhạy cảm với sự ly giải bởi các tế bào lympho [162].

Trong nghiên cứu này, chỉ có nồng độ IFN- γ huyết thanh có tương quan đồng biến với diện tích thương tổn da (biểu đồ 3.20). Nồng độ huyết thanh granulysin và các cytokin không tương quan với điểm SCORTEN 6 tiêu chí. Các bệnh nhân SJS có điểm SCORTEN chủ yếu là 1 (do yếu tố tuổi), các bệnh nhân TEN có điểm SCORTEN chủ yếu là 2 (do yếu tố tuổi và diện tích thương tổn da) (bảng 3.5). Phải chăng điểm SCORTEN chưa phản ánh đúng mức độ nặng của các bệnh nhân SJS/TEN người Việt Nam, mà chủ yếu có vai trò tiên lượng tỷ lệ tử vong. Ở nước ta, có một nghiên cứu áp dụng thang điểm SCORTEN trong tiên lượng bệnh nhân SJS/TEN do dị ứng thuốc. Tác giả kết luận rằng điểm SCORTEN càng cao nguy cơ tử vong càng lớn [112]. Tuy dùng điểm SCORTEN 6 tiêu chí nhưng điểm trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đương với điểm SCORTEN trung bình của tác giả này. Để đánh giá mức độ nặng của SJS/TEN nên dựa vào các đặc điểm lâm sàng khác như thương tổn gan, thận, viêm phế quản phổi, nhiễm khuẩn huyết, hạ bạch cầu, tình trạng dinh dưỡng, rối loạn nước-điện giải.

Vai trò của một số cytokin có thể đóng góp vào việc xây dựng các phương pháp chẩn đoán thuốc gây dị ứng trên lâm sàng, ví dụ thử nghiệm ELISpot (enzyme-linked immunospot). Thuốc làm lympho bào sản xuất cytokin và các chất trung gian hóa học khác, sử dụng ELISA và ELISpot hoặc huỳnh quang nội bào (intracellular fluorescence) giúp đo lường chúng. Các phương pháp này có ưu điểm là thời gian cho kết quả nhanh, không sử dụng chất phóng xạ. Hơn nữa, nó không phụ thuộc vào sự biệt hóa lympho bào. Tuy nhiên, các xét nghiệm này phức tạp về mặt kỹ thuật và đòi hỏi nhiều dụng cụ [8].

Các nghiên cứu đã công bố đề xuất vai trò của các xét nghiệm phối hợp IFN- γ , IL-2, IL-4, IL-5, IL-13, IL-17, granzym B, sFasL, granulysin và các chất khác trong khảo sát quá mẫn thuốc trên *in vitro* [49],[163]. Polak xét

nghiệm ELISpot IFN- γ thuốc tại thời điểm 19 ± 11 ngày sau khởi phát cho tỷ lệ phát hiện thuốc gây dị ứng là 78% (7/9) ở các bệnh nhân EM/SJS/TEN. ELISpot IL4 có độ nhạy thấp hơn, tỷ lệ phát hiện chỉ 50% (4/8 trường hợp) [49]. Trong một nghiên cứu khác, 100% mẫu có ELISpot IFN- γ dương tính tại thời điểm 12 ± 3 tháng và 67% (6/9) có sự sản xuất sFasL do thuốc [163]. Phát hiện IFN- γ sinh ra do thuốc cũng được chứng minh trong một nghiên cứu gần đây trên 15 bệnh nhân SJS/TEN. Trong các bệnh nhân này, nồng độ granzym B và IL-5 được giải phóng do các tế bào lympho tiếp xúc với thuốc cao hơn một cách có ý nghĩa so với nhóm chứng [48].

Trong nghiên cứu này, chúng tôi đã phân tích một số yếu tố gen (*HLA-B*), các cytokin, protein gây độc (granulysin) liên quan tới cơ chế bệnh sinh của SJS/TEN. Một số cytokin có vai trò góp phần chẩn đoán phân biệt SJS/TEN với EM trong giai đoạn sớm (granulysin, IFN- γ , TNF- α , IL-6, IL-12, GM-CSF), đồng thời là các dấu ấn sinh học đánh giá sự hồi phục sau điều trị của bệnh nhân SJS/TEN. Để phòng SJS/TEN do thuốc xảy ra, vấn đề sử dụng thuốc an toàn, hợp lý và sàng lọc các *HLA-B* đặc hiệu với thuốc trước khi chỉ định là rất quan trọng.

KẾT LUẬN

1. Xác định một số gen (allele *HLA-B*) liên quan đến hội chứng SJS/TEN ở người Việt Nam

- Trong nhóm SJS/TEN, độ tuổi thường gặp nhất là trên 50, tuổi trung bình là 49,8; các thuốc gây dị ứng phổ biến nhất là thuốc đông y, carbamazepin và allopurinol.

- Allele *HLA-B*15:02* gặp ở 25/60 bệnh nhân SJS/TEN, trong đó, nguyên nhân chủ yếu là carbamazepin (13/25 bệnh nhân). Allele *HLA-B*58:01* gặp ở 15/60 bệnh nhân SJS/TEN, trong đó chủ yếu do allopurinol (13/15 bệnh nhân). Ở nhóm SJS/TEN do thuốc đông y, allele *HLA-B*51:02* có thể đóng vai trò quan trọng. Xác định genotype *HLA-B* có thể gợi ý các thuốc có nguy cơ cao gây SJS/TEN.

2. Định lượng granulysin và 13 cytokin huyết thanh trong hội chứng SJS/TEN

2.1. Granulysin

- Nồng độ granulysin huyết thanh ở nhóm SJS/TEN cao hơn nhóm EM và HCs. Đây có thể là một dấu ấn sinh học góp phần chẩn đoán phân biệt SJS/TEN với EM.

- Sau khởi phát của SJS/TEN, nồng độ granulysin huyết thanh không tương quan với mức độ và tiến triển của bệnh.

2.2. Các cytokin

- Trong SJS/TEN, nồng độ huyết thanh các cytokin của Th1 tăng, trong khi đó, các cytokin của Th2 và Th17 không tăng (so với nhóm EM).

- Nồng độ IFN- γ , TNF- α và IL-4 huyết thanh ở nhóm SJS/TEN cao hơn so với nhóm EM và HCs.

- Nồng độ IL-1, IL-6, IL-8 và IL-12 huyết thanh ở nhóm SJS/TEN thấp hơn so với nhóm HCs nhưng tương đương với nhóm EM.

- Nồng độ GM-CSF, IL-2, IL-5, IL-10, IL-13 và IL-17 huyết thanh ở nhóm SJS/TEN tương đương với nhóm HCs nhưng cao hơn so với nhóm EM.
- Tại thời điểm TTTB, nồng độ GM-CSF, IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-5, IL-6 và IL-12 huyết thanh giảm so với lúc nhập viện.
- Nồng độ IFN- γ huyết thanh có tương quan với diện tích thương tổn da, thay đổi rõ rệt trước và sau điều trị. Đây là dấu ấn sinh học tốt để theo dõi, đánh giá mức độ bệnh và đáp ứng điều trị trong SJS/TEN.

KIẾN NGHỊ

1. Nên xác định allele *HLA-B* trước khi chỉ định một số thuốc có khả năng cao gây SJS/TEN nói riêng và SCARs nói chung. Ví dụ *HLA-B*15:02* cho carbamazepin, *HLA-B*58:01* cho allopurinol.

2. Hướng tới điều trị đích, theo cơ chế phân tử cho các bệnh nhân SJS/TEN dựa trên sự thay đổi có ý nghĩa nồng độ huyết thanh một số cytokin (TNF- α , IFN- γ). Đồng thời phát triển, áp dụng các kỹ thuật xét nghiệm chẩn đoán thuốc gây dị ứng trên cơ sở các cytokin đặc hiệu, ví dụ xét nghiệm ELISpot IFN- γ . Nên sử dụng xét nghiệm granulysin huyết thanh để chẩn đoán sớm SJS/TEN.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bastuji-Garin S., Rzany B., Stern R.S., et al. (1993). Clinical classification of cases of toxic epidermal necrolysis, Stevens-Johnson syndrome, and erythema multiforme. *Arch Dermatol*, **129**(1), 92–96.
2. Schwartz R.A., McDonough P.H., and Lee B.W. (2013). Toxic epidermal necrolysis: Part I. Introduction, history, classification, clinical features, systemic manifestations, etiology, and immunopathogenesis. *J Am Acad Dermatol*, **69**(2), 173.e1–13; quiz 185–186.
3. Su S.C., Mockenhaupt M., Wolkenstein P., et al. (2017). Interleukin-15 Is Associated with Severity and Mortality in Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis. *J Invest Dermatol*, **137**(5), 1065–1073.
4. Wolkenstein P., Latarjet J., Roujeau J.C., et al. (1998). Randomised comparison of thalidomide versus placebo in toxic epidermal necrolysis. *Lancet Lond Engl*, **352**(9140), 1586–1589.
5. Rzany B., Mockenhaupt M., Baur S., et al. (1996). Epidemiology of erythema exsudativum multiforme majus, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis in Germany (1990-1992): structure and results of a population-based registry. *J Clin Epidemiol*, **49**(7), 769–773.
6. Sassolas B., Haddad C., and Mockenhaupt M. (2010). ALDEN, an algorithm for assessment of drug causality in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: comparison with case-control analysis. *Clin Pharmacol Ther*, **88**(01), 60–68.
7. Chung W.H., Wang C.W., and Dao R.L. (2016). Severe cutaneous adverse drug reactions. *J Dermatol*, **43**(7), 758–766.
8. Creamer D., Walsh S.A., Dziewulski P., et al. (2016). U.K. guidelines for the management of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis in adults 2016. *Br J Dermatol*, **174**(6), 1194–1227.

9. Chung W.H., Hung S.I., Yang J.Y., et al. (2008). Granulysin is a key mediator for disseminated keratinocyte death in Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Nat Med*, **14**(12), 1343–1350.
10. Nassif A., Bensussan A., Dorothée G., et al. (2002). Drug specific cytotoxic T-cells in the skin lesions of a patient with toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, **118**(4), 728–733.
11. Nassif A., Bensussan A., Boumsell L., et al. (2004). Toxic epidermal necrolysis: effector cells are drug-specific cytotoxic T cells. *J Allergy Clin Immunol*, **114**(5), 1209–1215.
12. Su S.C. and Chung W.H. (2014). Cytotoxic proteins and therapeutic targets in severe cutaneous adverse reactions. *Toxins*, **6**(1), 194–210.
13. Downey A., Jackson C., Harun N., et al. (2012). Toxic epidermal necrolysis: review of pathogenesis and management. *J Am Acad Dermatol*, **66**(6), 995–1003.
14. Viard-Leveugle I., Gaide O., Jankovic D., et al. (2013). TNF- α and IFN- γ are potential inducers of Fas-mediated keratinocyte apoptosis through activation of inducible nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, **133**(2), 489–498.
15. Abe R., Shimizu T., Shibaki A., et al. (2003). Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome are induced by soluble Fas ligand. *Am J Pathol*, **162**(5), 1515–1520.
16. Posadas S.J., Padial A., Torres M.J., et al. (2002). Delayed reactions to drugs show levels of perforin, granzyme B, and Fas-L to be related to disease severity. *J Allergy Clin Immunol*, **109**(1), 155–161.
17. Fricke-Galindo I., LLerena A., and López-López M. (2017). An update on HLA alleles associated with adverse drug reactions. *Drug Metab Pers Ther*, **32**(2), 73–87.

18. Man C.B.L., Kwan P., Baum L., et al. (2007). Association between HLA-B*1502 allele and antiepileptic drug-induced cutaneous reactions in Han Chinese. *Epilepsia*, **48**(5), 1015–1018.
19. Hung S.I., Chung W.H., Liou L.B., et al. (2005). HLA-B*5801 allele as a genetic marker for severe cutaneous adverse reactions caused by allopurinol. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **102**(11), 4134–4139.
20. Đỗ Thị Quỳnh Nga, Trần Thị Hải Âu, Vũ Thị Kim Liên và cộng sự (2015). Khảo sát liên quan giữa *HLA-B*58:01* và nguy cơ mắc các phản ứng dị ứng nặng do điều trị allopurinol tại Bệnh viện Bạch Mai, Hà Nội. *Tạp chí y học dự phòng*, **8**(168), 396.
21. Nguyen D.V., Chu H.C., Nguyen D.V., et al. (2015). HLA-B*1502 and carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions in Vietnamese. *Asia Pac Allergy*, **5**(2), 68–77.
22. Lương Đức Dũng (2014). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, mô bệnh học và hoá mô miễn dịch ở bệnh nhân dị ứng thuốc có hội chứng Stevens-Johnson và Lyell*, Luận án Tiến sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
23. Lương Đức Dũng, Hoàng Thị Lâm, Nguyễn Văn Đoàn (2014). Đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng của hội chứng Stevens-Johnson và Lyell do dị ứng thuốc. *Tạp chí Nghiên cứu y học*, **86**(1), 15-21.
24. Akkurt Z.M., Uçmak D., Türkcü G., et al. (2014). Expression of interleukin-17 in lesions of erythema multiforme may indicate a role for T helper 17 cells. *Cent-Eur J Immunol*, **39**(3), 370–376.
25. Wang C.W., Yang L.Y., Chen C.B., et al. (2018). Randomized, controlled trial of TNF- α antagonist in CTL-mediated severe cutaneous adverse reactions. *J Clin Invest*, **128**(3), 985–996.

26. Mahajan R. and Kanwar A.J. (2013). Use of granulocyte colony-stimulating factor in the treatment of toxic epidermal necrolysis-experience with 3 patients. *Skinmed*, **11**(5), 269–271.
27. Nguyễn Thị Hà Vinh (2011). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và kết quả điều trị hội chứng Lyell tại Bệnh viện Da liễu Trung ương*, Luận văn tốt nghiệp Bác sỹ đa khoa, Trường Đại học Y Hà Nội.
28. Auquier-Dunant A., Mockenhaupt M., and Naldi L. (2002). Correlations between clinical patterns and causes of erythema multiforme major, Stevens-Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis: result of an international prospective study. *Arch Dermatol*, **138**, 1019–24.
29. Assier H., Bastuji-Garin S., Revuz J., et al. (1995). Erythema multiforme with mucous membrane involvement and Stevens-Johnson syndrome are clinically different disorders with distinct causes. *Arch Dermatol*, **131**(5), 539–543.
30. Vujic I., Shroff A., and Grzelka M (2015). *Mycoplasma pneumoniae*-associated mucositis-case report and systemic review of literature. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, **29**(3), 595–8.
31. Abe R., Yoshioka N., Murata J., et al. (2009). Granulysin as a marker for early diagnosis of the Stevens-Johnson syndrome. *Ann Intern Med*, **151**(7), 514–515.
32. Revuz J., Penso D., Roujeau J.C., et al. (1987). Toxic epidermal necrolysis. Clinical findings and prognosis factors in 87 patients. *Arch Dermatol*, **123**(9), 1160–1165.
33. Rzany B., Hering O., Mockenhaupt M., et al. (1996). Histopathological and epidemiological characteristics of patients with erythema exudativum multiforme major, Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol*, **135**(1), 6–11.

34. Breathnach S.M (2010). Erythema Multiforme, Stevens–Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis. *Rook's Textbook of Dermatology*, Volume 1, Eighth Edition, 1, 1-22.
35. Phạm Thị Hoàng Bích Diu (2005). *Đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học của một số thể dị ứng thuốc có bong nước tại khoa Dị ứng-Miễn dịch lâm sàng, Bệnh viện Bạch Mai (2004-2005)*, Luận văn Thạc sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
36. Paquet P., Piérard G.E., and Quatresooz P. (2005). Novel treatments for drug-induced toxic epidermal necrolysis (Lyell's syndrome). *Int Arch Allergy Immunol*, **136**(3), 205–216.
37. Orime M. (2017). Immunohistopathological Findings of Severe Cutaneous Adverse Drug Reactions. *J Immunol Res*, **2017**, 6928363.
38. Quinn A.M., Brown K., Bonish B.K., et al. (2005). Uncovering histologic criteria with prognostic significance in toxic epidermal necrolysis. *Arch Dermatol*, **141**(6), 683–687.
39. Wolkenstein P., Chosidow O., and Flechet M.L (1996). Patch testing in severe cutaneous adverse drug reactions, including Stevesn-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Contact Dermatitis*, **35**, 234–6.
40. Lin Y.T., Chang Y.C., Hui R.C.Y., et al. (2013). A patch testing and cross-sensitivity study of carbamazepine-induced severe cutaneous adverse drug reactions. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*, **27**(3), 356–364.
41. Barbaud A., Collet E., Milpied B., et al. (2013). A multicentre study to determine the value and safety of drug patch tests for the three main classes of severe cutaneous adverse drug reactions. *Br J Dermatol*, **168**(3), 555–562.

42. Neukomm C.B., Yawalkar N., Helbling A., et al. (2001). T-cell reactions to drugs in distinct clinical manifestations of drug allergy. *J Investig Allergol Clin Immunol*, **11**(4), 275–284.
43. Hari Y., Frutig-Schnyder K., and Hurni (2001). T cell involvement in cutaneous drug eruptions. *Clin Exp Allergy*, **31**(9), 1398–408.
44. Kano Y., Hirahara K., and Mitsuyama Y (2007). Utility of the lymphocyte transformation test in the diagnosis of drug sensitivity: dependence on its timing and the type of drug eruption. *Allergy*, **62**(12), 1439–44.
45. Tang Y.H., Mockenhaupt M., Henry A., et al. (2012). Poor relevance of a lymphocyte proliferation assay in lamotrigine-induced Stevens-Johnson syndrome or toxic epidermal necrolysis. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*, **42**(2), 248–254.
46. Roujeau J.C., Albengres E., Moritz S., et al. (1985). Lymphocyte transformation test in drug-induced toxic epidermal necrolysis. *Int Arch Allergy Appl Immunol*, **78**(1), 22–24.
47. Nyfeler B. and Pichler W.J (1997). The lymphocyte transformation test for the diagnosis of drug allergy: sensitivity and specificity. *Clin Exp Allergy*, **27**, 175–81.
48. Porebski G., Pecaric-Petkovic T., Groux-Keller M., et al. (2013). In vitro drug causality assessment in Stevens-Johnson syndrome - alternatives for lymphocyte transformation test. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*, **43**(9), 1027–1037.
49. Polak M.E., Belgi G., McGuire C., et al. (2013). In vitro diagnostic assays are effective during the acute phase of delayed-type drug hypersensitivity reactions. *Br J Dermatol*, **168**(3), 539–549.

50. Valeyrie-Allanore L., Mockenhaupt M., and Sekula P (2014). Mechanisms that limit proliferative potential of drug-specific LTT in drug-induced severe cutaneous adverse drug reaction patients. *Clin Transl Allergy*, **4**, 1.
51. Bastuji-Garin S., Fouchard N., Bertocchi M., et al. (2000). SCORTEN: a severity-of-illness score for toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, **115**(2), 149–153.
52. Guegan S., Bastuji-Garin S., and Poszepczynska-Guigné E (2006). Performance of the SCORTEN during the first five days of hospitalization to predict the prognosis of epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, **126**, 272–6.
53. Su J.R., Haber P., Ng C.S., et al. (2020). Erythema multiforme, Stevens Johnson syndrome, and toxic epidermal necrolysis reported after vaccination, 1999-2017. *Vaccine*, **38**(7), 1746–1752.
54. Sah R., Neupane S., Khadka S., et al. (2019). A Case Study of Stevens-Johnson Syndrome-Toxic Epidermal Necrolysis (SJS-TEN) Overlap in Mycoplasma pneumoniae-Associated Tracheobronchitis. *Case Rep Infect Dis*, **2019**, 5471765.
55. Grieb G., Alazemi M., Das R., et al. (2010). A rare case of toxic epidermal necrolysis with unexpected Fever resulting from dengue virus. *Case Rep Dermatol*, **2**(3), 189–194.
56. Tagajdid M.R., Doblali T., Elannaz H., et al. (2013). Reactivation of cytomegalovirus in a patient with stevens-johnson syndrome-toxic epidermal necrolysis. *Iran J Med Sci*, **38**(2 Suppl), 195–197.
57. Chung W.H., Shih S.R., Chang C.F., et al. (2013). Clinicopathologic analysis of coxsackievirus a6 new variant induced widespread mucocutaneous bullous reactions mimicking severe cutaneous adverse reactions. *J Infect Dis*, **208**(12), 1968–1978.

58. Yoshikawa T., Fujita A., Yagami A., et al. (2006). Human herpesvirus 6 reactivation and inflammatory cytokine production in patients with drug-induced hypersensitivity syndrome. *J Clin Virol Off Publ Pan Am Soc Clin Virol*, **37 Suppl 1**, S92-96.
59. Saka B., Barro-Traoré F., Atadokpédé F.A., et al. (2013). Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in sub-Saharan Africa: a multicentric study in four countries. *Int J Dermatol*, **52(5)**, 575–579.
60. Saito N., Qiao H., Yanagi T., et al. (2014). An annexin A1-FPR1 interaction contributes to necroptosis of keratinocytes in severe cutaneous adverse drug reactions. *Sci Transl Med*, **6(245)**, 245ra95.
61. Caproni M., Torchia D., Schincaglia E., et al. (2006). The CD40/CD40 ligand system is expressed in the cutaneous lesions of erythema multiforme and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis spectrum. *Br J Dermatol*, **154(2)**, 319–324.
62. Caproni M., Antiga E., Parodi A., et al. (2006). Elevated circulating CD40 ligand in patients with erythema multiforme and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis spectrum. *Br J Dermatol*, **154(5)**, 1006–1007.
63. Paquet P., Paquet F., Al Saleh W., et al. (2000). Immunoregulatory effector cells in drug-induced toxic epidermal necrolysis. *Am J Dermatopathol*, **22(5)**, 413–417.
64. Tohyama M. and Hashimoto K. (2012). Immunological mechanisms of epidermal damage in toxic epidermal necrolysis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, **12(4)**, 376–382.
65. Saito N., Yoshioka N., Abe R., et al. (2013). Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis mouse model generated by using PBMCs and the skin of patients. *J Allergy Clin Immunol*, **131(2)**, 434-441.e1–9.

66. Kinoshita Y. and Saeki H. (2016). A Review of the Pathogenesis of Toxic Epidermal Necrolysis. *J Nippon Med Sch Nippon Ika Daigaku Zasshi*, **83(6)**, 216–222.
67. Pichler W.J., Naisbitt D.J., and Park B.K. (2011). Immune pathomechanism of drug hypersensitivity reactions. *J Allergy Clin Immunol*, **127(3 Suppl)**, S74-81.
68. Castrejon J.L., Berry N., El-Ghaiesh S., et al. (2010). Stimulation of human T cells with sulfonamides and sulfonamide metabolites. *J Allergy Clin Immunol*, **125(2)**, 411-418.e4.
69. Chessman D., Kostenko L., Lethborg T., et al. (2008). Human leukocyte antigen class I-restricted activation of CD8+ T cells provides the immunogenetic basis of a systemic drug hypersensitivity. *Immunity*, **28(6)**, 822–832.
70. Krensky A.M. and Clayberger C. (2009). Biology and clinical relevance of granulysin. *Tissue Antigens*, **73(3)**, 193–198.
71. Chung W.H. and Hung S.I. (2010). Genetic markers and danger signals in stevens-johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Allergol Int Off J Jpn Soc Allergol*, **59(4)**, 325–332.
72. Fujita Y., Yoshioka N., Abe R., et al. (2011). Rapid immunochromatographic test for serum granulysin is useful for the prediction of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol*, **65(1)**, 65–68.
73. Siegel R.M. and Fleisher T.A. (1999). The role of Fas and related death receptors in autoimmune and other disease states. *J Allergy Clin Immunol*, **103(5 Pt 1)**, 729–738.
74. Viard-Leveugle I., Gaide O., Jankovic D., et al. (2013). TNF- α and IFN- γ are potential inducers of Fas-mediated keratinocyte apoptosis through activation of inducible nitric oxide synthase in toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, **133(2)**, 489–498.

75. Murata J., Abe R., and Shimizu H. (2008). Increased soluble Fas ligand levels in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis preceding skin detachment. *J Allergy Clin Immunol*, **122**(5), 992–1000.
76. Verneuil L., Leboeuf C., Vidal J.S., et al. (2011). Endothelial damage in all types of T-lymphocyte-mediated drug-induced eruptions. *Arch Dermatol*, **147**(5), 579–584.
77. Verneuil L., Ratajczak P., Allabert C., et al. (2009). Endothelial cell apoptosis in severe drug-induced bullous eruptions. *Br J Dermatol*, **161**(6), 1371–1375.
78. Hiebert P.R. and Granville D.J. (2012). Granzyme B in injury, inflammation, and repair. *Trends Mol Med*, **18**(12), 732–741.
79. Weinlich R., Oberst A., Beere H.M., et al. (2017). Necroptosis in development, inflammation and disease. *Nat Rev Mol Cell Biol*, **18**(2), 127–136.
80. Perretti M. and D’Acquisto F. (2009). Annexin A1 and glucocorticosteroids as effectors of the resolution of inflammation. *Nat Rev Immunol*, **9**(1), 62–70.
81. Bộ Y tế (2011). *Sinh lý bệnh và miễn dịch (phần miễn dịch)*, Nhà xuất bản Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
82. Dunn P.P.J. (2011). Human leucocyte antigen typing: techniques and technology, a critical appraisal. *Int J Immunogenet*, **38**(6), 463–473.
83. Guarene M., Badulli C., Cremaschi A.L., et al. (2018). Luminex® xMAP® technology is an effective strategy for high-definition human leukocyte antigen typing of cord blood units prior to listing. *Int J Artif Organs*, **41**(5), 284–288.
84. Chung W.H., Hung S.I., Hong H.S., et al. (2004). Medical genetics: a marker for Stevens-Johnson syndrome. *Nature*, **428**(6982), 486.

85. Mounzer K., Hsu R., Fusco J.S., et al. (2019). HLA-B*57:01 screening and hypersensitivity reaction to abacavir between 1999 and 2016 in the OPERA® observational database: a cohort study. *AIDS Res Ther*, **16**(1), 1.
86. Phillips E.J., Sukasem C., Whirl-Carrillo M., et al. (2018). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for HLA Genotype and Use of Carbamazepine and Oxcarbazepine: 2017 Update. *Clin Pharmacol Ther*, **103**(4), 574–581.
87. Kaniwa N., Saito Y., Aihara M., et al. (2010). HLA-B*1511 is a risk factor for carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in Japanese patients. *Epilepsia*, **51**(12), 2461–2465.
88. Yang C.W.O., Hung S.I., Juo C.G., et al. (2007). HLA-B*1502-bound peptides: implications for the pathogenesis of carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome. *J Allergy Clin Immunol*, **120**(4), 870–877.
89. Chung W.H., Chang W.C., Lee Y.S., et al. (2014). Genetic variants associated with phenytoin-related severe cutaneous adverse reactions. *JAMA*, **312**(5), 525–534.
90. Ho A.W. and Kupper T.S. (2019). Soluble mediators of the cutaneous immune system. *Fitzpatrick's Dermatology*, 9th edition, McGraw Hill Education, p. 159-192.
91. Caproni M., Torchia D., Schincaglia E., et al. (2006). Expression of cytokines and chemokine receptors in the cutaneous lesions of erythema multiforme and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol*, **155**(4), 722–728.
92. Wang F., Ye Y., Luo Z.Y., et al. (2018). Diverse expression of TNF- α and CCL27 in serum and blister of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *Clin Transl Allergy*, **8**, 12.
93. Stern R.S. and Divito S.J. (2017). Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis: Associations, Outcomes, and Pathobiology-Thirty Years of Progress but Still Much to Be Done. *J Invest Dermatol*, **137**(5), 1004–1008.

94. Hoa B.K., Hang N.T.L., Kashiwase K., et al. (2008). HLA-A, -B, -C, -DRB1 and -DQB1 alleles and haplotypes in the Kinh population in Vietnam. *Tissue Antigens*, **71**(2), 127–134.
95. Itoh Y., Mizuki N., Shimada T., et al. (2005). High-throughput DNA typing of HLA-A, -B, -C, and -DRB1 loci by a PCR-SSOP-Luminex method in the Japanese population. *Immunogenetics*, **57**(10), 717–729.
96. Đỗ Khắc Đại, Nguyễn Đăng Dũng, Nguyễn Ngọc Tuấn và cs (2017). Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật hấp phụ miễn dịch vi hạt đánh dấu huỳnh quang trong phát hiện đồng thời nhiều cytokine. *Tạp chí Y-dược học Quân Sự*, **3**, 17–23.
97. Gueudry J., Roujeau J.C., Binaghi M., et al. (2009). Risk factors for the development of ocular complications of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Arch Dermatol*, **145**(2), 157–162.
98. Zajicek R., Pintar D., Broz L., et al. (2012). Toxic epidermal necrolysis and Stevens-Johnson syndrome at the Prague Burn Centre 1998-2008. *J Eur Acad Dermatol Venereol JEADV*, **26**(5), 639–643.
99. Saka B., Akakpo A.S., Teclessou J.N., et al. (2019). Ocular and Mucocutaneous Sequelae among Survivors of Stevens-Johnson Syndrome and Toxic Epidermal Necrolysis in Togo. *Dermatol Res Pract*, **2019**(2), 1–6.
100. Yang L., Shou Y.H., Li F., et al. (2020). Retrospective study of 213 cases of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis from China. *Burns*, **46**(4), 959–969.
101. Rojas Mejía D.V., Zwiener R.D., Cardona Villa R., et al. (2020). Severe cutaneous adverse reactions (SCARs) to drugs in Latin America: RACGRAD study. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 0.

102. Nguyen K.D., Tran T.N., Nguyen M.L.T., et al. (2019). Drug-induced Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis in vietnamese spontaneous adverse drug reaction database: A subgroup approach to disproportionality analysis. *J Clin Pharm Ther*, **44**(1), 69–77.
103. Alvestad S., Lydersen S., and Brodtkorb E. (2008). Cross-reactivity pattern of rash from current aromatic antiepileptic drugs. *Epilepsy Res*, **80**(2–3), 194–200.
104. Seitz C.S., Pfeuffer P., Raith P., et al. (2006). Anticonvulsant hypersensitivity syndrome: cross-reactivity with tricyclic antidepressant agents. *Ann Allergy Asthma Immunol Off Publ Am Coll Allergy Asthma Immunol*, **97**(5), 698–702.
105. Li X., Yu K., Mei S., et al. (2015). HLA-B*1502 increases the risk of phenytoin or lamotrigine induced Stevens-Johnson Syndrome/toxic epidermal necrolysis: evidence from a meta-analysis of nine case-control studies. *Drug Res*, **65**(2), 107–111.
106. Wang X., Lang S., Shi X., et al. (2010). Cross-reactivity of skin rashes with current antiepileptic drugs in Chinese population. *Seizure*, **19**(9), 562–566.
107. Sierra N.M., García B., Marco J., et al. (2005). Cross Hypersensitivity Syndrome between Phenytoin and Carbamazepine. *Pharm World Sci PWS*, **27**(3), 170–174.
108. Meyer Sauter P.M., Goetschel P., and Lautenschlager S. (2012). Mycoplasma pneumoniae and mucositis-part of the Stevens-Johnson syndrome spectrum. *J Dtsch Dermatol Ges J Ger Soc Dermatol JDDG*, **10**(10), 740–746.
109. Rajaratnam R., Mann C., Balasubramaniam P., et al. (2010). Toxic epidermal necrolysis: retrospective analysis of 21 consecutive cases managed at a tertiary centre. *Clin Exp Dermatol*, **35**(8), 853–862.

110. Watanabe R., Watanabe H., Sotozono C., et al. (2011). Critical factors differentiating erythema multiforme majus from Stevens-Johnson syndrome (SJS)/toxic epidermal necrolysis (TEN). *Eur J Dermatol EJD*, **21(6)**, 889–894.
111. Cát Vân Anh, Nguyễn Văn Đoàn (2012). Triệu chứng lâm sàng và tổn thương kết mạc trên bệnh nhân dị ứng thuốc. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **80(3)**, 113–8.
112. Phùng Thị Phương Tú, Nguyễn Văn Đoàn. (2013). Áp dụng thang điểm SCORTEN trong tiên lượng bệnh nhân hội chứng Stevens- Johnson, Lyell do dị ứng thuốc. *Tạp chí Nghiên cứu Y học*, **5(1)**, 66–73.
113. Chung W.H., Chang W.C., Stocker S.L., et al. (2015). Insights into the poor prognosis of allopurinol-induced severe cutaneous adverse reactions: the impact of renal insufficiency, high plasma levels of oxypurinol and granulysin. *Ann Rheum Dis*, **74(12)**, 2157–2164.
114. Schneck J., Fagot J.-P., Sekula P., et al. (2008). Effects of treatments on the mortality of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: A retrospective study on patients included in the prospective EuroSCAR Study. *J Am Acad Dermatol*, **58(1)**, 33–40.
115. Hirahara K., Kano Y., Sato Y., et al. (2013). Methylprednisolone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis: clinical evaluation and analysis of biomarkers. *J Am Acad Dermatol*, **69(3)**, 496–498.
116. Kardaun S.H. and Jonkman M.F. (2007). Dexamethasone pulse therapy for Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis. *Acta Derm Venereol*, **87(2)**, 144–148.
117. Valeyrie-Allanore L., Wolkenstein P., Brochard L., et al. (2010). Open trial of ciclosporin treatment for Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Br J Dermatol*, **163(4)**, 847–853.

118. Singh G.K., Chatterjee M., and Verma R. (2013). Cyclosporine in Stevens Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis and retrospective comparison with systemic corticosteroid. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, **79**(5), 686–692.
119. Kirchhof M.G., Miliszewski M.A., Sikora S., et al. (2014). Retrospective review of Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis treatment comparing intravenous immunoglobulin with cyclosporine. *J Am Acad Dermatol*, **71**(5), 941–947.
120. Conner C.D., McKenzie E., Owen C.E., et al. (2018). The use of cyclosporine for Stevens-Johnson syndrome-toxic epidermal necrolysis spectrum at the University of Louisville: A case series and literature review. *Dermatol Online J*, **24**(1).
121. Park H.J., Kim Y.J., Kim D.H., et al. (2016). HLA Allele Frequencies in 5802 Koreans: Varied Allele Types Associated with SJS/TEN According to Culprit Drugs. *Yonsei Med J*, **57**(1), 118–126.
122. Puangpetch A., Koomdee N., Chamnanphol M., et al. (2014). HLA-B allele and haplotype diversity among Thai patients identified by PCR-SSOP: evidence for high risk of drug-induced hypersensitivity. *Front Genet*, **5**, 478.
123. Koomdee N., Pratoomwun J., Jantararoungtong T., et al. (2017). Association of HLA-A and HLA-B Alleles with Lamotrigine-Induced Cutaneous Adverse Drug Reactions in the Thai Population. *Front Pharmacol*, **8**, 879.
124. Jaruthamsophon K., Tipmanee V., Sangiemchoey A., et al. (2017). HLA-B*15:21 and carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome: pooled-data and in silico analysis. *Sci Rep*, **7**, 45553.

125. Capule F., Tragulpiankit P., Mahasirimongkol S., et al. (2018). Carbamazepine-induced Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis overlap in a Filipino with positive HLA-B75 serotype. *BMJ Case Rep*.
126. Peña S.V., Hanson D.A., Carr B.A., et al. (1997). Processing, subcellular localization, and function of 519 (granulysin), a human late T cell activation molecule with homology to small, lytic, granule proteins. *J Immunol Baltim Md 1950*, **158**(6), 2680–2688.
127. Stenger S., Hanson D.A., Teitelbaum R., et al. (1998). An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science*, **282**(5386), 121–125.
128. Ogawa K., Takamori Y., Suzuki K., et al. (2003). Granulysin in human serum as a marker of cell-mediated immunity. *Eur J Immunol*, **33**(7), 1925–1933.
129. Lin J., Huang Y., Zhang L., et al. (2016). Evaluation of serum granulysin as a potential biomarker for nasopharyngeal carcinoma. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*, **454**, 72–76.
130. Thuong P.H., Tam D.B., Sakurada S., et al. (2016). Circulating granulysin levels in healthcare workers and latent tuberculosis infection estimated using interferon-gamma release assays. *BMC Infect Dis*, **16**(1), 580.
131. Saigusa S., Ichikura T., Tsujimoto H., et al. (2007). Serum granulysin level as a novel prognostic marker in patients with gastric carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*, **22**(8), 1322–1327.
132. Cho Y.T., Lin J.W., Chen Y.C., et al. (2014). Generalized bullous fixed drug eruption is distinct from Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis by immunohistopathological features. *J Am Acad Dermatol*, **70**(3), 539–548.

133. Nagasawa M., Isoda T., Itoh S., et al. (2006). Analysis of serum granulysin in patients with hematopoietic stem-cell transplantation: its usefulness as a marker of graft-versus-host reaction. *Am J Hematol*, **81**(5), 340–348.
134. Saito N., Abe R., Yoshioka N., et al. (2012). Prolonged elevation of serum granulysin in drug-induced hypersensitivity syndrome. *Br J Dermatol*, **167**(2), 452–453.
135. Iwai S., Sueki H., Watanabe H., et al. (2012). Distinguishing between erythema multiforme major and Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis immunopathologically. *J Dermatol*, **39**(9), 781–786.
136. Schulte W., Bernhagen J., and Bucala R. (2013). Cytokines in sepsis: potent immunoregulators and potential therapeutic targets-an updated view. *Mediators Inflamm*, **2013**, 165974.
137. Menter A., Strober B.E., Kaplan D.H., et al. (2019). Joint AAD-NPF guidelines of care for the management and treatment of psoriasis with biologics. *J Am Acad Dermatol*, **80**(4), 1029–1072.
138. Reynolds K.A., Pithadia D.J., Lee E.B., et al. (2020). Safety and Effectiveness of Anti-Tumor Necrosis Factor-Alpha Biosimilar Agents in the Treatment of Psoriasis. *Am J Clin Dermatol*, **21**(4), 483–491.
139. Kerschbaumer A., Sepriano A., Smolen J.S., et al. (2020). Efficacy of pharmacological treatment in rheumatoid arthritis: a systematic literature research informing the 2019 update of the EULAR recommendations for management of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*, **79**(6), 744–759.
140. Smolen J.S., Landewé R.B.M., Bijlsma J.W.J., et al. (2020). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2019 update. *Ann Rheum Dis*, **79**(6), 685–699.

141. Zhang S., Tang S., Li S., et al. (2020). Biologic TNF-alpha inhibitors in the treatment of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis: a systemic review. *J Dermatol Treat*, **31**(1), 66–73.
142. Gavigan G.M., Kanigsberg N.D., and Ramien M.L. (2018). Pediatric Stevens-Johnson Syndrome/Toxic Epidermal Necrolysis Halted by Etanercept. *J Cutan Med Surg*, **22**(5), 514–515.
143. Paradisi A., Abeni D., Bergamo F., et al. (2014). Etanercept therapy for toxic epidermal necrolysis. *J Am Acad Dermatol*, **71**(2), 278–283.
144. Namazi M.R. (2006). Increased mortality in toxic epidermal necrolysis with thalidomide: corroborating or exonerating the pathogenetic role of TNF-alpha?. *Br J Dermatol*, **155**(4), 842–843.
145. Horowitz S.B. and Stirling A.L. (1999). Thalidomide-induced toxic epidermal necrolysis. *Pharmacotherapy*, **19**(10), 1177–1180.
146. Das A., Sil A., Mishra V., et al. (2014). Steven's Johnson syndrome with toxic epidermal necrolysis due to thalidomide in a case of multiple myeloma. *Indian J Pharmacol*, **46**(5), 557–559.
147. Hwang S., Woo Y., Kim M., et al. (2017). Toxic epidermal necrolysis induced by thalidomide and dexamethasone treatment for multiple myeloma. *Int J Dermatol*, **56**(2), e35–e37.
148. Allegra A., Alonci A., Penna G., et al. (2012). Stevens-Johnson syndrome after lenalidomide therapy for multiple myeloma: a case report and a review of treatment options. *Hematol Oncol*, **30**(1), 41–45.
149. Musolino C., Alonci A., Catena S., et al. (2013). Long-term complete remission in a multiple myeloma patient after Stevens-Johnson syndrome due to lenalidomide therapy. *Acta Oncol Stockh Swed*, **52**(5), 1050–1051.
150. Nassif A., Moslehi H., Le Gouvello S., et al. (2004). Evaluation of the potential role of cytokines in toxic epidermal necrolysis. *J Invest Dermatol*, **123**(5), 850–855.

151. Seder R.A., Paul W.E., Davis M.M., et al. (1992). The presence of interleukin 4 during in vitro priming determines the lymphokine-producing potential of CD4⁺ T cells from T cell receptor transgenic mice. *J Exp Med*, **176**(4), 1091–1098.
152. Quaglino P., Caproni M., Osella-Abate S., et al. (2008). Serum interleukin-13 levels are increased in patients with Stevens-Johnson syndrome/ toxic epidermal necrolysis but not in those with erythema multiforme. *Br J Dermatol*, **158**(1), 184–186.
153. Lê Thị Thu Hương (2017). *Nghiên cứu biến đổi một số tế bào viêm và cytokine trong máu ngoại vi ở trẻ hen phế quản*, Luận án Tiến sỹ Y học, Trường Đại học Y Hà Nội.
154. Estaquier J., Idziorek T., Zou W., et al. (1995). T helper type 1/T helper type 2 cytokines and T cell death: preventive effect of interleukin 12 on activation-induced and CD95 (FAS/APO-1)-mediated apoptosis of CD4⁺ T cells from human immunodeficiency virus-infected persons. *J Exp Med*, **182**(6), 1759–1767.
155. Hashizume H., Fujiyama T., and Tokura Y. (2016). Reciprocal contribution of Th17 and regulatory T cells in severe drug allergy. *J Dermatol Sci*, **81**(2), 131–134.
156. Morsy H., Taha E.A., Nigm D.A., et al. (2017). Serum IL-17 in patients with erythema multiforme or Stevens-Johnson syndrome/toxic epidermal necrolysis drug reaction, and correlation with disease severity. *Clin Exp Dermatol*, **42**(8), 868–873.
157. Teraki Y., Kawabe M., and Izaki S. (2013). Possible role of TH17 cells in the pathogenesis of Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *J Allergy Clin Immunol*, **131**(3), 907–909.

158. Fujiyama T., Kawakami C., Sugita K., et al. (2014). Increased frequencies of Th17 cells in drug eruptions. *J Dermatol Sci*, **73**(1), 85–88.
159. Ang C.C. and Tay Y.K. (2011). Hematological abnormalities and the use of granulocyte-colony-stimulating factor in patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis. *Int J Dermatol*, **50**(12), 1570–1578.
160. Pallesen K.A., Robinson S., Toft P., et al. (2012). Successful treatment of toxic epidermal necrolysis/Stevens-Johnson syndrome overlap with human granulocyte colony stimulating factor: a case report. *Acta Derm Venereol*, **92**(2), 212–213.
161. Robak E., Robak T., Góra-Tybor J., et al. (2001). Toxic epidermal necrolysis in a patient with severe aplastic anemia treated with cyclosporin A and G-CSF. *J Med*, **32**(1–2), 31–39.
162. Schnyder B., Frutig K., Mauri-Hellweg D., et al. (1998). T-cell-mediated cytotoxicity against keratinocytes in sulfamethoxazol-induced skin reaction. *Clin Exp Allergy J Br Soc Allergy Clin Immunol*, **28**(11), 1412–1417.
163. Fu M., Gao Y., Pan Y., et al. (2012). Recovered patients with Stevens-Johnson syndrome and toxic epidermal necrolysis maintain long-lived IFN- γ and sFasL memory response. *PloS One*, **7**(9), e45516.

Phụ lục 1

BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

Số thứ tự

A. Hành chính

Họ và tên bệnh nhân:

Mã bệnh án:

Tuổi: Dân tộc: Giới: 1. Nam 2. Nữ

Địa chỉ:

Trình độ văn hoá: 1. ĐH và sau ĐH 2. CĐ và TH chuyên nghiệp

3. THPT 4. THCS 5. Tiểu học 6. Không học

Nghề nghiệp:

Họ và tên người chăm sóc:

Quan hệ với người bệnh:

Số điện thoại liên hệ:

Ngày vào viện:..... Chẩn đoán:

Ngày ra viện:..... Chẩn đoán:

Số ngày nằm viện:

Tình trạng ra viện: 1. Đỡ 2. Không đỡ 3. Tử vong

B. Nội dung:

1. Lý do vào viện:.....

2. Tiền sử dùng thuốc

Không dùng thuốc ☐

Có dùng thuốc ☐

2.1. Lý do dùng thuốc:.....

2.2. Loại thuốc, hàm lượng các thuốc đã và đang dùng nghi gây dị ứng

Tên thuốc	Nhóm thuốc	Hàm lượng	Điểm ALDEN
1.			
2.			
3.			
4.			
5.			
6.			
7.			
8.			
9.			

2.3. Đường vào của thuốc

- | | | |
|---|---|-----------------------------------|
| ☐ Tiêm tĩnh mạch | ☐ Truyền tĩnh mạch | ☐ Tiêm bắp |
| ☐ Uống | ☐ Bôi ngoài da | ☐ Khí dung |
| ☐ Nhỏ mắt, mũi | ☐ Khác | ☐ |

2.4. Khoảng thời gian xuất hiện triệu chứng dị ứng đầu tiên sau khi tiếp xúc với thuốc: ngày

- | | | |
|---|--|--|
| ☐ Dưới 30 phút | ☐ Từ 30 - 60 phút | ☐ Từ 1 - 6 giờ |
| ☐ Từ 7 - 12 giờ | ☐ Từ 12 - 24 giờ | ☐ Từ 1 - 6 ngày |
| ☐ Từ 7 - 14 ngày | ☐ Từ 15-30 ngày | ☐ Trên 30 ngày |

2.5. Nguồn gốc thuốc

- ☐ Theo y lệnh thầy thuốc
- ☐ Tự điều trị

2.6. Lần dị ứng thuốc

Lần1 ☐ Lần 2 ☐ Lần 3 ☐ > 3 lần ☐

3. Tiền sử

3.1. Tiền sử bản thân

3.1.1. Tiền sử dị ứng do thuốc: Có ☐ Không ☐

3.1.1.1. Loại thuốc đã gây dị ứng (tên thuốc):.....

3.1.1.2. Loại hình dị ứng thuốc:.....

3.1.2. Tiền sử dị ứng khác

- | | |
|--|--|
| ☐ Dị ứng thức ăn | ☐ Dị ứng phấn hoa |
| ☐ Viêm mũi dị ứng | ☐ Hen phế quản |
| ☐ Viêm da cơ địa | ☐ Loại hình khác: |

3.2. Tiền sử dị ứng gia đình

	Loại hình dị ứng	Nguyên nhân dị ứng
Ông/bà (nội/ngoại)		
Cha/mẹ		
Anh/chị/em ruột		
Con ruột		

4. Triệu chứng lâm sàng

Triệu chứng da, niêm mạc xuất hiện đầu tiên

Vị trí xuất hiện:

.....

Đặc điểm thương tổn:

.....

Thời gian từ khi xuất hiện tới khi nhập viện:

.....

.....

ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG NGÀY ĐẦU THĂM KHÁM

(ngày:.....)

4.1. Toàn thân

Chiều cao:

Cân nặng:

Nhiệt độ:

Huyết áp:

Nhịp tim:

Nhịp thở:

4.2. Thực thể

Tổn thương da: Diện tích thương tổn bỏng nước, vết trợt (%):

Mô tả thương tổn cơ bản ở da, phân bố:

.....

.....

.....

.....

.....

Tổn thương niêm mạc

Mắt:

Mũi:

Miệng:

Sinh dục:

Khác:

Tổn thương cơ quan nội tạng

Gan:

Thận:

Hô hấp:

Cơ quan tạo máu:

Nhiễm khuẩn huyết

Khác:

5. Cận lâm sàng

5.1. Công thức máu

Bạch cầu:	Hồng cầu:	Tiểu cầu:
Trung tính:	Hemoglobin:	Máu lắng:
Lympho:	Hematocrit:	1h:
Mono:	MCV:	2h:
Ưa acid:	MCH:	Procalcitonin:
Ưa kiềm:	MCHC:	CRP:

5.2. Sinh hóa máu

Glucose:	Protein TP:	HDL-C:
Ure:	Albumin:	LDL-C:
Creatinin:	Bilirubin TP:	Na:
AST:	Bilirubin TT:	Ka:
ALT:	Cholesterol:	Cl:
CK:	Triglycerid:	

5.3. Tổng phân tích nước tiểu

Glucose:	Tỷ trọng:	Urobilinogen:
Bilirubin:	pH:	Nitrit:
Thể ceton:	Protein:	HC: BC:

5.4. Kết quả X-quang phổi:

5.5. Điện tâm đồ:

5.6. Siêu âm ổ bụng:

5.7. Khác:

6. Điểm SCORTEN hoặc SCORTEN 6 tiêu chí

TT	Yếu tố nguy cơ	Điểm 0	Điểm 1
1	Tuổi	< 40	≥ 40
2	Mắc bệnh ác tính	Không	Có
3	Nhịp tim (lần/phút)	< 120	≥ 120
4	Diện tích da bị trợt loét	< 10%	≥ 10%
5	Ure máu (mmol/l)	≤ 10	> 10
6	Đường máu (mmol/l)	≤ 14	> 14
7	Bicarbonat máu (mmol/l)	≥ 20	< 20
Điểm SCORTEN tối đa			7 điểm

Thuốc điều trị trước khi vào viện

.....

Thuốc điều trị trong quá trình nằm viện

.....

Tác dụng phụ:

.....

Thời gian tái tạo thượng bì

KẾT QUẢ XÉT NGHIỆM *HLA-B*, GRANULYSIN, CÁC CYTOKIN

HLA-B: allele 1.....allele 2.....

Cytokin, granulysin	Lúc nhập viện	Lúc TTTB
GM-CSF (pg/ml)		
IFN- γ (pg/ml)		
IL-1 β (pg/ml)		
IL-2 (pg/ml)		
IL-4 (pg/ml)		
IL-5 (pg/ml)		
IL-6 (pg/ml)		
IL-8 (pg/ml)		
IL-10 (pg/ml)		
IL-12 (pg/ml)		
IL-13 (pg/ml)		
IL-17A (pg/ml)		
TNF- α (pg/ml)		
Granulysin (ng/ml)		

Hà Nội, ngày.....tháng.....năm

Người làm bệnh án

Phụ lục 2. BỆNH NHÂN MINH HỌA



A. Ngày nhập viện, nồng độ huyết thanh granulyxin là 22,2 ng/ml, IFN- γ là 149 pg/ml, TNF- α là 26,5 pg/ml



B. Mười ngày sau khi nhập viện



C. Tại thời điểm tái tạo thượng bì, nồng độ huyết thanh granulyxin là 17,1 ng/ml, IFN- γ là 0,1 pg/ml, TNF- α là 1,3 pg/ml

Bệnh nhân nam 52 tuổi, bị TEN do allopurinol, mang *HLA-B*58:01*

Phụ lục 3. ĐỌC KẾT QUẢ ĐỊNH TYPE *HLA-B*

