

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



VŨ NGUYỆT MINH

**NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỔI
MỘT SỐ CYTOKIN Ở BỆNH NHÂN
XƠ CỨNG BÌ HỆ THỐNG**

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2018

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

VŨ NGUYỆT MINH

**NGHIÊN CỨU SỰ BIẾN ĐỔI
MỘT SỐ CYTOKIN Ở BỆNH NHÂN
XƠ CỨNG BÌ HỆ THỐNG**

Chuyên ngành : Da liễu

Mã số : 62 7201 52

LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

Người hướng dẫn khoa học:

GS. TS. Trần Hậu Khang

HÀ NỘI - 2018

LỜI CAM ĐOAN

Tôi là Vũ Nguyệt Minh, nghiên cứu sinh khóa 33, Trường Đại học Y Hà Nội, chuyên ngành Da liễu, xin cam đoan:

1. Đây là luận án do bản thân tôi trực tiếp thực hiện dưới sự hướng dẫn của Thầy: GS.TS Trần Hậu Khang.
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 hoàn toàn chính xác, trung thực và khách quan, đã được xác nhận và chấp thuận của cơ sở nơi nghiên cứu

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

Hà Nội, ngày 25 tháng 6 năm 2018

Người viết cam đoan

Vũ Nguyệt Minh

DANH MỤC CHỮ VIẾT TẮT

VIẾT TẮT	TIẾNG ANH	TIẾNG VIỆT
ACA	Anticentromere antibodies	Kháng thể kháng tâm động
ANA	Anti-nuclear antibody	Kháng thể kháng nhân
ATA	Anti-topoisomerase	
AZA	Azathioprine	
BAFF	B cell-activating factor family	Nhóm các yếu tố hoạt hóa lympho B
CD	Cluster of differentiation	Cụm biệt hoá
CREST	Calcinosis cutis - Raynaud phenomenon - Esophageal dysmotility - Sclerodactyly - Telangiectasia	Hội chứng CREST
CYC	Cyclophosphamide	
Dlco	Diffusing capacity for carbon monoxide	Dung tích khuếch tán khí CO
DNA	Deoxyribonucleic acid	
EKG	Electrocardiogram	Điện tâm đồ
ET-1	Endothelin-1	
EULAR	The European League Against Rheumatism	Liên đoàn chống bệnh thấp khớp châu Âu
FEV1	Forced expiratory volume in one second	Dung tích thở ra gắng sức trong 1 giây đầu tiên
FVC	Forced vital capacity	Dung tích sống gắng sức
HRCT	High resolution computed tomography	Chụp cắt lớp vi tính độ phân giải cao

IFN-	Interferon	
IL	Interleukin	
ILD	Interstitial lung disease	Bệnh phổi kẽ
MCP-	Monocyte chemoattractant protein	Protein hóa ứng động bạch cầu đơn nhân
mRSS	Modified Rodnan skin score	Điểm Rodnan cải tiến
MTX	Methotrexate	
NVC	Nailfold videocapillaroscopy	Soi mao mạch nền móng
PAH	Pulmonary arterial hypertension	Tăng áp lực động mạch phổi
PAPs	Pulmonary artery pressure systolic	Áp lực động mạch phổi thì tâm thu
PFTs	Pulmonary function tests	Xét nghiệm chức năng hô hấp
RNAP	Anti-RNA polymerase	
SAT		Siêu âm tim
TGF-	Transforming growth factor	Yếu tố tăng trưởng
Th	Lympho T help	Lympho T giúp đỡ
Treg	Lympho T regulatory	Lympho T điều hoà
VC	Vital capacity	Dung tích sống
XCBHT		Xơ cứng bì hệ thống

MỤC LỤC

ĐẶT VẤN ĐỀ	1
CHƯƠNG 1: NỘI DUNG	3
1.1. ĐẠI CƯƠNG BỆNH XƠ CỨNG BÌ HỆ THỐNG	3
1.1.1. Dịch tễ.....	3
1.1.2. Phân loại	3
1.1.3. Sinh bệnh học.....	5
1.1.4. Lâm sàng.....	6
1.1.5. Tiêu chuẩn chẩn đoán.....	14
1.1.6. Điều trị	14
1.2. VAI TRÒ CỦA CÁC CYTOKIN TRONG XƠ CỨNG BÌ HỆ THỐNG	20
1.2.1. Khái niệm về cytokin	20
1.2.2. Vai trò của cytokin trong các rối loạn của bệnh XCBHT.....	24
1.2.3. Các nghiên cứu về cytokin trong bệnh XCBHT trên thế giới và Việt Nam.....	37
CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	42
2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU	42
2.1.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán.....	42
2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn	43
2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ	43
2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	43
2.2.1. Thiết kế nghiên cứu.....	43
2.2.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu.....	43
2.2.3. Các bước tiến hành.....	43
2.2.4. Các chỉ tiêu nghiên cứu	45
2.2.5. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu và đánh giá kết quả	48
2.2.6. Phương pháp phân tích và xử lý kết quả.....	53
2.2.7. Hạn chế của đề tài	55

2.3. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU	55
2.4. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU.....	55
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU.....	58
3.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU.....	58
3.1.1. Đặc điểm chung	58
3.1.2. Đặc điểm về tuổi khởi phát bệnh	59
3.1.3. Đặc điểm tự kháng thể.....	60
3.1.4. Các thuốc điều trị	61
3.1.5. Đặc điểm thương tổn cơ quan.....	63
3.2. NỒNG ĐỘ CÁC CYTOKIN VÀ YẾU TỐ LIÊN QUAN	64
3.2.1. Thay đổi cytokin trước và sau 1 năm điều trị.....	64
3.2.2. Phân tích tương quan đơn biến giữa các cytokin.....	66
3.2.3. Liên quan giữa nồng độ cytokin và yếu tố khác.....	68
3.3. TƯƠNG QUAN GIỮA CYTOKIN VỚI THƯƠNG TỔN DA VÀ NỘI TẠNG	73
3.3.1. Thương tổn loét đầu chi	73
3.3.2. Thương tổn dày da	75
3.3.3. Thương tổn bệnh phổi kẽ.....	77
3.3.4. Thương tổn tăng áp lực động mạch phổi	79
3.3.5. Thương tổn tiêu hoá	81
3.3.6. Thương tổn thận.....	83
3.3.7. Thương tổn cơ.....	85
3.3.8. Thương tổn khớp.....	87
3.3.9. Thương tổn cơ quan phối hợp	89
CHƯƠNG 4: BÀN LUẬN.....	91
4.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU.....	91
4.1.1. Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân XCBHT	91
4.1.2. Đặc điểm tự kháng thể.....	92
4.1.3. Đặc điểm thương tổn cơ quan trước và sau 1 năm điều trị.....	93

4.2. NỒNG ĐỘ CÁC CYTOKIN VÀ YẾU TỐ LIÊN QUAN	96
4.2.1. TNF.....	96
4.2.2. MCP-1	98
4.2.3. TGF- β 1	99
4.2.4. IL-6.....	101
4.2.5. BAFF	103
4.2.6. IL-10	105
4.2.7. IL-2.....	106
4.2.8. IL-4.....	108
4.2.9. IFN- γ	109
4.2.10. IL-17A	110
4.3. TƯƠNG QUAN GIỮA CYTOKIN VỚI THƯƠNG TỔN DA VÀ	
NỘI TẠNG.....	111
4.3.1. Thương tổn loét đầu chi	111
4.3.2. Thương tổn dày da	113
4.3.3. Thương tổn bệnh phổi kẽ.....	114
4.3.4. Thương tổn tăng áp lực động mạch phổi	116
4.3.5. Thương tổn tiêu hoá	118
4.3.6. Thương tổn thận.....	119
4.3.7. Thương tổn cơ.....	119
4.3.8. Thương tổn khớp.....	120
4.3.9. Thương tổn cơ quan phối hợp	121
KẾT LUẬN.....	123
KIẾN NGHỊ.....	125
CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN	
TÀI LIỆU THAM KHẢO	
PHỤ LỤC	

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1:	Tóm tắt chỉ định điều trị XCBHT	16
Bảng 2.1:	Tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT ACR và EULAR 2013.....	42
Bảng 3.1:	Đặc điểm chung của bệnh nhân nghiên cứu.....	58
Bảng 3.2:	Đặc điểm tự kháng thể.....	60
Bảng 3.3:	Sự thay đổi thương tổn cơ quan trước và sau 1 năm điều trị ...	63
Bảng 3.4:	Thay đổi nồng độ của các cytokin trước và sau 1 năm điều trị	64
Bảng 3.5:	Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với giới tính	68
Bảng 3.6:	Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với thể bệnh....	69
Bảng 3.7:	Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với ANA.....	70
Bảng 3.8:	Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với ATA	71
Bảng 3.9:	Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với tuổi và thời gian bị bệnh.....	72
Bảng 3.10:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn loét đầu chi.	73
Bảng 3.11:	Phân tích sự thay đổi thương tổn loét đầu chi theo nồng độ cytokin.....	74
Bảng 3.12:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn dày da nặng	75
Bảng 3.13:	Phân tích sự thay đổi thương tổn dày da theo nồng độ cytokin	76
Bảng 3.14:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổnILD nặng trên HRCT.....	77
Bảng 3.15:	Phân tích sự thay đổi thương tổnILD trên HRCT theo nồng độ cytokin.....	78
Bảng 3.16:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn PAH trên siêu âm tim qua thành ngực	79
Bảng 3.17:	Phân tích sự thay đổi thương tổn PAH trên siêu âm tim qua thành ngực theo nồng độ cytokin.....	80

Bảng 3.18:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn nuốt nghẹn .	81
Bảng 3.19:	Phân tích sự thay đổi thương tổn nuốt nghẹn theo nồng độ cytokin.....	82
Bảng 3.20:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp bất thường tổng phân tích nước tiểu.....	83
Bảng 3.21:	Phân tích sự thay đổi thương tổn tổng phân tích nước tiểu theo nồng độ cytokin	84
Bảng 3.22:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn cơ	85
Bảng 3.23:	Phân tích sự thay đổi thương tổn cơ theo nồng độ cytokin.....	86
Bảng 3.24:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn đau khớp	87
Bảng 3.25:	Phân tích sự thay đổi thương tổn khớp theo nồng độ cytokin..	88
Bảng 3.26:	Tỷ lệ phối hợp thương tổn cơ quan trước điều trị.....	89
Bảng 3.27:	Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp ≥ 4 thương tổn phối hợp	90

DANH MỤC BIỂU ĐỒ

Biểu đồ 3.1:	Phân bố nhóm tuổi khởi phát	59
Biểu đồ 3.2:	Tỷ lệ các loại thuốc lựa chọn dùng cho bệnh nhân XCBHT	61
Biểu đồ 3.3:	Mối tương quan giữa nồng độ của MCP-1, TGF- β 1, IL-6 và BAFF trước điều trị	66
Biểu đồ 3.4:	Mối tương quan giữa nồng độ của MCP-1, TGF- β 1, IL-6 và BAFF sau 1 năm điều trị	67

DANH MỤC HÌNH

Ảnh 1.1: Phương pháp dồn da đánh giá độ xơ cứng của da	7
Ảnh 1.2: Thang điểm mRSS	8
Ảnh 1.3: Lớp cắt tại gốc của các mạch lớn	10
Ảnh 1.4: Lớp cắt chia 2 mạch chính	10
Ảnh 1.5: Lớp cắt hợp lưu tĩnh mạch phổi	10
Ảnh 1.6. Lớp cắt nhìn thấy vòm hoành.....	10

DANH MỤC SƠ ĐỒ

Sơ đồ 1.1: Cơ chế bệnh sinh của bệnh xơ cứng bì hệ thống	25
Sơ đồ 1.2: Vai trò của BAFF và lympho B trong cơ chế bệnh sinh của xơ cứng bì hệ thống	31
Sơ đồ 1.3: Vai trò của IL-2 trong biệt hoá các dòng lympho T	34

ĐẶT VẤN ĐỀ

Xơ cứng bì hệ thống (Systemic scleroderma -SSc, XCBHT) là một bệnh tự miễn của tổ chức liên kết, đặc trưng bởi bệnh lý mạch máu và viêm mức độ thấp, kéo dài gây hậu quả cuối cùng là lắng đọng collagen tại tổ chức. Một trong những vấn đề cần làm rõ trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT là mối liên quan giữa biểu hiện viêm, rối loạn vi mạch và yếu tố phát triển xơ [1]. Từ khi bệnh nhân viêm khớp dạng thấp được điều trị thành công bởi kháng thể đơn dòng ức chế TNF- α [2] và gần đây, thuốc sinh học kháng cytokin BAFF được FDA chấp thuận cho điều trị lupus ban đỏ hệ thống [3] thì các nghiên cứu đã tập trung nhiều hơn vào mạng lưới cytokin trong cơ chế bệnh sinh của bệnh XCBHT. Cytokin là yếu tố chính gây viêm cấp tính và mãn tính. Tuy nhiên, mỗi loại cytokin do nhiều tế bào tiết ra, không hoạt động riêng lẻ mà tương tác với nhau thành một mạng lưới phức tạp [4]. Sự sản xuất và giải phóng nhiều loại cytokin tham gia vào quá trình kích hoạt lympho T và B dẫn đến phản ứng viêm, sản xuất tự kháng thể, thương tổn vi mạch và xơ hoá là những diễn biến phức tạp trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT. Như vậy, cân bằng giữa lympho Th1/ Th2/ Th17/ Treg, lympho B đại thực bào và các nguyên bào sợi trong bệnh XCBHT cần được nghiên cứu cùng lúc với mối tương tác của cả mạng lưới nhằm phát triển các liệu pháp điều trị kết hợp, điều chỉnh nhiều con đường dẫn tới phản ứng viêm - xơ hoá trong cơ chế bệnh sinh phức tạp của bệnh tự miễn mạn tính này [5], [6].

Trong nhiều thập kỷ qua, do bệnh XCBHT biểu hiện rất khác nhau về lâm sàng, cận lâm sàng ở giai đoạn khởi phát và tiến triển nên các tác giả gặp nhiều khó khăn trong việc xác định bệnh nhân thuộc giai đoạn nào. Đây cũng là nguyên nhân dẫn đến các nghiên cứu lâm sàng, cận lâm sàng, cytokin trên bệnh nhân XCBHT cho các kết quả rất khác nhau, gây khó khăn cho việc xác định phác đồ điều trị. Trong trường hợp biểu hiện lâm sàng và

cận lâm sàng về các thương tổn cơ quan chưa rõ ràng, đặc điểm mạng lưới cytokin là số liệu tốt giúp nhận dạng các thể lâm sàng không đồng nhất này. Tuy nhiên, nghiên cứu trên bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm rất ít [7], [8], [9]. Hơn nữa sự thay đổi nồng độ các cytokin cũng có liên quan đến hình ảnh, triệu chứng lâm sàng của một số cơ quan [5]. Ngoài ra nhiều nhà khoa học cũng cho rằng sự xuất hiện một số cytokin liên quan tới biểu hiện lâm sàng và tiên lượng bệnh [10].

Trên thế giới, các nhà khoa học vẫn tiếp tục tiến hành thêm nhiều nghiên cứu trên các nhóm bệnh nhân, có theo dõi dọc theo thời gian để đánh giá một cách toàn diện vai trò của các cytokin trong bệnh XCBHT [9], [11]. Số lượng nghiên cứu trên cả mạng lưới cytokin và có theo dõi dọc trên các nhóm bệnh nhân cùng giai đoạn bệnh, đặc biệt trong giai đoạn sớm là không nhiều [9], [12], [13]. Một số nghiên cứu cho kết quả khả quan về việc sử dụng cytokin và các dấu ấn sinh học như các công cụ dự đoán mức độ bệnh, đáp ứng điều trị và tiên lượng bệnh [4], [10], [14], [15]. Tại Việt Nam, chưa có một nghiên cứu nào theo hướng miễn dịch học mức độ phân tử liên quan đến mạng lưới cytokin ở bệnh nhân XCBHT. Vì vậy, chúng tôi tiến hành đề tài “**Nghiên cứu sự biến đổi một số cytokin ở bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống**” nhằm các mục tiêu sau:

1. *Khảo sát sự thay đổi nồng độ các cytokin trong máu bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống trước và sau điều trị tại Bệnh viện Da liễu Trung ương.*
2. *Xác định mối tương quan giữa sự thay đổi của các cytokin với thương tổn da và nội tạng của bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống.*

Chương 1

NỘI DUNG

1.1. ĐẠI CƯƠNG BỆNH XƠ CỨNG BÌ HỆ THỐNG

1.1.1. Dịch tễ

Xơ cứng bì hệ thống (XCBHT, SSc) được mô tả gần 3000 năm trước. Trong một thời gian dài, triệu chứng lâm sàng chủ yếu của XCBHT được mô tả là thương tổn da. Tuy nhiên, sau đó, các nghiên cứu đã khẳng định bệnh XCBHT không chỉ có thương tổn da mà còn có những thương tổn cơ quan nội tạng khác: phổi, thận, hệ thống tiêu hóa, cơ xương khớp... [16], [17], [18], [19], [20], [21].

XCBHT phân bố rộng rãi khắp thế giới, có thể xuất hiện ở mọi chủng tộc, tỷ lệ lưu hành khoảng 31-88 trường hợp/ 1 triệu người, hay gặp ở độ tuổi 40-50 [18], [22]. Ở Việt Nam, bệnh XCBHT đứng thứ 2 sau lupus ban đỏ hệ thống trong nhóm bệnh tổ chức liên kết tự miễn. Tại Bệnh viện Da liễu Trung ương từ năm 2009 đến 2013 có 2296 lượt bệnh nhân XCB vào khám, chiếm 0,21% tổng số khám, tương ứng với 21,1% tổng số bệnh nhân bệnh tổ chức liên kết vào khám. Số lượt bệnh nhân nhập viện là 353 lượt, chiếm 3,3% tổng lượt nhập viện và tương ứng với 34,8% số lượt bệnh nhân bệnh tổ chức liên kết phải nhập viện. Như vậy, mặc dù tỷ lệ bệnh không quá cao nhưng bệnh thường nặng, phải nhập viện điều trị, tỷ lệ tử vong cao [23].

1.1.2. Phân loại

Theo phân loại hay sử dụng nhất, XCBHT được phân thành các thể lâm sàng sau [24].

- XCBHT thể lan toả (diffuse cutaneous systemic sclerosis - dcSSc): được đặc trưng bởi thương tổn dày da lan đến trên khuỷu tay và đầu gối. Bệnh

nhân có nguy cơ cao xuất hiện thương tổn nội tạng, đặc biệt là thương tổn phổi, tim và thận. XCBHT thể lan toả tiến triển nhanh có tỷ lệ sống thấp hơn nhiều bệnh ung thư. Vì vậy, vấn đề quan trọng nhất trong thể này là chẩn đoán và quản lý sớm.

- XCBHT thể giới hạn (limited cutaneous systemic sclerosis - lcSSc): được đặc trưng bởi thương tổn dày da bị giới hạn ở đầu ngón lan đến gần khuỷu tay và gần đầu gối. Bệnh thường có biểu hiện mạch máu bao gồm hiện tượng Raynaud nặng, giãn mạch da và ít gặp hơn là tăng áp lực động mạch phổi (PAH - Pulmonary arterial hypertension). Thể bệnh này thường phối hợp với hội chứng CREST bao gồm lắng đọng calci ở da (calcinosis cutis), hiện tượng Raynaud (Raynaud phenomenon), rối loạn nhu động thực quản (Esophageal dysmotility), xơ cứng đầu ngón (Sclerodactyly) và giãn mạch (Telangiectasia).

- XCBHT không có xơ cứng da (systemic sclerosis sine scleroderma): Đây là một thể hiếm gặp trong XCBHT và đặc trưng bởi biểu hiện mạch máu điển hình và xơ hoá nội tạng mà không có thương tổn da. Tiên lượng của thể này tương tự với thể giới hạn.

- XCBHT phối hợp với các bệnh tự miễn khác (Overlap syndromes): Bệnh nhân có một số biểu hiện của XCBHT (hoặc xơ cứng bì khu trú ít gặp hơn) phối hợp với biểu hiện của các bệnh tự miễn khác (lupus ban đỏ hệ thống, viêm bì cơ hoặc viêm khớp dạng thấp). Thể lâm sàng này đặt ra một vấn đề khó khăn trong điều trị và có thể phối hợp với nhiều cơ chế bệnh sinh phức tạp. Điều trị bệnh nhân overlap cần phải theo hướng dẫn điều trị phối hợp với bệnh đi kèm (viêm khớp, viêm cơ...).

Diễn biến tự nhiên hay gặp của XCBHT được chia làm 3 dưới nhóm: giai đoạn sớm, giai đoạn trung gian và giai đoạn muộn. Nhiều nghiên cứu lấy mốc giai đoạn sớm của bệnh là trong vòng 3 năm từ khi bệnh khởi phát [8],

[12], [25]. Trong giai đoạn này, bệnh nhân XCBHT thể lan toả thường tiến triển dày da, cứng khớp, thương tổn đường tiêu hoá, bệnh phổi kẽ (ILD - Interstitial lung disease), bệnh tim và con kịch phát thận [8]. Dày da trong XCBHT thể lan toả thường bắt đầu thoái lui ở giai đoạn trung gian (3-6 năm) và đặc biệt ở giai đoạn muộn (> 6 năm). Ngược lại, dày da trong XCBHT thể giới hạn thường giới hạn ở các phần xa của chi trong nhiều năm. Mặc dù thương tổn cứng khớp,ILD và con kịch phát thận hiếm gặp, biểu hiện PAH và kém hấp thu có thể gặp trong giai đoạn muộn (> 10 năm) mà không thường gặp trong giai đoạn sớm (< 5 năm) hay giai đoạn trung gian (5-10 năm) của XCBHT thể giới hạn [14], [18], [25].

1.1.3. Sinh bệnh học

Nguyên nhân và cơ chế bệnh sinh của XCBHT chưa được biết rõ nhưng nhiều nghiên cứu đã thống nhất bệnh gây ra bởi 3 yếu tố chính là tổn thương các mạch máu nhỏ, sản xuất tự kháng thể, rối loạn chức năng nguyên bào sợi dẫn đến tăng sản xuất quá mức và lắng đọng các sợi xơ [1], [26].

Tình trạng xơ cứng da và các cơ quan nội tạng là do sự tăng sinh quá mức sợi collagen và các thành phần của tổ chức liên kết bởi nguyên bào sợi, trong đó collagen type V đóng vai trò chủ yếu trong sự cứng và xơ hóa của da [27]. Protocollagen prolin hydroxylase là enzym xúc tác sự chuyển prolin gắn peptid thành hydroxyprolin trong chất protocollagen, tiền chất của collagen. Men này có vai trò sinh lý trong tổ chức phôi thai và quá trình liền sẹo nhưng tăng quá mức trong XCBHT [28], [29].

Các nghiên cứu đã đưa ra nhiều yếu tố góp phần vào cơ chế bệnh sinh của XCBHT như yếu tố hormon, môi trường, gen, miễn dịch, mạch máu...

1.1.3.1. Yếu tố gen

Vai trò của gen trong XCBHT được đề cập trong một số nghiên cứu về các gia đình có người bị bệnh và các cặp sinh đôi. Những người có họ hàng bậc

1 bị XCBHT thì nguy cơ mắc bệnh này cao gấp 13 lần so với quần thể chung và có xu hướng có các kháng thể đặc hiệu cho XCBHT. Vài nghiên cứu đã chỉ ra sự kết hợp của HLA-DRB1*1302, DQB1*0604/0605 ở bệnh nhân có kháng thể fibrillarin, HLA SRB1*0301 ở bệnh nhân có kháng thể kháng Pm-Scl [30].

1.1.3.2. Yếu tố hormon

Ảnh hưởng của hormon giới tính đặc biệt là yếu tố nội tiết nữ có liên quan tới quá trình bệnh sinh của bệnh. Bệnh hay gặp ở phụ nữ và thường khởi phát bệnh sau khi sinh đẻ, thai nghén, xảy thai liên tiếp, tiền mãn kinh, rối loạn kinh nguyệt [31], [32].

1.1.3.3. Yếu tố môi trường

Yếu tố môi trường, nghề nghiệp, dị ứng có liên quan đến bệnh sinh của bệnh XCBHT. Theo Erasmus. L (1975), Rodnan G. (1967), tần số mắc bệnh XCBHT cao trong số các công nhân mỏ vàng, mỏ than và công nhân ở một số nghề tiếp xúc nhiều với bụi silic [33], [34]. Bệnh cũng hay gặp ở những công nhân tiếp xúc hàng ngày với các dung môi hữu cơ, axit, kiềm, sản xuất polivinylchloride. Điều đáng quan tâm là bệnh XCBHT thường gặp ở những người bệnh mới được tiêm vaccine đậu mùa, thương hàn... hoặc sau khi chiếu tia rơnghen. Vai trò trực tiếp của yếu tố nhiễm trùng như cúm, viêm họng, viêm phổi... còn đang được bàn cãi [35].

1.1.4. Lâm sàng

1.1.4.1. Hiện tượng Raynaud và thương tổn mạch máu

Hiện tượng Raynaud (Raynaud's phenomenon) được Raynaud quan sát và mô tả vào năm 1863 [36]. Hội chứng này gặp ở 97% số bệnh nhân XCB [37], [38]. Bản chất của hiện tượng này là sự rối loạn vận mạch khi tiếp xúc với tác nhân kích thích như lạnh, căng thẳng, thậm chí thay đổi nhiệt độ ở ngón tay và bàn tay, đôi khi xuất hiện ở ngón chân, mũi, tai. Đây là biểu hiện

lâm sàng đặc trưng nhất trong các rối loạn chức năng mạch máu của XCBHT. Tuy nhiên, hiện tượng Raynaud có thể gặp trên người bình thường. Trên các bệnh nhân bệnh hệ thống, hiện tượng này có thể diễn ra vài chục năm trước các biểu hiện khác.

Các thương tổn mạch máu khác có thể gặp phải trên bệnh nhân XCBHT rất đa dạng: giãn mạch, thay đổi mao mạch vùng quanh móng [39], [40], sẹo rỗ đầu ngón, loét và tắc mạch đầu ngón, loét cẳng chân do rối loạn mạch máu và bệnh lý huyết khối. Trong các thương tổn mạch máu đầu ngón, loét và hoại tử là thương tổn nặng nề nhất, ảnh hưởng nhiều đến chất lượng cuộc sống và khả năng lao động của bệnh nhân.

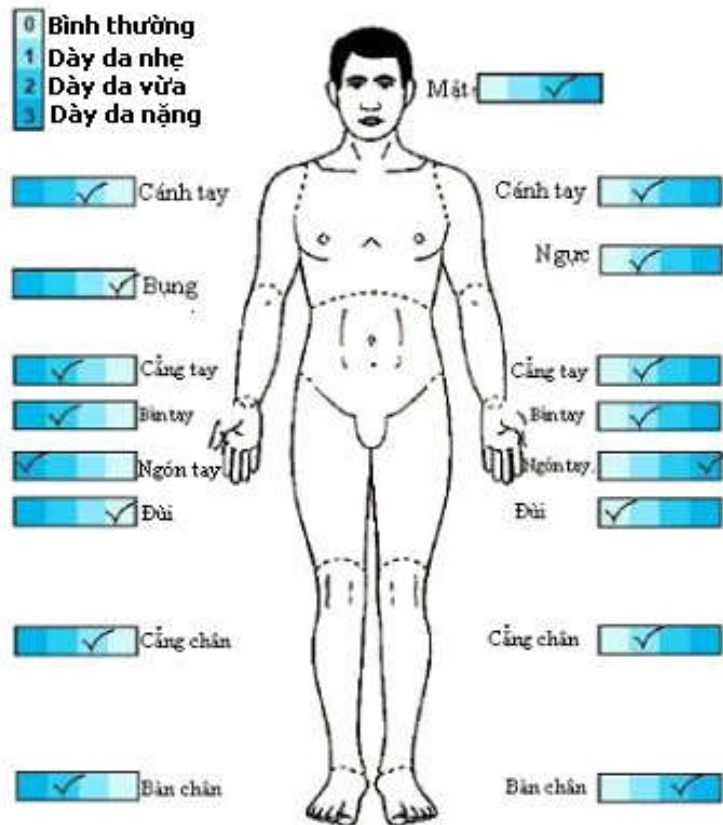
1.1.4.2. Thương tổn dày da

Dày da là biểu hiện thường gặp nhất trong các thương tổn của XCBHT. Tình trạng này do sự tăng sinh và tích tụ quá mức collagen ở da. Tính lan tỏa của thương tổn da là tiêu chuẩn chủ yếu để phân thể lâm sàng. Mức độ nặng của thương tổn da cũng liên quan đến độ nặng của thương tổn nội tạng, tiên lượng bệnh và nguy cơ tàn tật [41], [42].



Ảnh 1.1: Phương pháp sờ da đánh giá độ xơ cứng của da

Về lâm sàng, thương tổn da trong XCBHT rất phong phú. Ngoài biểu hiện dày da và các thương tổn da liên quan đến dày da còn có nhiều thương tổn da khác độc lập với dày da [43]: Phù nề lan tỏa bàn tay-bàn chân, xơ cứng đầu ngón, dày da tiến triển, co cứng da tiến triển, bộ mặt đặc trưng, ngấn hãm lưỡi, calci hóa dưới da, co rút, tăng giảm sắc tố, da màu muối tiêu, ngứa...



Ảnh 1.2: Thang điểm mRSS [44]

Đánh giá độ nặng của thương tổn dày da có ý nghĩa rất quan trọng. Cho đến nay đã có nhiều phương pháp được sử dụng để đánh giá thương tổn dày da, trong đó thang điểm mRSS (modified Rodnan skin score) ra đời từ năm 1979 và được cải tiến năm 1993 được sử dụng nhiều nhất [44], [45]. Theo thang điểm mRSS, tổng diện tích bề mặt da được phân chia thành 17 vị trí

khác nhau: ngón tay, bàn tay, cẳng tay, cánh tay, bàn chân, chân, đùi, mặt, ngực và bụng. Mỗi vùng, số điểm da được đánh giá bằng cách sờ nắn bằng tay. Tại mỗi vị trí độ dày da được tính theo thang điểm 0-3 bằng cách dòn da giữa ngón cái và ngón trỏ hoặc hai ngón tay cái. Điểm số da là 0 nếu không có thương tổn, là 1 nếu dày nhẹ, là 2 nếu dày vừa phải (dày da, không véo lên được nhưng vẫn di chuyển được) và là 3 nếu dày nặng (da bọc xương, dày da, không véo lên được và không di chuyển được). Tại mỗi vị trí giải phẫu điểm được tính là điểm đại diện của vị trí tức là điểm của vùng chiếm diện tích lớn nhất. Tổng số điểm da là tổng điểm của từng vị trí và điểm tối đa là 51. Mức độ dày da nên được ghi chép cẩn thận trong tất cả các lần thăm khám.

1.1.4.3. Thương tổn phổi

Thương tổn phổi gặp 70% trên bệnh nhân XCBHT biểu hiện dưới 2 bệnh chính: bệnh phổi kẽ và tăng áp lực động mạch phổi. Hai bệnh có thể biểu hiện phổi hợp hoặc riêng rẽ [18].

- Bệnh phổi kẽ (Interstitial lung disease - ILD)

ILD là thương tổn phổi hay gặp nhất trên bệnh nhân XCBHT. ILD/XCBHT bao gồm rất nhiều dưới nhóm về mô bệnh học, hay gặp nhất là viêm phế nang kẽ không đặc hiệu và viêm phế nang kẽ thông thường [46]. Bệnh nhân ILD/XCBHT tiên lượng tồi hơn bệnh nhân XCBHT không có thương tổn phổi. ILD sớm thường không có triệu chứng. Triệu chứng hay gặp nhất của ILD/XCBHT là mệt, khó thở (bắt đầu bằng khó thở khi gắng sức) và ho khan. HRCT (High resolution computer tomography – chụp cắt lớp vi tính độ phân giải cao) vùng ngực là một cuộc cách mạng trong đánh giá ILD và trở thành tiêu chuẩn vàng trong chẩn đoán bệnh ILD/XCBHT [47]. HRCT vùng ngực là phim chụp sử dụng máy quét chùm điện tử với lớp cắt lớp mỏng 1,5 mm hoặc 3mm toàn bộ vùng ngực. Có nhiều chỉ số được đưa ra để đánh giá mức độ lan rộng của thương tổn trên HRCT. Điểm HRCT theo tác giả

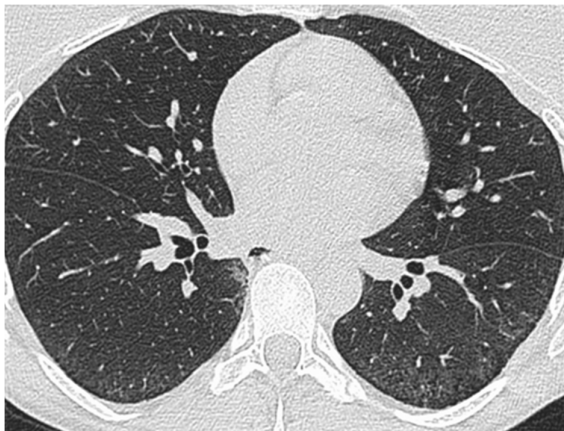
Goh và cộng sự 2008 [48] dễ thực hành và có thể tính dựa trên phim chụp mà không cần phụ thuộc vào máy chụp. Theo tác giả Goh, điểm HRCT được tính dựa trên 5 lớp cắt: 1) lớp cắt tại gốc của các mạch lớn; 2) lớp chia 2 mạch chính; 3) vị trí hợp lưu tĩnh mạch phổi; 4) lớp cắt giữa lớp 3 và lớp 5; 5) lớp cắt nhìn thấy cơ hoành phải. Tại mỗi lớp cắt, mức độ nặng của bệnh được tính dựa vào ảnh dưới đây:



Ảnh 1.3: Lớp cắt tại gốc của các mạch lớn



Ảnh 1.4: Lớp cắt chia 2 mạch chính



Ảnh 1.5: Lớp cắt hợp lưu tĩnh mạch phổi



Ảnh 1.6. Lớp cắt nhìn thấy vòm hoành

- + Độ 0: Kính mờ đơn thuần (ground glass attenuation)
- + Độ 1: Xơ mịn trong thùy (fine intralobular fibrosis)
- + Độ 2: Dạng tổ ong nhỏ (khoảng không khí bên trong ≤ 4 mm đường kính)

+ Độ 3: Dạng tổ ong lớn (khoảng không khí bên trong > 4 mm đường kính)

Tổng điểm là tổng của 5 lớp cắt, nằm trong khoảng 0 -15 điểm [48]

Ngoài ra, các bệnh nhân ILD còn có thể được theo dõi dựa trên xét nghiệm chức năng hô hấp (PFTs - pulmonary function tests). PFTs trên bệnh nhân XCBHT thường được sử dụng là: đo dung tích thở ra gắng sức trong 1 giây đầu tiên (Forced expiratory volume in one second - FEV1), dung tích sống gắng sức (Forced vital capacity - FVC), đo dung tích toàn phổi (Total lung capacity - TLC), dung tích khuếch tán khí CO (Diffusing capacity for carbon monoxide - DLco). Giảm FVC dưới 70% được coi là thay đổi có ý nghĩa [49]. Tuy nhiên, kết quả PFTs phụ thuộc nhiều vào kinh nghiệm của kỹ thuật viên và các tình trạng tim mạch cũng như cơ vùng ngực. Mặc dù FVC và DLco tương quan với HRCT nhưng không đặc hiệu cho ILD hay tiến triển xơ phổi [47] của bệnh nhân XCBHT. Phim Xquang không nhạy với ILD và có thể không cần thiết khi đã chụp cắt lớp vi tính [46].

- Tăng áp lực động mạch phổi (Pulmonary arterial hypertension - PAH)

PAH là biến chứng thường gặp của XCBHT, có thể tiên phát do thương tổn mạch máu phổi (xơ hóa màng trong mạch gây hẹp và phá hủy động mạch và tiểu động mạch) hoặc thứ phát sau bệnh phổi kẽ, thương tổn tim [17]. Đây là một rối loạn tiến triển nhanh gây tử vong nếu không được chẩn đoán và điều trị kịp thời, 45-60% trường hợp PAH tử vong trong 2 năm [18], [49]. PAH/XCBHT được định nghĩa là tình trạng áp lực động mạch phổi trên 25 mmHg khi nghỉ ngơi (đo trên thông tim phải) với áp lực bít \leq 15 mmHg trên bệnh nhân XCBHT không bị thiếu oxy mạn tính do có ILD kèm theo.

Siêu âm tim (SAT) qua thành ngực là xét nghiệm không xâm lấn hay sử dụng nhất trong xác định PAH/XCBHT. SAT rất hữu ích bởi vì nó ước lượng dòng chảy qua van 3 lá (tricuspid regurgitant jet velocity - TR jet), giúp ước

lượng áp lực tâm thu thất phải (the right ventricular systolic pressure - eRSVP) trên áp lực động mạch phổi thì tâm thu (pulmonary artery systolic pressure - PAPs). Trong suốt thời gian theo dõi, nên tiến hành SAT 1-2 năm/lần trên bệnh nhân có nguy cơ PAH cao và/hoặc mới xuất hiện hoặc suy giảm DLco thấp bởi vì bệnh tiến triển kéo dài là một yếu tố nguy cơ của PAH/XCBHT. Trên SAT qua thành ngực, bệnh nhân có PAPs ≥ 35 mmHg được coi là có PAH. Nếu có dấu hiệu gợi ý PAH/XCBHT trên lâm sàng, PFTs và SAT, cần tiến hành thông tim phải để khẳng định chẩn đoán [50]. Thông tim phải là tiêu chuẩn vàng để chẩn đoán, tuy nhiên, đây là một phương pháp đánh giá có xâm nhập nên không được đưa vào tiến hành thường quy.

1.1.4.4. Thương tổn đường tiêu hoá

Triệu chứng hay gặp nhất của bệnh nhân XCBHT trên đường tiêu hoá là trào ngược dạ dày thực quản, tăng sinh vi khuẩn đường ruột và bán tắc ruột mạn tính [51]. Ngoài ra, xơ hoá có thể dẫn đến suy dinh dưỡng do giảm hấp thu. Bất kỳ vị trí nào của đường tiêu hoá từ miệng đến hậu môn đều có thể bị ảnh hưởng trong XCBHT. Các triệu chứng phổ biến khác có thể gặp bao gồm: nuốt nghẹn, khản giọng, ho, táo bón và tiêu chảy xen kẽ...[16]. Các bệnh nhân cần được khám và hỏi triệu chứng cơ năng về trào ngược dạ dày thực quản, nuốt nghẹn và rối loạn tiêu hoá... Trong trường hợp triệu chứng nặng lên, bệnh nhân cần được nội soi đường tiêu hoá và phối hợp với bác sĩ chuyên khoa tiêu hoá để theo dõi điều trị. Trong các thương tổn đường tiêu hoá, thương tổn nuốt nghẹn là triệu chứng cơ năng và thực thể nặng nề nhất.

1.1.4.5. Thương tổn thận

Thương tổn thận thường không có biểu hiện lâm sàng. Cơ kịch phát thận thường xảy ra trên bệnh nhân XCBHT lan toả và ở giai đoạn sớm của bệnh hoặc do tăng huyết áp nặng, bệnh mạch máu, thiếu máu tan máu và giảm

tiểu cầu, phù phổi, đau đầu, mờ mắt, bệnh não do cao huyết áp. Suy thận là một nguyên nhân tử vong của bệnh XCBHT [49]. Con bệnh thận kịch phát có nguy cơ cao trên những bệnh nhân XCBHT thương tổn da lan toả trong 2-3 năm đầu bị bệnh. Con bệnh thận kịch phát đặc trưng bằng tăng huyết áp ác tính và có thể tiến triển nhanh đến suy thận. Cơ chế của tăng huyết áp là sự hoạt hoá hệ rennin - angiotensin, do giảm dòng máu tới thận thứ phát do suy tim hay giảm thể tích tuần hoàn do dùng lợi niệu quá mức...[21]. Nên theo dõi dự phòng thương tổn thận và cơn kịch phát thận hàng tháng bằng cách đo huyết áp và tổng phân tích nước tiểu. Mọi bất thường trên tổng phân tích nước tiểu trên 2 lần liên tiếp đều cần được ghi nhận và theo dõi. Trong trường hợp bất thường dai dẳng, bệnh nhân nên được chuyển khám chuyên khoa thận tiết niệu để phối hợp điều trị.

1.1.4.6. Thương tổn cơ xương khớp

Khoảng 50-60% bệnh nhân XCBHT có biểu hiện ở khớp: đau nhiều khớp thường ở các khớp lớn và không có biến dạng khớp. Đau khớp thường mất đi sau 6 đến 24 tháng mà không để lại di chứng. Biểu hiện thương tổn cơ được đánh giá bằng các dấu hiệu lâm sàng như: cứng, teo cơ, giảm cơ lực, thường xuất hiện khi có thương tổn da nặng. Các biểu hiện sớm nhất của cơ xương khớp trên bệnh nhân XCBHT là sưng bàn tay, đau khớp, đau cơ và mệt mỏi. Đau khớp và co rút là hậu quả của xơ hóa gân và các tổ chức quanh khớp khác. Biểu hiện viêm khớp rất ít gặp nhưng có thể gặp viêm cơ [20].

Bệnh nhân XCBHT thường có thương tổn thần kinh cơ với các biểu hiện sau: Bệnh thần kinh sọ, bệnh thần kinh do chèn ép, bệnh thần kinh ngoại biên, bệnh thần kinh da và thần kinh tự động, viêm cơ và bệnh cơ, đau đầu, động kinh, đột quy, bệnh rã thần kinh và bệnh tuỷ thần kinh. Các bệnh nhân bị đau khớp cần được hỏi bệnh và khám thực thể hàng tháng để đánh giá tiến triển của đau khớp [11], [12]. Các bệnh nhân đau cơ cần được khám cơ lực,

xét nghiệm men cơ (CK), làm điện cơ kim tìm thương tổn cơ nguồn gốc thần kinh, xét nghiệm anti-Jo1 loại trừ thương tổn overlap với bệnh viêm bì cơ/viêm đa cơ và sinh thiết cơ (nếu cần) [11], [12]. Trong trường hợp có bất thường, bệnh nhân được chuyển khám chuyên khoa cơ xương khớp hoặc thần kinh để phối hợp điều trị.

1.1.4.7. Thương tổn khác

Ngoài các thương tổn hay gặp trên, bệnh nhân XCBHT có thể gặp thương tổn ở mọi cơ quan như cơ tim, hệ thống thần kinh, sinh dục...[18]. Các thương tổn này sẽ được đánh giá trong một nghiên cứu dài hơn với cỡ mẫu lớn hơn để số liệu có tính đại diện hơn.

1.1.5. Tiêu chuẩn chẩn đoán

Tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT của Hội khớp học Mỹ (American College of Rheumatology - ACR) năm 1980 và tiêu chuẩn của Leroy và Medsger 2001 được sử dụng rộng rãi trong một thời gian dài. Tuy nhiên, các tiêu chuẩn này có nhược điểm là độ nhạy thấp, bỏ sót nhiều bệnh nhân XCBHT nhất là trong giai đoạn đầu. Vì vậy, ACR và Liên đoàn chống bệnh thấp khớp châu Âu (The European League Against Rheumatism - EULAR) năm 2013 đã phối hợp và xây dựng lên một tiêu chuẩn mới có độ nhạy và độ đặc hiệu cao hơn, nhất là trong giai đoạn sớm của bệnh - khi thương tổn còn giới hạn ở da, gọi là “Tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT ACR và EULAR 2013” [52]. Theo tiêu chuẩn mới, chẩn đoán xác định XCBHT sẽ được đưa ra khi tổng số điểm tối đa của các tiêu chuẩn ≥ 9 điểm (bảng 2.1).

1.1.6. Điều trị

1.1.6.1. Cập nhật các hướng dẫn mới trong điều trị

Hiện nay vẫn chưa có một hướng dẫn điều trị toàn cầu cho bệnh XCBHT. Trên cơ sở bệnh XCBHT là một bệnh có thương tổn nhiều cơ quan nội tạng, các hướng dẫn điều trị bệnh tổng hợp sẽ dành cho các bác sỹ ở nhiều

chuyên khoa như da liễu, cơ xương khớp, tim mạch, hô hấp, tiêu hoá, thận tiết niệu, thần kinh ... và cả các bác sỹ đa khoa, bác sỹ chăm sóc sức khoẻ gia đình. Trong nhiều trường hợp bệnh diễn biến phức tạp và thương tổn nặng nề từng cơ quan riêng biệt, việc điều trị bệnh sẽ phải kết hợp trên hướng dẫn điều trị của từng chuyên khoa. Có 2 hướng dẫn điều trị tổng hợp có phạm vi sử dụng rộng rãi công bố gần đây nhất là: Hướng dẫn điều trị bệnh XCBHT của Liên đoàn chống bệnh thấp khớp châu Âu (European League Against Rheumatism - EULAR) năm 2009 [53] và mới hơn là Hướng dẫn điều trị bệnh XCBHT của Anh (The British Society for Rheumatology - BSR and British Health Professionals in Rheumatology - BHRP) năm 2016 [22]. Ngoài ra, còn có một số hướng dẫn điều trị khác như Hướng dẫn điều trị XCBHT của Hội khớp học Brazil năm 2013 [54], hướng dẫn chẩn đoán và điều trị tăng áp lực động mạch phổi của Hội tim mạch châu Âu (European Society of Cardiology - ESC) [17], Hội phổi châu Âu (European Respiratory Society - ERS) [46]...

1.1.6.2. Nguyên tắc điều trị và mục tiêu điều trị

Bệnh XCBHT biểu hiện rất đa dạng, thương tổn nhiều cơ quan nội tạng nên điều trị bệnh phải dựa trên từng bệnh nhân cụ thể, dựa vào thể bệnh và loại thương tổn nội tạng. Đây là một bệnh lý có sinh bệnh học phức tạp, điều trị khó khăn và chưa có phác đồ khỏi hoàn toàn. Các thương tổn nội tạng ở bệnh nhân XCBHT làm tiên lượng bệnh nặng nề và tăng nguy cơ tử vong. Vì vậy, các phương pháp điều trị hiện tại chủ yếu là kiểm soát triệu chứng nhằm bảo vệ các thương tổn nội tạng [18], [22], [49].

Điều trị nên được bắt đầu sớm nhất có thể để làm chậm tiến triển bệnh trước khi thương tổn nặng nề hơn. Bệnh nhân có thương tổn da lan toả cần điều trị tích cực vì tăng nguy cơ xuất hiện biến chứng. Quản lý XCBHT thể lan toả giai đoạn sớm cần phối hợp nhiều chuyên khoa. Tất cả các bệnh nhân cần được sàng lọc thường quy theo lịch các biến chứng nội tạng chính, đặc

biệt là ILD, PAH và thương tổn thận... để đảm bảo phát hiện sớm thương tổn nội tạng.

Bảng 1.1: Tóm tắt chỉ định điều trị XCBHT [22]

Thương tổn	Điều trị
ILD	<ul style="list-style-type: none"> - Truyền tĩnh mạch CYC được khuyến cáo mạnh nhất phối hợp với MMF dùng như thuốc duy trì sau CYC - HSCT trong trường hợp nặng và không có thương tổn nội tạng khác gây chống chỉ định
PAH	<ul style="list-style-type: none"> - Ambrisentan, Bosentan, Epoprostenol tĩnh mạch, Iloprost xịt, Macitentan, Riociguat, Sildenafil, Tadalafil, Treprostinil dưới da-xịt - Epoprosterol tĩnh mạch (trong trường hợp nặng)
Cơ kịch phát thận	Thuốc ức chế men chuyển
Da	MTX
Raynaud	<ul style="list-style-type: none"> - Chẹn kênh canxi - Nên sử dụng sildenafil trước prostanoids và bosentan - Trong trường hợp loét đầu ngón hoạt động nặng, nên dùng prostanoid truyền tĩnh mạch. - Trên bệnh nhân loét đầu ngón tái phát, mạn tính, xem xét dùng ức chế phosphodiesterase nhóm 5 hoặc truyền tĩnh mạch prostanoid và kháng endothelin (bao gồm Bosentan)
Dạ dày ruột	<ul style="list-style-type: none"> - Dự phòng trào ngược, loét: ức chế bơm proton - Điều trị trào ngược, nuốt khó: prokinetic agents - Giảm hấp thu do rối loạn tiêu hoá: kháng sinh

Có rất nhiều loại thuốc ức chế miễn dịch và thuốc chống xơ hoá đang được sử dụng nhưng hiệu quả còn cần phải đánh giá nhiều hơn. Trong hoàn

cảnh đó, việc lựa chọn thuốc điều trị, quản lý tác dụng phụ của thuốc và đánh giá hiệu quả điều trị ... là vấn đề sống còn cho bệnh nhân XCBHT.

Một số điểm nhấn trong các khuyến cáo gần đây nhất cho bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm cần lưu ý là:

- Bác sĩ đa khoa cần biết cách phát hiện và chẩn đoán XCBHT thể lan toả sớm nhất có thể và chuyển bệnh nhân đến các cơ sở chuyên khoa phù hợp.

- Việc lựa chọn thuốc điều trị và đường dùng nên dựa trên đánh giá cẩn thận về lâm sàng liên quan đến thương tổn nội tạng và nguy cơ tác dụng phụ.

- Không nên sử dụng d-Penicilamin vì không có hiệu quả và gây độc tính lên gan [55]

- Bệnh nhân XCBHT thể lan toả giai đoạn sớm nên được sử dụng sớm các thuốc ức chế miễn dịch như methotrexate (MTX), mycophenolate mofetil (MMF) hoặc tiêm tĩnh mạch cyclophosphamide (CYC).

1.1.6.3. Một số nhóm thuốc điều trị thường được sử dụng

Sau đây là một số nhóm thuốc điều trị thường được sử dụng trong giai đoạn sớm của bệnh:

- Glucocorticoids

Corticosteroids là một trong các thuốc được sử dụng nhiều nhất cho bệnh nhân XCBHT. Chính nhờ tác dụng chống viêm và ức chế miễn dịch mạnh nên corticoid đã được sử dụng nhiều trong các bệnh lý tổ chức liên kết tự miễn, đặc biệt hiệu quả trong bệnh lupus ban đỏ hệ thống. Vai trò của thuốc trong bệnh lý XCBHT cho đến nay vẫn chưa được đánh giá đầy đủ. Theo nhiều tác giả, thuốc có vai trò kiểm soát viêm rất tốt trong giai đoạn đầu của bệnh, giảm tình trạng phù nề, hạn chế xơ hóa ở da, cơ quan nội tạng,

ngược lại ở giai đoạn tổn thương da xơ cứng thì thuốc ít có tác dụng. Một số nghiên cứu cho thấy glucocorticoids đường toàn thân không làm thay đổi mạng lưới cytokin của bệnh nhân XCBHT cho thấy hạn chế của thuốc này trong việc chữa khỏi bệnh [11]. Như vậy, thuốc giúp cải thiện triệu chứng lâm sàng mà không cắt đứt vòng xoắn bệnh lý và liều thuốc tùy thuộc vào giai đoạn bệnh và triệu chứng của bệnh nhân, không nhất thiết phải duy trì kéo dài. Các hướng dẫn điều trị XCBHT hiện nay không đưa glucocorticoids vào điều trị khuyến cáo [22], [53]. Bệnh nhân XCBHT thể lan toả giai đoạn sớm có thể sử dụng liều 20-30 mg/ngày prednisolone uống hoặc liều tương đương. Tuy nhiên, liều prednisolone > 15 mg/ngày làm tăng cơn kịch phát thận trên bệnh nhân XCBHT và mọi liều glucocorticoids đều có thể làm tăng nguy cơ biến chứng này [21], [56]. Ngoài ra, nên hạn chế dùng glucocorticoids trên bệnh nhân viêm cơ, viêm phế nang xơ hoá giai đoạn hoạt động, viêm thanh mạc có triệu chứng, viêm khớp kháng trị và viêm cân cơ. Trong những trường hợp trên, nên sử dụng liều thấp nhất có hiệu quả, tốt nhất là dưới 10 mg/ngày liều prednisone hoặc glucocorticoids khác liều tương đương [21], [56], [57].

- **Methotrexate (MTX)**

MTX là một thuốc ức chế hoạt động chuyển hoá do ức chế cạnh tranh với men dihydrofolate reductase, dẫn đến ảnh hưởng lên tổng hợp axit deoxyribonucleic và nucleotide. Mặc dù MTX là một chất gây độc tế bào mạnh (sử dụng trong điều trị ung thư), sử dụng MTX với liều thấp kèm theo bổ sung acid folic gặp ít tác dụng phụ và do đó là một thuốc phù hợp để điều trị các bệnh tự miễn có viêm. MTX còn có cơ chế điều biến miễn dịch bao gồm: giảm sản xuất cytokin tiền viêm, giải phóng adenosine ra ngoài tế bào và ức chế hoạt hoá lympho T do kháng nguyên [58]. Đây cũng là thuốc duy nhất được EULAR/EUSTAR khuyến cáo trong điều trị thương tổn da trên

bệnh nhân XCBHT [53]. MTX còn được sử dụng trên bệnh nhân XCBHT có viêm khớp và viêm cơ.

- Azathioprine (AZA)

AZA ức chế tăng sinh, biệt hoá tế bào viêm bao gồm lympho T, lympho B và ức chế sự hình thành tự kháng thể thông qua ảnh hưởng lên tổng hợp nhân purine do hoạt động chuyển hoá của nó (6-mercaptopurine và 6-thioinosinic acid). Trên bệnh nhân XCBHT có ILD, AZA làm ổn định chức năng phổi nhưng không dự phòng sự nặng lên của ILD giống như CYC [22].

- Thuốc chẹn kênh canxi

Các thuốc chẹn kênh canxi được sử dụng chủ yếu trong các nghiên cứu gần đây là nifedipine và diltiazem. Việc lựa chọn sử dụng loại thuốc nào có thể dựa trên nhịp tim của bệnh nhân. Bệnh nhân nhịp hơi chậm có thể thích hợp với nifedipine. Bệnh nhân nhịp hơi nhanh có thể thích hợp với diltiazem. Liều dùng của các thuốc này thường tương đối cao để có tác dụng trong PAH, có thể tới 120-240 mg/ngày với nifedipine và 240-720 mg/ngày với diltiazem. Đối với những bệnh nhân có phản ứng giãn mạch, nên bắt đầu bằng liều thấp (ví dụ nifedipine liều 20 mg loại phóng thích chậm dùng 1 lần/ngày hoặc diltiazem 60 mg dùng 2 lần/ngày), sau đó tăng liều dần dần một cách thận trọng trong các tuần tiếp theo cho đến khi đạt đến liều tối đa có thể dung nạp được. Chỉ có khoảng 10-15% những trường hợp PAH tiên phát đủ đạt các chỉ tiêu về “đáp ứng giãn mạch cấp dương tính” và chỉ khoảng 50% trong số đó có đáp ứng lâu dài về mặt lâm sàng và huyết động [17].

- Chất đối kháng thụ thể endothelin-1 (ET-1)

ET-1 là một peptide được sản xuất chủ yếu bởi các tế bào nội mạc mạch máu, có khả năng gây co mạch mạnh và là chất gây gián phân đối với các tế bào cơ trơn. ET-1 gắn với 2 loại thụ thể: ET A và ET B. ET A là thụ

thể ở các tế bào cơ trơn, trong khi ET B thấy ở cả các tế bào nội mạch và ở các tế bào cơ trơn. Sự hoạt hoá của ET A và ET B trên tế bào cơ trơn gây tác dụng co mạch và gây gián phân ET-1. Kích thích ET B thụ thể ở tế bào nội mạch làm mất ET-1, phóng thích nitơ oxit (NO) và prostacyclin. Sự hoạt hoá hệ thống ET-1 được thấy cả trong máu và trong mô phổi ở những bệnh nhân PAH. Bằng chứng rõ ràng về sự hoạt hoá của hệ thống ET trong PAH đã tạo nên cơ sở thuyết phục để tiến hành điều trị chất đối kháng thụ thể của ET-1 trên bệnh nhân PAH. Các thuốc đối kháng thụ thể bosentan là chất đối kháng cả hai thụ thể ET A và ET B, hiệu quả bằng đường uống và là phân tử đầu tiên của nhóm thuốc này được tổng hợp. Bosentan cải thiện khoảng cách đi bộ trong 6 phút ở những bệnh nhân PAH tiên phát nhưng không giảm nhiều trên bệnh nhân XCBHT. Liều bosentan khuyến cáo là 125 mg/ngày. Cần kiểm tra chức năng gan ít nhất mỗi tháng 1 lần ở những bệnh nhân dùng bosentan. Phụ nữ trong độ tuổi sinh nở dùng bosentan cần tránh thai tốt vì thuốc có thể gây quái thai [17].

1.2. VAI TRÒ CỦA CÁC CYTOKIN TRONG XƠ CỨNG BÌ HỆ THỐNG

1.2.1. Khái niệm về cytokin

1.2.1.1. Lịch sử

Ban đầu, các nhà nghiên cứu gọi tên các chất được tế bào lympho sản xuất ra là lymphokin, các chất do đại thực bào hoặc bạch cầu đơn nhân sản xuất ra là monokin. Tuy nhiên, các nghiên cứu sau đó đã nhanh chóng chỉ ra một số loại cytokin được sản xuất bởi nhiều loại tế bào. Vì vậy, hiện nay, các tác giả gọi chung các chất trung gian hóa học này là cytokin. Cytokin là các protein hoặc glycoprotein điều hoà có trọng lượng phân tử thấp được tiết bởi các tế bào bạch cầu và nhiều loại tế bào khác trong cơ thể đáp ứng với một số kích thích. Các cytokin gắn vào các thụ thể đặc hiệu dành cho chúng trên màng các tế bào đích làm khởi động con đường dẫn truyền tín hiệu vào bên trong tế bào và cuối cùng dẫn đến thay đổi biểu hiện gen của tế bào đích. Tế bào nào sẽ là tế bào đích của cytokin được thể hiện bởi sự có mặt của thụ thể

đặc hiệu dành cho cytokin trên bề mặt tế bào ấy. Một mặt khác, nhiều cytokin được các nhóm nghiên cứu phát hiện ra cùng lúc nên có nhiều tên gọi khác nhau. Ví dụ: interleukin-6 (IL-6) ban đầu được xác định là một yếu tố tăng cường sản xuất lympho B, đóng vai trò như một yếu tố tăng trưởng (Hybridoma growth factor: HGF) và hoạt động như một chất phản ứng giai đoạn cấp tính. Kết quả là IL-6 còn được gọi bởi tên khác như yếu tố kích thích lympho B (B-cell stimulating factor: HGF hay BSF). Cho đến nay, nhiều cytokin vẫn được gọi bằng các danh pháp mô tả. Ví dụ: yếu tố hoại tử u (Tumor necrosis factor: TNF), yếu tố tăng trưởng tiểu cầu (Platelet – derived growth factor: PDGF)...[59].

1.2.1.2. Vai trò của cytokin trong hệ miễn dịch bình thường

Hệ miễn dịch là một mạng lưới phức tạp để bảo vệ cơ thể chống lại các mối đe dọa từ bên ngoài (ví dụ: vi khuẩn, virut...) và bên trong (ví dụ: tế bào ung thư). Các tế bào miễn dịch sản xuất ra một loạt các sản phẩm cytokin cho phép chúng giao tiếp với nhau và khởi động một loạt các phản ứng để tấn công vật lạ.

- **Đáp ứng Th1** dẫn đến phản ứng quá mẫn và phản ứng miễn dịch tế bào như hình thành u hạt trong nhiễm lao, kích thích bạch cầu, kích hoạt gây độc tế bào và chức năng thực bào. Tế bào Th1 tiết ra IL-2, interferon-gamma (IFN- γ), TNF- α và được kích thích bởi IL-2 và IL-12. Đáp ứng Th1 được điều hòa bởi các cytokin tại chỗ thuộc họ IL-12 bao gồm IL-12, IL-27 và IL23 [60].

- **Phản ứng Th2** dẫn đến tăng cường miễn dịch dịch thể với sự sản xuất kháng thể. Phản ứng này thường gặp trong trường hợp nhiễm virut, vi khuẩn và ký sinh trùng. Tế bào Th2 sản xuất ra IL-4, IL-5, IL-10 và IL-13 . Đáp ứng Th2 được kích thích bởi các cytokin địa phương như IL-4, IL-33 và IL-18 [60].

- **Vai trò của Th17** trong miễn dịch vẫn chưa rõ ràng. Các tế bào này có thể tham gia vào các phản ứng sớm để tiêu diệt vi khuẩn và nấm. IL-21 làm

khuyếch đại Th17. Sự phát hiện ra Th17 đã làm thay đổi mô hình bệnh tật liên quan đến Th1/Th2 cổ điển trước đây [61]. Th17 sản xuất ra IL-17A cùng với nhiều cytokin khác là IL-17F, IL-22, IL-26 và chemokine C-C motif ligand 20 (CCL20). Về chức năng, IL-17 thúc đẩy sản xuất các peptides kháng khuẩn, do đó hình thành một liên kết giữa đáp ứng miễn dịch bẩm sinh và mắc phải [62].

- Treg (T regulation - Lympho T điều hòa)

Các lympho T điều hòa không thể thiếu trong việc duy trì tự dung nạp miễn dịch do khả năng ức chế lympho T tự phản ứng. Do đó, rối loạn chức năng Treg sẽ tham gia vào cơ chế bệnh sinh của nhiều bệnh tự miễn. Giống như các dòng lympho khác, Treg bị ảnh hưởng của nhiều loại cytokin và hiểu biết về mạng lưới cytokin ảnh hưởng đến Treg sẽ hứa hẹn tìm ra được các chế phẩm sinh học điều trị bệnh tự miễn [63].

- Lympho B

Lympho B thường bắt đầu bị kích hoạt bằng sự tương tác của một kháng nguyên với lympho B nhờ sự biểu hiện của một số phân tử bề mặt như CD19 và CD22. Sau đó, lympho B sản xuất kháng thể phụ thuộc vào phản ứng CD40 và các cytokin do lympho T tiết ra [64].

Sự hiện diện của các cytokin sẽ góp phần xác định vai trò tham gia của loại tế bào miễn dịch trong từng bệnh. Ví dụ: sự hiện diện của IFN- γ hoặc IL-12 khẳng định bệnh viêm liên quan Th1; IL-10 và IL-4 trong bệnh viêm liên quan Th2. Trên người, sự tham gia của các tế bào T không được phân biệt rạch ròi trong từng bệnh và có thể gặp sự kết hợp tham gia của nhiều loại cytokin. Phương pháp điều trị liên quan đến cytokin đang là hướng phát triển chính của công nghiệp dược phẩm và công nghệ sinh học trong nhiều bệnh, đặc biệt là bệnh tự miễn dịch.

1.2.1.3. Cơ chế hoạt động của cytokin

Các tế bào có thể giao tiếp với nhau bằng cách tiếp xúc trực tiếp hoặc thông qua các chất trung gian hóa học. Các chất trung gian hóa học hay còn

gọi là cytokin này gây ảnh hưởng lên các tế bào xung quanh hoặc theo tuần hoàn ảnh hưởng đến các cơ quan xa hơn. Khi gặp tế bào đích, cytokin hòa tan liên kết với thụ thể đặc hiệu trên bề mặt tế bào mục tiêu và truyền tín hiệu làm thay đổi chức năng của tế bào. Thường thì ái lực giữa cytokin và thụ thể dành cho cytokin là rất cao. Chính vì có ái lực cao mà các cytokin có tác động sinh học ngay ở các nồng độ rất thấp tới mức picomole. Hoạt động của các cytokin có thể phân thành các loại sau đây: một số cytokin hoạt động theo kiểu tự tiết (autocrine) có nghĩa là chúng sẽ bám lên chính tế bào đã tiết ra chúng; một số khác hoạt động theo kiểu cận tiết (paracrine) có nghĩa là chúng bám vào các tế bào lân cận và một số trường hợp các cytokin thể hiện hoạt động kiểu nội tiết (endocrine), nghĩa là chúng bám vào các tế bào ở xa nơi chế tiết. Tác dụng của các cytokin có thể theo các kiểu đa dụng (pleiotropy): các cytokin gây ra các hoạt tính sinh học khác nhau trên các tế bào đích khác nhau; đồng dụng (redundancy): các cytokin khác nhau có thể gây ra những chức năng tương tự và điều này làm cho khó có thể quy một hoạt tính sinh học biết trước cho một loại cytokin nào đó; hiệp đồng (synergy): khi hai cytokin cùng tác động thì gây ra hiệu quả lớn hơn tổng tác động của từng cytokin khi tác động riêng lẻ; hoặc đối kháng (antagonism): một cytokin này có tác dụng ức chế một cytokin khác. Hoạt động của một cytokin trên một tế bào đích tương ứng nhìn chung sẽ điều hoà sự xuất hiện của các thụ thể dành cho cytokin và xuất hiện các cytokin mới, những cytokin mới này sẽ tác động trên các tế bào khác tạo nên một phản ứng dây chuyền. Bằng cách đó đáp ứng đặc hiệu của một lympho với một kháng nguyên sẽ ảnh hưởng đến hoạt tính của hàng loạt tế bào cần thiết cho việc sinh ra một đáp ứng miễn dịch hữu hiệu.

1.2.1.4. Các phương pháp định lượng cytokin

Có nhiều phương pháp định lượng cytokin trong máu hoặc trong tổ chức. Các cytokin hoạt động thông qua tiếp xúc trực tiếp rất khó để định lượng. Các cytokin hòa tan được định lượng dễ dàng hơn. Hiện nay, có 3 nhóm xét nghiệm để đánh giá cytokin:

- **Xét nghiệm sinh học:** là xét nghiệm nhạy cảm nhất với một cytokin cụ thể. Người ta dựa vào việc kiểm tra hiệu quả của một cytokin lên một dòng tế bào bằng cách đo lường các phản ứng xảy ra khi một tế bào tiếp xúc với một cytokin. Mặc dù xét nghiệm này rất nhạy cảm nhưng lại khó thực hiện và không chính xác vì các phản ứng tế bào có thể xảy ra với nhiều loại cytokin khác nhau và các chất ức chế hoạt động của cytokin như prostaglandin, các thụ thể hòa tan hoặc các thuốc đối kháng tự nhiên có thể làm ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm.

- **Xét nghiệm miễn dịch:** định lượng nồng độ của một loại cytokin bằng cách sử dụng kháng thể phù hợp thông qua kỹ thuật ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay). Xét nghiệm miễn dịch thường đơn giản hơn và dễ làm nhiều mẫu hơn xét nghiệm sinh học nhưng có thể gặp dương tính giả (kháng thể phản ứng chéo) hoặc âm tính giả đặc biệt trong bệnh tự miễn. Các nguyên nhân làm ảnh hưởng đến kết quả của xét nghiệm miễn dịch là: cytokin có thể bị giáng hóa bởi các protease hoặc bị gắn vào các thụ thể trên tế bào và thụ thể hòa tan, các cytokin bị hấp thụ bởi các protein như glycosaminoglycans. Vì vậy, một số tác giả định lượng cytokin dựa vào RNA thông tin (Mesenger Ribonucleic acid - mRNA) tương ứng. Tuy nhiên, phương pháp này khó khăn và cũng vẫn gây sai số.

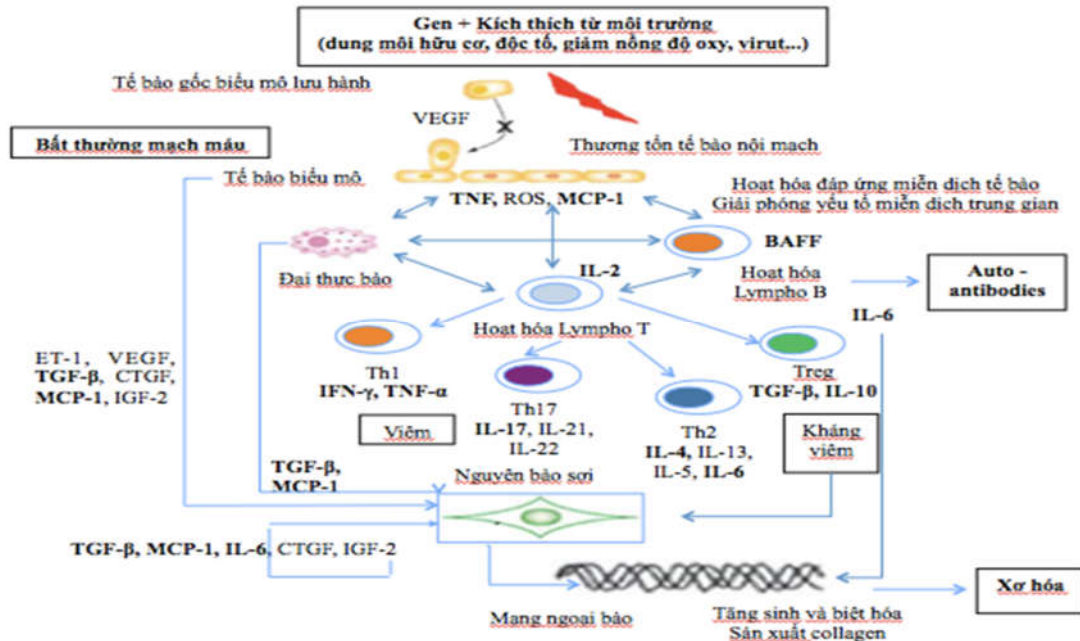
- **Xác định cytokin trong mô:** Phương pháp tốt nhất để xác định cytokin trong mô là nhuộm miễn dịch huỳnh quang. Ngoài ra, cũng có thể định lượng cytokin trong mô bằng định lượng mRNA từ dịch tinh chế của mảnh sinh thiết mô.

1.2.2. Vai trò của cytokin trong các rối loạn của bệnh XCBHT

1.2.2.1. Tổn thương mạch máu

Tổn thương mạch máu là đặc điểm quan trọng đầu tiên trong sinh bệnh học của XCBHT, tổn thương tế bào nội mô của các động mạch nhỏ và mao mạch xảy ra ở giai đoạn sớm của bệnh. Nguyên nhân gây tổn thương nội

mô hiện nay vẫn chưa rõ, có thể xuất phát từ rối loạn do gen bị kích thích bởi một số yếu tố khởi phát của môi trường như nhiễm khuẩn, tia cực tím... Thành mạch bị tổn thương mất cực tính dễ ngưng kết tiểu cầu và tăng quá trình đông máu dẫn tới tắc mạch [65].



Sơ đồ 1.1: Cơ chế bệnh sinh của bệnh xơ cứng bì hệ thống [5]

Sự tổn thương mạch máu kích thích tăng sinh tế bào trong lòng động mạch nhỏ làm diện tích lòng mạch bị thu hẹp và dòng máu tới mô giảm dẫn tới thiếu oxy và thiếu máu tổ chức mạn tính, làm gia tăng sản xuất các chất có tính oxy hoá (ROS - Reactive oxygen species), làm giảm hyaluronan và gây ra quá trình chết theo chương trình (apoptosis). Cùng với đó, sự mất cân bằng giữa các chất giãn mạch (NO, prostacyclin, calcitonin gene-related peptide) và các chất gây co mạch (ET 1, angiotensin II, α 2-adrenoreceptors) cũng gây thiếu máu tổ chức. Mô thiếu máu phản ứng bằng cách giải phóng các yếu tố tăng sinh mạch máu (VEGF) và các chất trung gian phản ứng viêm có tác dụng hoạt hóa nguyên bào sợi, tăng sản xuất lắng đọng sợi xơ, đồng thời tạo vòng xoắn bệnh lý tổn thương mạch – tăng sản xuất xơ. Vòng xoắn này biểu hiện đầu tiên ở mao mạch nền móng và

đầu ngón gây hiện tượng Raynaud, sau đó ảnh hưởng đến các cơ quan khác như thận, phổi gây các biến chứng nguy hiểm. Quá trình này thông qua các thụ thể Toll-like (TLR) gây kích thích hệ thống miễn dịch bẩm sinh, kích hoạt lympho B, lympho T, làm xuất hiện các cytokin [66], [67] và sản xuất nhiều loại tự kháng thể. Vì vậy, cytokin và các tự kháng thể là các chất trung gian hoá học chính liên quan đến thương tổn cơ bản của bệnh và cũng là đích điều trị bệnh [14]. Các nghiên cứu trên thế giới về cytokin trong bệnh XCBHT tập trung vào từng dòng tế bào.

1.2.2.2. Phản ứng viêm cấp, vai trò của đại thực bào và các cytokin có nguồn gốc đại thực bào

Các đại thực bào có nguồn gốc từ tế bào đơn nhân, là chìa khoá điều hoà và cảm ứng tế bào miễn dịch. Nghiên cứu đầu tiên tập trung vào tế bào đơn nhân/đại thực bào hoạt hoá trên bệnh nhân XCBHT là của York và cộng sự năm 2007 [68]. Sau đó, nhiều nghiên cứu đã chứng minh đại thực bào trong máu bệnh nhân XCBHT hoạt động trong giai đoạn sớm của bệnh theo mô hình M2, làm tăng phản ứng viêm và tăng xơ hoá phổi trên mô hình chuột [69], [66]. Vì vậy, một trong các giả thuyết được đưa ra là tế bào đơn nhân/đại thực bào của bệnh nhân XCBHT có thể tiết các cytokin tiền viêm và/ hoặc tiền xơ. Đại thực bào hoạt hoá theo con đường cổ điển M1 có nguồn gốc từ sự kích thích của IFN- γ , TNF nhằm diệt khuẩn, diệt tế bào ung thư, có khả năng sản xuất ra các cytokin tiền viêm cao (TNF, IL-1, IL-12, IL-23...), thúc đẩy phản ứng Th1, Th17 gây phản ứng viêm cấp và tổn thương tổ chức. Đại thực bào hoạt hoá theo con đường M2 phát triển trong môi trường Th2, tiết IL-4 nhằm chống lại nhiễm ký sinh trùng ngoại bào, phản ứng dị ứng, sản xuất ra IL-10, chữa lành vết thương, gây xơ hoá, điều hoà miễn dịch và hoạt động thực bào. Các đại thực bào M1 và M2 có khả năng đảo ngược phân cực phụ thuộc vào các cytokin trong môi trường [70]. Tại đây, các đại thực bào hoạt

hoá sản xuất ra CCL2/MCP-1 (CC chemokine ligand 2 = Monocyte chemoattractant protein-1), TNF, TGF- β , IL-6, IL-1, PDGF... Các phân tử này đều đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT [9], [14].

- *TNF (Tumor necrosis factor - yếu tố hoại tử u)*

Cytokin chính điều chỉnh sự tăng sinh, sống sót, biệt hoá và chết theo chương trình của đại thực bào là TNF [69], [71]. TNF- α là một polypeptide, có trọng lượng phân tử 17 kD, được sinh ra bởi rất nhiều các tế bào khác nhau, có vai trò trung tâm điều chỉnh đáp ứng miễn dịch tự nhiên. TNF cảm ứng rất mạnh đại thực bào và cũng được đại thực bào tiết ra chủ yếu. TNF là một chất cảm ứng mạnh các cytokin khác và ảnh hưởng đến nhiều tế bào miễn dịch quan trọng thông qua trung gian là các cytokin [72]. TNF được biết với chức năng chính là tiền viêm và là yếu tố quan trọng nhất trong các bệnh viêm... Tuy nhiên, vai trò đối với quá trình xơ hoá và bệnh XCBHT của TNF còn nhiều tranh luận.

- *MCP-1 (Monocyte chemoattractant protein-1- Protein hoá hướng động bạch cầu đơn nhân: MCP-1)*

Một số nghiên cứu ghi nhận tế bào đơn nhân và đại thực bào của bệnh nhân XCBHT trong giai đoạn sớm sản xuất ra một lượng lớn MCP-1. MCP-1 hay còn gọi là CCL2 (CC chemokine ligand 2), MCAF hay TDCF là một chất gắn heparin, kích thước phân tử 10-14 kDa. MCP-1 là thành viên của gia đình chemokine beta hay CC, là một chuỗi gồm 99 amino acid trong đó có một chuỗi tính hiệu kép 23 amino acid và một vùng trưởng thành 76 amino acid. MCP-1 có thể do nhiều loại tế bào tiết ra, bao gồm tế bào nội mô, bạch cầu đơn nhân/ đại thực bào, nguyên bào sợi, tế bào cơ trơn mạch máu, tế bào mast... Trong giai đoạn sau (còn gọi là giai đoạn xơ hoá), nguyên bào sợi

nguyên phát trở thành nguồn sản xuất chính MCP-1 ở da của bệnh nhân XCBHT [73].

1.2.2.3. Rối loạn sản xuất collagen và vai trò của nguyên bào sợi (Fibroblast)

Sự tích tụ collagen tại da và nội tạng là đặc trưng cơ bản của bệnh lý XCBHT. Trên bệnh nhân XCBHT, chức năng của tổ chức bị tổn thương do bất thường sự lắng đọng collagen loại I, III và V. Các loại collagen này có thể tập hợp lại tạo thành một đại phân tử. Trong đó, collagen V là thành phần nhỏ nối giữa collagen I và III đóng vai trò quan trọng nhất vì có tác dụng điều chỉnh đường kính sợi collagen tổng hợp [27]. Nguồn gốc của các sợi collagen V méo mó và quá tải này là do nguyên bào sợi cơ (myofibroblast) sản xuất ra. Nhiều loại tế bào có thể chuyển đổi thành nguyên bào sợi cơ bao gồm: nguyên bào sợi tại tổ chức, tế bào xơ nguồn gốc tuỷ xương, tế bào quanh mạch...dưới tác dụng của TGF- β [29]. Khi được chuyển đổi thành nguyên bào sợi cơ, tế bào này đóng vai trò như một tế bào trung gian xơ hoá trong nhiều bệnh xơ hoá. Nguồn nguyên bào sợi cơ ở bệnh nhân XCBHT sớm vẫn chưa rõ ràng nhưng một số nghiên cứu cho rằng chúng có nguồn gốc từ các tế bào quanh mạch bị kích hoạt [74].

Yếu tố tăng trưởng chuyển dạng (Transforming growth factor: TGF- β) [75]: là một phân của hệ gia đình các protein chuyển tín hiệu bao gồm activins, inhibins, myostatin và TGF- β ... TGF- β có 3 đồng phân là TGF- β 1, TGF- β 2 và TGF- β 3. TGF- β với các hoạt động đặc biệt khác nhau có ảnh hưởng đến hầu hết các loại tế bào trong cơ thể, đặc biệt là các tế bào liên quan đến sinh bệnh học của XCBHT như tế bào ở thành mạch, tế bào miễn dịch và tổ chức liên kết. Tuy nhiên, tác động ảnh hưởng của TGF- β lên các loại tế bào này rất phức tạp và khó dự đoán. Đột biến TGF- β 1 có vai trò quan trọng trong sự phát triển của mạch máu, liên quan đến bệnh PAH gia đình và bệnh giãn mạch huyết khối di truyền (là 2 bệnh có đặc điểm lâm sàng

giống bệnh XCBHT). Vì vậy TGF- β 1 được xem xét tham gia vào cơ chế bệnh sinh của XCBHT [76].

1.2.2.4. Rối loạn miễn dịch, vai trò của lympho B và các cytokin nguồn gốc lympho B

Các cytokin liên quan đến lympho B có thể góp phần kích hoạt lympho B (IL-4), làm lympho B tăng trưởng, trưởng thành (BAFF) hoặc là yếu tố phân biệt các lympho B giải mã kháng thể với các lympho B bị kích hoạt giai đoạn đầu (IL-6). IL-6 kích hoạt lympho B tăng tiết kháng thể mà không cần tiếp xúc với kháng nguyên đặc hiệu như vi khuẩn hay vi rút [77]. Lympho B tăng hoạt động và kích hoạt đa dòng với khả năng sản xuất nhiều loại tự kháng thể đã được nghiên cứu trên bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống cho thấy vai trò quan trọng của IL-10, IL-6 và TNF [78].

Các nghiên cứu gần đây cũng đã chỉ ra lympho B có khả năng đóng vai trò quan trọng trong đáp ứng điều hoà miễn dịch của bệnh XCBHT. Yoshizaki và Sato dựa trên kết quả nghiên cứu trong 15 năm đã đề xuất mô hình rối loạn lympho B của bệnh nhân XCBHT như sau [79]: rối loạn điều hoà tín hiệu BCR cùng với việc sản xuất quá mức tín hiệu sống sót BAFF và kích thích TLR đã gây ra sự kích hoạt vĩnh viễn của các tế bào B nhớ và tăng quá trình chết theo chương trình. Sự kiện này làm lympho B giảm số lượng trong máu tuần hoàn. Để duy trì số lượng lympho B chưa hoạt hoá, tuỷ xương sẽ bị kích thích tăng sinh lympho B “còn trinh” bổ sung cho máu tuần hoàn. Vì vậy, trên bệnh nhân XCBHT, lympho B tăng số lượng dòng lympho B “còn trinh” và giảm số lượng dòng lympho B nhớ ở bệnh nhân giai đoạn sớm [80]. Lympho B hoạt động chủ yếu trong máu tuần hoàn và ít xâm nhập vào tổ chức. Hơn nữa, sau điều trị, lympho B nhớ tăng lên [81]. Tại da, mặc dù lympho B không tăng số lượng nhưng lại tăng các dấu ấn hoạt hoá đặc biệt là CD19. Lympho B biểu hiện quá mức CD19 sẽ tăng sản xuất tự kháng thể

(đặc biệt là ATA) và cytokin (IL-4, IL-6, TNF, TGF- β 1, Il-10 và MIP-2...) thông qua con đường TLR4. TGF- β 1 được sản xuất có thể thu hút thêm tế bào mast; trong khi IL-6, TGF- β 1, Il-10 thu hút đại thực bào; MIP-2 có thể tuyển thêm đại thực bào, tế bào mast, lympho T và bạch cầu trung tính. Như vậy, bất thường chức năng lympho B có thể gây ra bệnh tự miễn hệ thống độc lập với chức năng sản xuất tự kháng thể [67]. Ngoài ra, trên bệnh nhân XCBHT, lympho B10 là các tế bào Breg sản xuất IL-10 có chức năng điều tiết ức chế Th1 và Th17 giảm rõ rệt, cũng là một quá trình cơ chế bệnh sinh của bệnh [82]. Điều trị ức chế lympho B bằng cách sử dụng rituximab (là một kháng thể đơn dòng kháng CD20 của lympho B), nghiên cứu thử nghiệm đa trung tâm tại châu Âu đã cho thấy cải thiệnILD và giảm mRSS [83] trên bệnh nhân XCBHT.

- Vai trò của các tự kháng thể

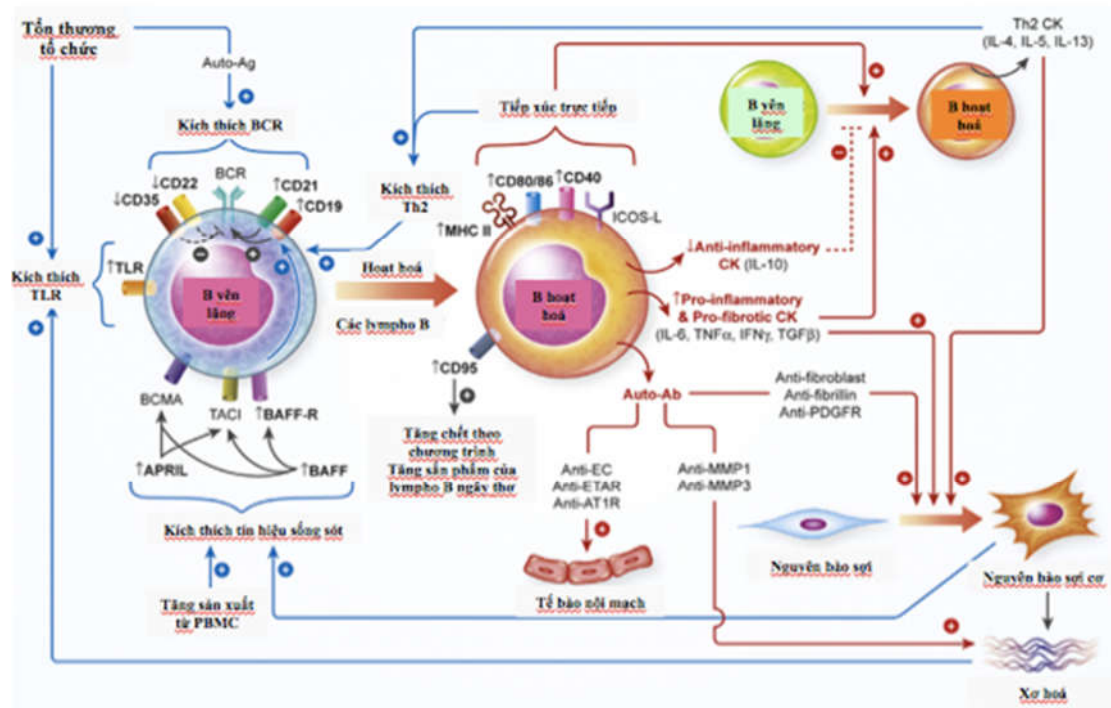
Các tự kháng thể là các dấu ấn sinh học đáng tin cậy nhất hiện nay giúp chẩn đoán, phân loại và dự đoán biểu hiện lâm sàng đặc hiệu của bệnh XCBHT. Vì vậy, trong tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT 2013 của Liên đoàn chống bệnh thấp khớp châu Âu (The European League Against Rheumatism - EULAR) có tiêu chí về 3 loại tự kháng thể đặc hiệu XCBHT dưới đây [52]:

+ Anti-deoxyribonucleic acid Topoisomerase I antibody (hay Anti-Topoisomerase I: ATA): trước đây hay gọi là anti-Scl70. Kháng nguyên là deoxyribonucleic acid topoisomerase I. Sự xuất hiện của tự kháng thể này phối hợp với bệnhILD và là yếu tố tiên lượng tồi, tỷ lệ tử vong cao cho bệnh nhân XCBHT [84].

+ Anti-centromere antibody (ACA - tự kháng thể kháng tâm động): Kháng nguyên là kinetochores, CENP-A, B, C, E. ACA đặc trưng cho XCBHT thể giới hạn và có liên quan đến thương tổn dạ dày ruột, ít liên quan đến thương tổnILD [85].

+ Anti-ribonucleic acid polymerases antibody I, II và III (hay anti RNA polymerase - RNAP): kháng nguyên là phân tử dưới đơn vị của RNA polymerase, gặp trong 6% XCBHT nói chung. RNAP III có liên quan đến nguy cơ phát triển bệnh thận và xơ hoá da tiến triển nhanh. Ngoài ra, tự kháng thể này còn liên quan đến sự xuất hiện bệnh ung thư trong XCBHT, đặc biệt là ung thư vú [86].

- BAFF (B cell-activating factor family)



Sơ đồ 1.2: Vai trò của BAFF và lympho B trong cơ chế bệnh sinh của xơ cứng bì hệ thống [87]

BAFF còn được gọi là nhóm yếu tố kích thích lympho B (B lymphocyte stimulator - BlyS), là một thành viên trong gia đình yếu tố hoại tử u (TNF – tumor necrosis factor family) và đóng vai trò quan trọng nhất trong sự sống sót và trưởng thành của lympho B [64]. Gen BAFF mã hoá một protein xuyên màng gồm 285 acid amin. Một đoạn protein gồm 152 acid amin của BAFF có thể tách rời khỏi màng tế bào và lưu hành trong huyết thanh. BAFF được sản

xuất từ nhiều tế bào bao gồm tế bào đơn nhân, đại thực bào, bạch cầu trung tính, tế bào tua gai, lympho T. BAFF là một đoạn của ít nhất 3 thụ thể thuộc họ gia đình TNF bao gồm: kháng nguyên trưởng thành lympho B (BCMA - B cell maturation antigen), chất kích hoạt xuyên màng - một đoạn của cyclophilin (TACI) và thụ thể BAFF. Cả 3 thụ thể này đều có nhiều trên lympho B, trong đó BAFFR đóng vai trò quan trọng nhất.

- **IL-6:** là một interleukin hoạt động như là một cytokin tiền viêm đa chức năng. Ở người, nó được mã hóa bởi gen IL-6 và được tiết ra bởi nhiều tế bào như lympho T, nguyên bào sợi và đại thực bào. Các chức năng chính của IL-6 bao gồm kích thích sự trưởng thành của lympho B thành tế bào sản xuất kháng thể và biệt hoá tế bào, kích hoạt lympho T, khởi đầu phản ứng viêm cấp, ... Trong quá trình nhiễm trùng và sau chấn thương, bỏng, phản ứng sốt, IL-6 được tiết ra nhiều hơn [88]. Nhiều nghiên cứu cơ bản và lâm sàng cho thấy IL-6 đóng một vai trò quan trọng trong sinh bệnh học của XCBHT [89]. Theo tác giả Dumoitier và cộng sự (2017), lympho B bị kích hoạt sản xuất ra một lượng nhỏ IL-6 trong giai đoạn sớm của XCBHT [67], [90]. Các cytokin khác do lympho B kích hoạt sản xuất ra như IL-1 và gen IL-6 trên nguyên bào sợi bị kích hoạt tương quan với hoạt động sản sinh ra collagen của nguyên bào sợi [91], [92]. Ngoài ra, IL-6 còn đóng góp vào cơ chế bệnh sinh của XCBHT thông qua việc cùng với TGF- β tạo thuận lợi cho sự phát triển của lympho Th17 [25].

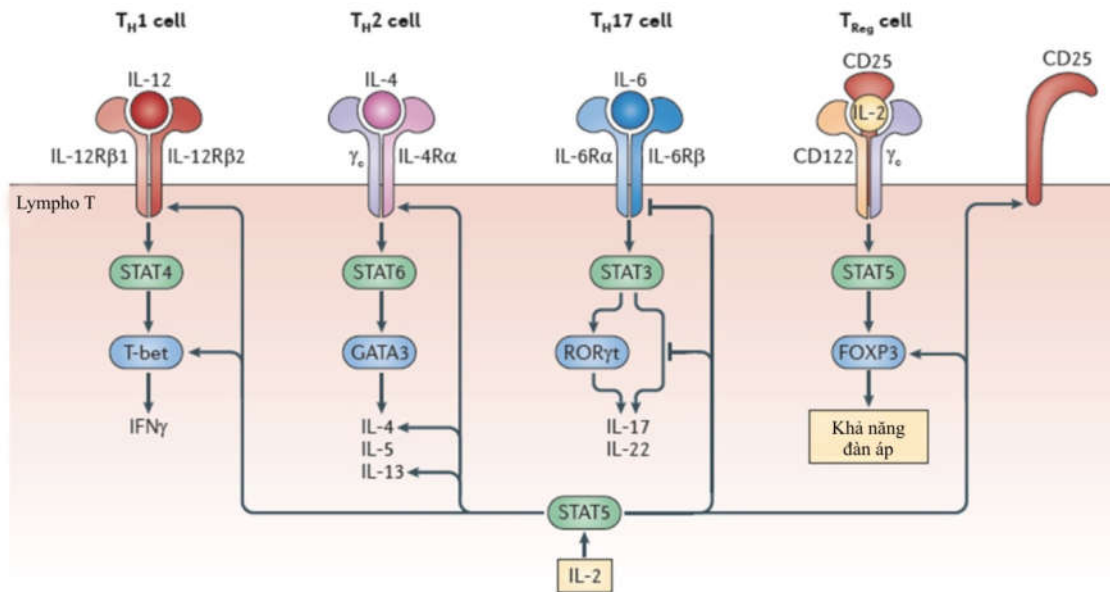
Việc điều trị kháng thể kháng IL-6 (tocilizumab) đã hạn chế một phần trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT nên đã giúp cải thiện phản ứng viêm cấp giai đoạn sớm và cải thiện FVC. Tuy nhiên, việc cải thiện thương tổn xơ hoá da và phổi thì chưa rõ ràng [93]. Các kết quả này có thể giải thích do IL-6 của bệnh nhân XCBHT được tiết từ nhiều nguồn tế bào khác nhau và theo các giai

đoạn khác nhau. Vì vậy, tiếp tục nghiên cứu về vai trò của IL-6 trong bệnh XCBHT rất quan trọng để hiểu rõ cơ chế bệnh sinh của bệnh.

1.2.2.5. Rối loạn miễn dịch, vai trò của lympho T và các cytokin nguồn gốc lympho T

Lympho T đóng một vai trò quan trọng trong sinh bệnh học của XCBHT. Trên thực tế, lympho T xâm nhập vào tổ chức ngay từ giai đoạn đầu của bệnh [94] và tăng số lượng IL-2R trên bề mặt lên cao [95]. Sau khi bị kích hoạt, lympho T giải phóng phần hoà tan của thụ thể IL-2R và tăng sản xuất nhiều loại cytokin làm kích thích, tăng sinh lympho B và khuếch đại mạng lưới cytokin [96]. Lympho T có vai trò quan trọng trong thương tổn cơ quan nội tạng trên bệnh nhân XCBHT thông qua các cytokin gây viêm và các chất trung gian gây xơ hoá. Các lympho T tăng cao tại tổn thương da và hoạt hoá đơn dòng giống như hiện tượng đáp ứng với kháng nguyên, mặc dù cho đến nay vẫn chưa xác định được kháng nguyên cụ thể [94]. Trên bệnh nhân XCBHT, lympho T “còn trinh” được biệt hoá thành lympho T nhớ và được phân thành một số dòng chính dựa trên các cytokin mà nó sản xuất ra: Th1, Th2, Th17 và Treg. Sự hiện diện của các cytokin sẽ góp phần xác định vai trò tham gia của từng loại lympho T trong sinh bệnh học XCBHT.

- **IL-2** ban đầu được biết là một yếu tố tăng trưởng lympho T trong ống nghiệm, được sản xuất bằng cách hoạt hoá các lympho T CD4 và CD8 thông thường [97], [98]. Đánh giá nồng độ IL-2 giúp hiểu rõ hơn hoạt động biệt hoá thành các dưới nhóm của lympho T, là một hướng nghiên cứu trên bệnh nhân XCBHT.



Sơ đồ 1.3: Vai trò của IL-2 trong biệt hoá các dòng lympho T [97]

Tỷ lệ giữa lympho Th1 và Th2 thay đổi theo thời gian một cách đặc biệt, phản ánh quá trình tiến triển bệnh. Trong giai đoạn đầu, các cytokin của cả Th1 và Th2 đều tăng cao, nhưng ưu thế thuộc về các cytokin gây viêm của Th1. Các cytokin của Th1 làm giảm lắng đọng ma trận ngoại bào, được kích thích bởi đại thực bào. Sau đó, cytokin của Th2 tăng cao dần, quá trình viêm được thay thế dần bởi quá trình xơ hoá. Th2 dường như được kích thích tối ưu bởi lympho B. Quá trình này diễn ra trong khoảng 3 năm đầu kể từ khi khởi phát bệnh của bệnh nhân XCBHT thể lan toả kèm theo thương tổn nội tạng nghiêm trọng. Giai đoạn sau, ưu thế Th2 lại giảm dần dẫn đến sự cải thiện tự nhiên về xơ cứng da. Vì vậy, sự tiến triển dày da hiếm khi xảy ra sau 5 - 6 năm [13].

- **IFN- γ** : Năm 1957, Isaacs và Lindenmann đã phát hiện ra một chất bảo vệ tế bào khỏi nhiễm virus và gọi nó là interferon (IFN). IFN loại I và loại II là các cytokin đầu tiên được phát hiện và cũng là các chế phẩm sinh học đầu tiên được phê duyệt sử dụng trên người để nâng cao khả năng chống lại virus và nhiều bệnh lý khác. IFN loại I bao gồm 7 lớp từ IFN- α đến IFN- τ . IFN loại

II chỉ có IFN- γ [99]. IFN- γ là một trong các thuốc được thử nghiệm sớm để điều trị bệnh nhân XCBHT. Tuy nhiên, IFN- γ không chứng minh được lợi ích trong cải thiện bệnh [100]. Đánh giá nồng độ IFN- γ trong sự thay đổi mạng lưới cytokin rất quan trọng để hiểu rõ hoạt động của Th1 trên bệnh nhân XCBHT [101].

- **IL-4** được nghiên cứu lần đầu bởi Howard và cộng sự năm 1982 dưới tác dụng tăng trưởng và biệt hoá lympho B thành lympho B nhớ và sản xuất kháng thể với tên riêng là “yếu tố tăng trưởng tế bào B” (B cell growth factor – BCGF) [102]. Rất nhiều tế bào có thụ thể IL-4 và nó là một cytokin đại diện cho Th2. IL-4 được sử dụng để điều trị hen và viêm da cơ địa dựa trên khả năng ngăn chặn phản ứng IgE [103]. Đánh giá IL-4 sẽ giúp đánh giá hoạt động của Th2 trên bệnh nhân XCBHT.

- **IL-17** do Th17 tiết ra. Sự biệt hoá của Th17 bị ức chế bởi IFN- γ và IL-4 [104]. Trong giai đoạn đầu của bệnh XCBHT, nồng độ cao của IL-6 sẽ ức chế Th1 và Treg, nếu phối hợp với nồng độ thấp TGF- β , lympho T ngây thơ sẽ biệt hoá thành Th17 và phân cực Th2. Nếu môi trường có nồng độ thấp IL-6, Th17 sẽ chuyển thành Treg [105]. Một số nghiên cứu đã chỉ ra sự tham gia của IL-17 vào cơ chế bệnh sinh bệnh viêm khớp dạng thấp, hen, vẩy nến, lupus ban đỏ hệ thống, bệnh mảnh ghép thải loại vật chủ, đái tháo đường tự miễn...[61]. IL-17A là một cytokin tiền viêm được mã hóa bởi gen IL-17A gồm 1874 cặp base. IL-17 được sản xuất bởi các tế bào Th17 với sự kích thích của IL-23 và phối hợp hoạt động cùng TNF và IL-1. Ngoài ra, IL-17A cũng được sản xuất từ các tế bào khác như lympho TCD8 độc tế bào (Tc17), NKT-17, bạch cầu trung tính, tế bào đơn nhân và lympho ở tổ chức. Cấu trúc của IL-17A là một protein homodimer gồm 155 amino acid có liên kết disulfide, trọng lượng phân tử là 35 kDa. Để thực hiện chức năng của mình, IL-17 liên kết với thụ thể bề mặt tế bào IL-17R, bao gồm IL-17RA, IL-17RB và IL-17RC. Ngoài IL-17A, họ gia đình IL-17 còn có IL-17 từ B đến F

[106]. Nghiên cứu về IL-17 là một hướng tốt để hiểu rõ hơn về cơ chế bệnh sinh của bệnh XCBHT.

- **IL-10** được nhắc đến từ năm 1989 trong nghiên cứu của Fiorentino và cộng sự như một cytokin nguồn gốc Th2 có khả năng ức chế sản xuất cytokin của lympho Th1 (IFN- γ , IL-1, IL-2, IL-6, IL-8 và TNF- α) [107]. IL-10 còn được gọi là yếu tố ức chế tổng hợp cytokin ở người (Human cytokin synthesis inhibitory factor - CSIF) là một cytokine đa năng có tác dụng mạnh trên nhiều quần thể tế bào, đặc biệt là các tế bào miễn dịch lưu thông và cư trú cũng như tế bào biểu mô. Điều này làm cho nó trở thành một phân tử hiệu ứng quan trọng trong việc bảo vệ cơ thể. Ở người, IL-10 do gen IL-10 nằm trên nhiễm sắc thể 1, gồm 5 exon quy định. IL-10 là một protein homodimer, mỗi tiểu đơn vị của nó là một chuỗi dài 178 amino acid. IL-10 chủ yếu do tế bào bạch cầu đơn nhân, Th2, tế bào đuôi gan, Treg, lympho B, tế bào NK và bạch cầu trung tính tiết ra. Tác dụng của IL-10 có vẻ khá phức tạp. Hiện nay, IL-10 được coi là một yếu tố điều hoà miễn dịch chứ không phải là yếu tố ức chế miễn dịch. Vì vậy, tế bào lympho tiết ra IL-10 còn được gọi là lympho điều hoà (Treg hoặc Breg). Treg sản xuất ra các cytokin chống viêm như TGF- β và IL-10 để duy trì cân bằng về miễn dịch. Treg trên bệnh nhân XCBHT đã được chứng minh là giảm chức năng do giảm biểu hiện IL-2 [63]. IL-10 kích thích chức năng miễn dịch bẩm sinh (hoạt động tế bào NK, loại bỏ các hạt, tế bào và vi khuẩn bằng cách kích thích thực bào) và miễn dịch liên quan đến Th2; ngăn chặn đáp ứng miễn dịch liên quan đến viêm (Th1, cytokine tiền viêm, cytokin tiết từ đại thực bào, điều chế Th2) cả trực tiếp và gián tiếp [108]. Nó cũng làm kéo dài tuổi thọ của tế bào B và gây tăng sản xuất kháng thể [107]. Ngoài ra, báo cáo gần đây cho thấy IL-10 làm giảm sự biểu hiện của mRNA collagen type I, nhưng tăng sự biểu hiện của collagenase và stromelysin, cho thấy rằng IL-10 điều chỉnh sự tổng hợp và phân hủy mạng lưới ngoại bào trong tổ chức liên kết. Điều này cũng làm tăng khả năng IL-10 là một ứng cử viên điều trị bệnh xơ hoá [109]. Biểu hiện IL-10 không đầy đủ

(ví dụ, trong bệnh viêm ruột, bệnh vẩy nến) có thể gây ra một số bệnh lý, tuy nhiên, biểu hiện quá mức (ví dụ trong u lympho, lupus ban đỏ hệ thống, bệnh nhân hồi sức cấp cứu) cũng có thể có ý nghĩa bệnh lý. Vì vậy, IL-10 có khả năng sử dụng để điều trị cho các bệnh nhóm đầu tiên nhưng kháng IL-10 có thể là một cách tiếp cận đầy hứa hẹn để điều trị bệnh ở nhóm thứ hai [108].

1.2.3. Các nghiên cứu về cytokin trong bệnh XCBHT trên thế giới và Việt Nam

1.2.3.1. Trên thế giới

Mặc dù XCBHT được mô tả đầu tiên khoảng 3000 năm trước công nguyên nhưng mãi đến 1753, Carlo Curzio mới mô tả đầy đủ triệu chứng của bệnh như dày da vùng quanh miệng và cổ ở một phụ nữ trẻ. Sau đó J.L. Alibert (1818) tại Paris là người đầu tiên ghi nhận bệnh với tên gọi “Sclermia Circumscripta” [110]. Vào năm 1847, Gintrac đã đưa ra thuật ngữ “Scleroderma” và những tổn thương nội tạng của bệnh. Năm 1863, M. Raynaud lần đầu tiên mô tả triệu chứng co mạch bất thường ở bệnh nhân xơ cứng bì với cảm giác tê đầu ngón tay vào mùa đông và hiện tượng dày da ở vùng này cũng tăng dần theo thời gian [36].

Trong một thời gian dài, những rối loạn của bệnh chủ yếu được mô tả là những tổn thương ở da. Sang thập kỷ 20, 30 của thế kỷ XX, nhiều kỹ thuật phát triển cho phép phát hiện các tổn thương giải phẫu bệnh của bệnh XCBHT. Năm 1941, Klemperer đưa ra khái niệm “bệnh collagen” để chỉ nhóm bệnh có những biến đổi chung bao gồm SLE, viêm bì cơ và xơ cứng bì...

Năm 1948, với bước ngoặt là sự phát hiện kháng thể kháng nhân đã mở ra kỷ nguyên mới về các nghiên cứu các bệnh chất tạo keo (collagenose). Miescher và cộng sự đã chứng minh vai trò của cơ chế miễn dịch trong bệnh XCBHT. Đến năm 1954, quan niệm hiện đại về vai trò sinh bệnh học của XCBHT mới xuất hiện. Tiếp theo là những phát hiện về vai trò của các kháng thể kháng

nhân, kháng thể kháng collagen, các immunoglobulin, phản ứng miễn dịch tế bào ở bệnh XCBHT [24].

Trong các năm sau đó, nhiều nghiên cứu về mô bệnh học thương tổn da và nội tạng của bệnh nhân XCBHT đã được tiến hành. Các nghiên cứu này mô tả sự xâm nhập lympho T, tương bào, nguyên bào sợi, đại thực bào và tế bào đơn nhân tại tổ chức, là tiền đề cho các nghiên cứu về cytokin của các tế bào tham gia vào cơ chế bệnh sinh của bệnh [111], [94]. Các nghiên cứu đã xác định vai trò quan trọng của lympho T trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT. Sau đó, các cytokin liên quan đến lympho T trên bệnh nhân XCBHT đã được chú ý. Nghiên cứu về cytokin đầu tiên trong huyết thanh bệnh nhân XCBHT đã tập trung vào tìm hiểu nồng độ và hoạt động của IL-2. Nghiên cứu này được thực hiện bởi Kahaleh và LeRoy năm 1989 [112] nhằm đánh giá nồng độ IL-2 trong huyết thanh của 47 bệnh nhân XCBHT, 20 bệnh nhân viêm khớp dạng thấp và 14 người khỏe mạnh bằng phương pháp ELISA. Kết quả cho thấy IL-2 tăng cao trong huyết thanh của bệnh nhân XCBHT có ý nghĩa thống kê so với bệnh nhân viêm khớp dạng thấp và người khỏe mạnh.

Năm 1992, Needleman cho rằng trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT, các cytokin tương tác với nhau, vì vậy cần nghiên cứu cả mạng lưới cytokin chứ không phải từng cytokin [113]. Tác giả đã dùng phương pháp ELISA để đánh giá 6 cytokin (IL-1, IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , IFN- γ) trên 78 bệnh nhân XCBHT. Nghiên cứu ghi nhận IL-2, IL-4 và IL-6 tăng cao; IL-1, TNF- α , IFN- γ không tăng hoặc không phát hiện được trong huyết thanh bệnh nhân XCBHT so với nhóm chứng. Đây cũng là nghiên cứu đầu tiên phát hiện được IL-4 tăng trong huyết thanh bệnh nhân XCBHT. Tuy nhiên, nghiên cứu này bao gồm cả những bệnh nhân bị bệnh ở giai đoạn sớm và muộn, đã hoặc chưa điều trị. Ngoài ra, các mẫu huyết thanh được thu thập trong nhiều thời điểm ở một số bệnh nhân, không thống nhất về thời điểm theo

đôi nên kết luận về biến đổi cytokin không mang tính thuần nhất. Nghiên cứu này cũng không tìm được mối liên quan giữa nồng độ cytokin và thương tổn nội tạng.

Sau nghiên cứu của Needleman 1992, mãi tới năm 2006, Matsushita và cộng sự mới nghiên cứu về mạng lưới cytokin [13]. Lần này, nghiên cứu đã được tiến hành trên 26 bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm. Tuy nhiên, thời gian bị bệnh trung bình là 2,1 năm tính từ triệu chứng lâm sàng đầu tiên không phải là biểu hiện Raynaud's và nghiên cứu chưa chọn lọc được các bệnh nhân chưa điều trị. Tác giả sử dụng phương pháp ELISA để phân tích nồng độ trong huyết thanh của 9 cytokin: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, IL-12, MCP-1, TNF- α , IFN- γ và TGF- β 1. Nghiên cứu này có ưu điểm là theo dõi sự biến đổi nồng độ cytokin kéo dài trong 6 năm. Qua đó, tác giả đưa ra kết luận: sự dịch chuyển mô hình cytokin của Th2 sang Th1 làm cải thiện bệnh XCBHT và có thể là hướng tốt cho phát triển các phương pháp điều trị bệnh.

Gần đây nhất là nghiên cứu của Hasegawa và cộng sự năm 2011 [12] đánh giá trên 31 bệnh nhân Nhật Bản giai đoạn sớm (thời gian bị bệnh trung bình 21 ± 15 tháng). Các tác giả đã áp dụng phương pháp tiên tiến đếm tế bào dòng chảy để định lượng nhiều loại cytokin trong mẫu huyết thanh nhỏ. 11 chemokin và cytokin được đánh giá là IP-10, CXCL10, MIG/CXCL9, MCP-1, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α và IFN- γ . Tác giả đã theo dõi sự biến đổi nồng độ các cytokin trong 3 năm và theo dõi mối tương quan với mức độ thương tổn của các cơ quan. Theo đó, các tác giả đã đưa ra kết luận chính: IP-10, MIG và MCP-1 tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng ở lần đánh giá đầu tiên. Chỉ có MCP-1 giảm có ý nghĩa thống kê với sự cải thiện thương tổn da và dung tích sống sau 3 năm theo dõi. Tuy nhiên, nhược điểm của nghiên cứu này là 48% bệnh nhân tuyển chọn đang điều trị thuốc ức chế miễn dịch trong thời điểm lấy mẫu.

Vì vậy, kết quả bị hạn chế trong việc phát hiện tỷ lệ thấp các cytokin như IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- α và IFN- γ .

1.2.3.2. Việt Nam

Là một bệnh hệ thống nặng, phổ biến, tỷ lệ tử vong cao trong độ tuổi sinh đẻ và lao động, bệnh XCBHT vẫn chưa được tập trung nghiên cứu nhiều ở Việt Nam vì quá phức tạp, cần nhiều xét nghiệm chuyên sâu và chưa có thuốc điều trị đặc hiệu. Điềm qua các nghiên cứu về XCBHT trước năm 2014, chúng ta thấy số lượng nghiên cứu, nhất là nghiên cứu lớn có giá trị tại Việt Nam trong nhiều năm qua rất ít. Cụ thể, năm 2013, Nguyễn Văn Nghĩa đánh giá mối liên quan giữa kháng thể Scl70 và tổn thương nội tạng ở bệnh nhân XCBHT tiến triển. Năm 2007, Phạm Thị Nga nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và một số hình ảnh kháng thể kháng nhân trong bệnh XCBHT. Trước đó, từ năm 1995, Trần Thúy Hạnh đã nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và miễn dịch ở bệnh nhân xơ cứng bì tiến triển tại Bệnh viện Bạch Mai [114].

Ngoài ra, về điều trị, năm 2008, Trần Thúy Hạnh đánh giá hiệu quả của cyclophosphamide đường uống trong điều trị tổn thương phổi kẽ của XCBHT tiến triển. Trước đó, năm 2005, Lê Văn Hậu nghiên cứu tình hình đặc điểm lâm sàng và kết quả điều trị bệnh nhân XCBHT tiến triển tại khoa Dị ứng Miễn dịch lâm sàng Bệnh viện Bạch Mai.

Các nghiên cứu khác chỉ tập trung vào thương tổn nội tạng trên bệnh nhân XCBHT như: Vũ Nguyệt Minh năm 2014 xác định mối liên quan giữa thang điểm m-RODNAN với các thương tổn da khác và mô bệnh học da trong bệnh XCBHT [43]. Phạm Thị Tuyền năm 2012 nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng và mối liên quan giữa tổn thương da với nội tạng ở bệnh nhân XCBHT [42]. Đinh Thanh Điệp năm 2007 nghiên cứu đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng trên bệnh nhân xơ cứng bì có tổn thương tim mạch. Phạm Minh Tuấn năm 2006 đánh giá tổn thương nội tạng trong XCBHT tiến

triển. Năm 2000, Nguyễn Thị Nga đánh giá độ dày da và mô dưới da ở bệnh nhân xơ cứng bì toàn thể bằng siêu âm. Cùng năm 2000, Lương Quang Thái bước đầu đánh giá chức năng thất trái bằng siêu âm Doppler tim ở bệnh nhân xơ cứng bì toàn thể...

Như vậy, so với các tiến bộ trên thế giới về căn bệnh phức tạp này, nghiên cứu về bệnh XCBHT cần phải tiến hành sâu rộng hơn nữa theo hướng mới về miễn dịch học mức độ phân tử liên quan đến các cytokin, chemokin và các tự kháng thể... Hướng tiếp cận này cũng giúp phát triển tốt hệ thống xét nghiệm đặc hiệu cho nhóm bệnh tự miễn nói riêng và các bệnh da chưa rõ cơ chế nói chung.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG NGHIÊN CỨU

Là các bệnh nhân bị XCBHT được điều trị tại Bệnh viện Da liễu Trung ương.

2.1.1. Tiêu chuẩn chẩn đoán

Dựa vào tiêu chuẩn của ACR và EULAR 2013

Bảng 2.1: Tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT ACR và EULAR 2013 [52]

Tiêu chuẩn	Tiêu chí	Điểm
- Thương tổn dày da vùng ngón tay của cả hai tay, lan đến gân khớp đốt bàn (tiêu chuẩn đầy đủ để chẩn đoán)		9
- Dày da ngón tay (chỉ tính điểm cao nhất)	+ Phù nề đầu ngón	2
	+ Xơ cứng da đầu ngón (chưa đến khớp đốt bàn nhưng gân đến vùng khớp ngón gần)	4
- Thương tổn đầu ngón (chỉ tính điểm cao nhất)	+ Loét đầu ngón	2
	+ Sẹo rỗ đầu ngón	3
- Giãn mạch	+	2
- Bất thường mao mạch nền móng	+	2
- PAH và/ hoặc ILD (điểm tối đa là 2)	+ PAH	2
	+ ILD	2
- Hiện tượng Raynaud	+	2
- Các tự kháng thể liên quan đến XCBHT (điểm tối đa là 3)	+ ACAs	1
	+ ATAs	1
	+ RNAP	1

Bệnh nhân có từ 9 điểm trở lên là đủ tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT.

2.1.2. Tiêu chuẩn lựa chọn

- Chẩn đoán là XCBHT theo tiêu chuẩn của ACR và EULAR 2013
- Bị bệnh ≤ 36 tháng, chưa điều trị gì hoặc đã ngừng điều trị các thuốc ức chế miễn dịch, các thuốc chống xơ hóa từ 2 tháng trở lên.
- Đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.1.3. Tiêu chuẩn loại trừ

- Có các biểu hiện lâm sàng và xét nghiệm thể hiện phối hợp nhiều bệnh hệ thống (overlap) và các bệnh tự miễn khác
- Mắc các bệnh khác như nhiễm khuẩn (chốc, nhọt,...), nhiễm virut (HIV/AIDS, viêm gan B, thủy đậu, zona...), ung thư... tại thời điểm lấy mẫu.
- Phụ nữ có thai và cho con bú

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Thiết kế nghiên cứu

Mô tả cắt ngang

2.2.2. Cỡ mẫu và cách chọn mẫu

XCBHT là một bệnh hiếm gặp và diễn biến mạn tính. Phần lớn các bệnh nhân không được chẩn đoán ở giai đoạn sớm và thường đã điều trị trước đó. Vì vậy, chúng tôi lấy cỡ mẫu thuận tiện, ít nhất là 30 bệnh nhân. Chúng tôi đã chọn được 32 bệnh nhân XCBHT chẩn đoán sớm từ 36 tháng trở xuống, 25 bệnh nhân chưa điều trị gì, 07 bệnh nhân đã điều trị trước đó nhưng đã ngừng điều trị trên 2 tháng. Các bệnh nhân đều được theo dõi đủ từ 12 tháng trở lên.

2.2.3. Các bước tiến hành

2.2.3.1. Xác định các đặc điểm về lâm sàng, cận lâm sàng vào thời điểm T0 theo các chỉ tiêu nghiên cứu trong mục 2.2.4 (bao gồm cả chỉ tiêu về tự kháng thể ANA, ACA, ATA nhằm chẩn đoán xác định bệnh)

- Các xét nghiệm tự kháng thể ANA, ACA, ATA, sinh hoá máu (protein, albumin, men gan, ure, cholesterol, triglyceride, công thức máu xác định số

lượng hồng cầu, bạch cầu và tiểu cầu, chỉ số hemoglobin, máu lắng...) được làm tại khoa Xét nghiệm Bệnh viện Da liễu Trung ương.

- Chụp phim HRCT vùng ngực được tiến hành tại khoa Chẩn đoán hình ảnh Bệnh viện Bạch Mai.

- Siêu âm tim qua thành ngực được tiến hành tại Bệnh viện Bạch Mai.

- Điện cơ kim (needle electromyography) được tiến hành tại Bệnh viện Lão khoa Trung ương.

2.2.3.2. Lưu mẫu huyết thanh thời điểm T0

Lưu mẫu huyết thanh tuân theo quy trình chuẩn tại Bệnh viện Da liễu Trung ương:

- Lấy máu tĩnh mạch 3ml vào ống không chống đông, để ở nhiệt độ phòng trong 30 phút.

- Ly tâm với tốc độ 2000 g/phút trong 15 phút.

- Hút phần huyết thanh vào ống ependoft 1,5ml

- Lưu ở tủ lạnh sâu - 80°C.

2.2.3.3. Tiến hành điều trị

Bệnh nhân được điều trị dựa vào triệu chứng lâm sàng và tiến triển của bệnh, do các bác sỹ thuộc Phòng khám Chuyên đề Bệnh tổ chức liên kết tự miễn Bệnh viện Da liễu Trung ương theo dõi. Ghi chép đầy đủ thuốc và liệu điều trị của bệnh nhân.

- Các bệnh nhân thời điểm chẩn đoán sẽ được sử dụng methyprednisolon liều thấp (tương đương < 20 mg/ngày liều prednisolon) và chỉnh liều theo đáp ứng; methotrexate liều tăng dần bắt đầu từ liều 7,5 mg/ tuần theo đáp ứng của bệnh (nếu không có chống chỉ định).

- Bệnh nhân được sử dụng nifedipin hoặc bosentan nếu có triệu chứng thương tổn mạch ngoại vi và/hoặc PAH.

- Bệnh nhân được sử dụng azathioprin trong trường hợp thương tổnILD tiến triển nặng, không đáp ứng với 2 ức chế miễn dịch trên.

- Bệnh nhân được sử dụng thuốc ức chế bơm proton, thuốc kháng H2 và thuốc bọc niêm mạc dạ dày trong trường hợp có thương tổn trào ngược dạ dày thực quản hoặc dự phòng trào ngược dạ dày thực quản.

- Bệnh nhân được sử dụng thuốc bôi tacrolimus và/ hoặc corticosteroid tại chỗ và dưỡng ẩm tại thương tổn dày da.

- Các thuốc hỗ trợ khác (vitamin E, canxi, sắt, giảm đau...) được sử dụng nếu cần.

2.2.3.4. Xác định các đặc điểm về lâm sàng, cận lâm sàng vào thời điểm T12 theo các chỉ tiêu nghiên cứu trong mục 2.2.4.

2.2.3.4. Lưu mẫu huyết thanh thời điểm T12 theo quy trình 2.2.3.2.

2.2.3.5. Vận chuyển mẫu huyết thanh đến Khoa da Bệnh viện Kanazawa Nhật Bản để tiến hành xét nghiệm tự kháng thể và cytokin

Mẫu huyết thanh lưu được vận chuyển bằng thùng xốp kín chứa đá khô. Các mẫu huyết thanh được kiểm tra đảm bảo không rã đông trong suốt thời gian vận chuyển cho đến khi được bảo quản trở lại ở -20 độ trước khi tiến hành xét nghiệm.

2.2.4. Các chỉ tiêu nghiên cứu

2.2.4.1. Tuổi khởi phát bệnh (năm), tuổi tại thời điểm nghiên cứu (năm)

2.2.4.2. Giới tính (nam, nữ)

2.2.4.3. Thời gian bị bệnh: Thời gian xuất hiện triệu chứng đầu tiên của bệnh đến khi vào nghiên cứu (tháng), tính cả triệu chứng Raynaud.

2.2.4.4. Đánh giá thương tổn da

- Độ dày da theo thang điểm mRSS (ảnh 1.2) (Người nghiên cứu đánh giá).

- Độ dày da nặng hay nhẹ dựa vào ngưỡng cutoff 14 điểm

- Đánh giá không thay đổi, cải thiện hay nặng lên của thương tổn da vào thời điểm T12 dựa vào thay đổi mRSS giảm hay tăng ≥ 2 điểm.

2.2.4.5. Đánh giá thương tổn loét - hoại tử đầu ngón

Khám lâm sàng bệnh nhân, đánh giá có/không và đánh giá không thay đổi, cải thiện hoặc nặng lên theo triệu chứng khám.

2.2.4.6. Đánh giá thương tổn phổi

- Chụp phim HRCT vùng ngực, đánh giá chỉ số HRCT theo 5 lớp cắt ảnh 1.3 - 1.6 do chuyên gia chẩn đoán hình ảnh và nghiên cứu sinh phổi hợp thực hiện. Bệnh nhân được đánh giá là có ILD nếu chỉ số HRCT > 0 điểm. Đánh giá ILD nặng hay nhẹ dựa vào ngưỡng cutoff chỉ số HRCT 5 điểm. Đánh giá không thay đổi, cải thiện hay nặng lên của thương tổn ILD vào thời điểm T12 dựa vào thay đổi chỉ số HRCT giảm hay tăng ≥ 2 điểm.

- Siêu âm tim qua thành ngực: đánh giá chỉ số PAPs (chỉ số bình thường 28 ± 5 mmHg), chẩn đoán PAH trên siêu âm tim qua thành ngực khi PAPs ≥ 35 mmHg. Bệnh nhân được chuyển khám chuyên khoa tim mạch làm thông tim và kê đơn phối hợp nếu tình trạng nặng lên. Đánh giá không thay đổi, cải thiện hay nặng lên của thương tổn PAH vào thời điểm T12 dựa vào thay đổi chẩn đoán có hay không có PAH dựa trên PAPs và mức độ tăng PAPs ngưỡng cutoff là ≥ 35 mmHg.

2.2.4.7. Đánh giá thương tổn thận

- Tổng phân tích và xét nghiệm tế bào nước tiểu để xác định chỉ số protein niệu, hồng cầu niệu, bạch cầu niệu, trụ niệu,... Nhận định bất thường tổng phân tích nước tiểu nếu có một trong các biểu hiện trên ít nhất 2 lần xét nghiệm liên tiếp.

- Đánh giá bất thường tổng phân tích nước tiểu không thay đổi, cải thiện hay nặng lên phụ thuộc vào sự mất đi hoặc xuất hiện thêm bất thường tổng phân tích nước tiểu trên ít nhất 2 lần xét nghiệm liên tiếp.

- Cơ kích phát trên thận: cơn tăng huyết áp ác tính (huyết áp tâm thu > 180mmHg hoặc huyết áp tâm trương > 110 mmHg).

- Suy thận mãn, đợt cấp của suy thận mãn: tăng nồng độ creatinin

2.2.4.8. Đánh giá thương tổn tiêu hoá

Khai thác triệu chứng nuốt nghẹn dựa và hỏi bệnh. Nhận định bệnh nhân có/không thương tổn tiêu hoá khi có nuốt nghẹn hoặc không. Đánh giá sau 1 năm bằng hỏi bệnh: không thay đổi, cải thiện hay nặng lên. Bệnh nhân nào cần thiết nội soi tiêu hoá mới tiến hành chuyển bảo hiểm sang Bệnh viện Bạch Mai. Bệnh nhân được chuyển khám chuyên khoa tiêu hoá kê đơn phối hợp nếu tình trạng nặng lên.

2.2.4.9. Đánh giá thương tổn khớp

Đánh giá triệu chứng đau khớp có/ không theo hỏi bệnh và khám sưng nóng đỏ đau. Đánh giá sau 1 năm bằng hỏi bệnh triệu chứng cơ năng: không thay đổi, cải thiện hay nặng lên. Bệnh nhân được chuyển khám chuyên khoa cơ xương khớp kê đơn phối hợp nếu tình trạng nặng lên.

2.2.4.10. Đánh giá thương tổn cơ

- Khám bệnh và hỏi bệnh về triệu chứng đau cơ, yếu cơ của bệnh nhân.
 - Xét nghiệm men CK để đánh giá thương tổn cơ (nếu cần)
 - Điện cơ kim được chỉ định nếu có nghi ngờ thương tổn cơ, do bác sỹ chuyên khoa đọc kết quả: thương tổn nguồn gốc cơ/ thương tổn nguồn gốc thần kinh.

- Sinh thiết cơ được chỉ định khi các triệu chứng và xét nghiệm trên bất thường không lý giải được để loại trừ viêm đa cơ trong bệnh cảnh hội chứng overlap.

- Bệnh nhân sẽ được ghi nhận có thương tổn cơ nếu có 2 trong các biểu hiện trên phối hợp: 1. Đau cơ/yếu cơ + men CK cùng thời điểm tăng trên ngưỡng bình thường; 2. Men CK tăng + điện cơ kim có thương tổn nguồn gốc cơ; 3. Đau cơ/ yếu cơ + điện cơ kim có thương tổn nguồn gốc

ơ. Không nhận định bệnh nhân có thương tổn cơ nếu chỉ có 1 triệu chứng hoặc xét nghiệm bất thường.

2.2.4.11. Các chỉ số sinh hoá máu được làm hàng tháng hoặc vào thời điểm cần thiết để theo dõi bệnh và điều trị thuốc phù hợp.

2.2.4.12. Các chỉ số tự kháng thể và cytokin

- Tự kháng thể ANA sử dụng kỹ thuật nhuộm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trên tế bào Hep-2, được kỹ thuật viên xét nghiệm đánh giá bán định lượng theo mức độ từ 0 đến 4+ và hình dạng lắng đọng. Tự kháng thể ACA được đánh giá dương tính/âm tính nếu có hay không dạng lắng đọng discrete.

- Nồng độ tự kháng thể ATA và RNAP được đánh giá dương tính/ âm tính theo giá trị ngưỡng của bộ kit và có ghi nhận nồng độ tự kháng thể tính theo đơn vị $\mu\text{mol/l}$

- Nồng độ các cytokin được tính theo đơn vị pg/ml. Các trường hợp nồng độ cytokin đo được bằng 0 được đánh giá là “Dưới ngưỡng phát hiện” hay “Không phát hiện”. Các trường hợp nồng độ cytokin đo được > 0 được đánh giá là “Trên ngưỡng phát hiện” hoặc “Phát hiện”. Ngưỡng cutoff của các cytokin trong mô hình đa biến dựa vào giá trị bách phân vị.

2.2.5. Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu và đánh giá kết quả

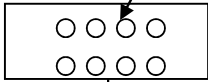

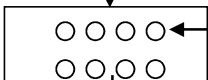

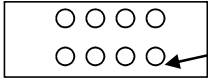
2.2.5.1. Các xét nghiệm tiến hành tại Việt Nam: Xét nghiệm được tiến hành tại Khoa xét nghiệm Bệnh viện Da Liễu Trung ương

- Xét nghiệm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trên tế bào Hep-2 xác định ANA và ACA

+ Nguyên lý: Kháng thể (nếu có) trong huyết thanh bệnh nhân sẽ kết hợp với kháng nguyên nhân (nhân tế bào HEp-2), phức hợp kháng nguyên-kháng thể được phát hiện bằng kính hiển vi huỳnh quang nhờ kết hợp với kháng thể kháng IgG của người đã gắn huỳnh quang (anti IgG-FITC).

+ Vật liệu: bộ kit FLUORO HEPANA của hãng MBL - Nhật Bản.

+ Cách tiến hành:

<ul style="list-style-type: none"> - Chuẩn bị bệnh phẩm: Huyết thanh bệnh nhân được pha loãng với dung dịch phosphate buffer saline (PBS) tỷ lệ 1:40. - Lam kính có gắn tế bào HEP-2 để ở nhiệt độ phòng ít nhất 5 phút trước khi sử dụng. - Hút 50 μl huyết thanh đã pha loãng nhỏ vào mỗi giếng trên lam. Ủ lam ở buồng ẩm, 37 $^{\circ}$C, 30 phút. - Rửa lam 3 lần với dung dịch PBS, các lần rửa cách nhau 5 phút. Làm khô. - Nhỏ một giọt kháng thể người cộng hợp huỳnh quang (anti IgG-FITC) vào mỗi giếng. Ủ lam ở buồng ẩm, 37$^{\circ}$C, 30 phút. - Rửa lam 3 lần với dung dịch PBS, các lần rửa cách nhau 5 phút. Làm khô. - Nhỏ một giọt glycerin vào mỗi giếng, đậy lam. - Đọc kết quả dưới kính hiển vi huỳnh quang 	<p style="text-align: center;">Huyết thanh</p>  <p style="text-align: center;">Ủ ở buồng ẩm, 37 $^{\circ}$C - 30 phút</p>  <p style="text-align: center;">Làm khô Anti-IgG-HQ</p>  <p style="text-align: center;">Ủ ở buồng ẩm, 37 $^{\circ}$C - 30 phút</p>  <p style="text-align: center;">Làm khô Glycerin</p>  <p style="text-align: center;">Đọc bằng kính hiển vi huỳnh quang</p>
--	--

+ Đọc kết quả: Gián tiếp thông qua kháng thể IgG có gắn FITC, dưới kính hiển vi huỳnh quang sẽ phát hiện được các kháng thể người bệnh gắn trên tế bào HEP-2. Tùy vị trí gắn và mức độ huỳnh quang, kết quả sẽ đưa ra



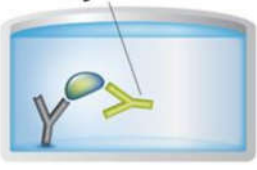
kiểu lắng đọng và đậm độ huỳnh quang (bán định lượng 1+ đến 4+ hoặc âm tính). Nhận định có/không có dạng lắng đọng ACA (dạng lắng đọng discrete – hạt rải rác với nhân tế bào bắt màu đồng nhất với 40-60 đốm mắt màu huỳnh quang rõ).



- Xét nghiệm ELISA định lượng ATA

+ Nguyên lý: dựa trên sự kết hợp đặc hiệu giữa kháng nguyên và kháng thể, trong đó kháng thể được gắn với một enzyme. Khi cho thêm cơ chất thích hợp vào phản ứng, enzyme sẽ thủy phân cơ chất thành một chất có màu. Sự xuất hiện màu chứng tỏ đã xảy ra phản ứng đặc hiệu giữa kháng thể với kháng nguyên và thông qua cường độ màu mà biết được nồng độ kháng nguyên hay kháng thể cần phát hiện.

+ Vật liệu: bộ kit Medical & Biological Laboratories, Naka-ku, Nagoya, Nhật Bản.

+ Cách tiến hành

<p>Kháng thể thứ nhất</p> 	<p>- Kháng thể đã gắn sẵn ở đáy giếng trong bộ kit.</p>
<p>Kháng nguyên trong huyết thanh</p> 	<p>- Nhỏ huyết thanh mẫu vào giếng mẫu, huyết thanh bệnh nhân vào từng giếng còn lại. Đậy bìa và ủ ở nhiệt độ phòng.</p>
<p>Kháng thể kháng kháng nguyên cần phát hiện</p> 	<p>- Bỏ bìa đậy và rửa sạch giếng 3 lần. Nhỏ kháng thể kháng cytokin hoặc tự kháng thể cần xác định. Đậy bìa và ủ ở nhiệt độ phòng</p>

<p>Kháng thể kháng kháng thể gắn màu</p> 	<p>- Bỏ bìa đáy và rửa sạch giếng 3 lần. Nhỏ dung dịch Streptavidin – HRP vào mỗi giếng (cả giếng chứng). Đậy bìa và ủ ở nhiệt độ phòng</p>
<p>Chất nền Sản phẩm màu</p> 	<p>- Bỏ bìa đáy và rửa sạch giếng 3 lần. Nhỏ dung dịch cơ chất Chromogen TMB vào mỗi giếng và ủ tối ở nhiệt độ phòng để phản ứng tạo màu. Tránh tiếp xúc ánh sáng trực tiếp bằng cách đậy giấy nhôm. Nhỏ dung dịch ngừng phản ứng Stop Reagent vào mỗi giếng. Ngay lập tức đọc kết quả hoặc đọc trong vòng 1h nếu bảo quản giếng ở 2-8 °C trong tối.</p>

+ Đọc kết quả: kết quả định lượng dựa trên đo màu bằng máy quang phổ kế, sử dụng bước sóng 450 nm. Kết quả định tính dương tính hoặc âm tính dựa trên ngưỡng chứng âm và chứng dương của bộ kit.

2.2.5.2. Các xét nghiệm tiến hành tại Nhật Bản: Các xét nghiệm này do nghiên cứu sinh và nhân viên của Khoa da Bệnh viện Kanazawa Nhật Bản tiến hành trực tiếp theo quy trình chuẩn của bộ kit.

- Xét nghiệm ELISA định lượng RNAP, TGF- β 1, BAFF/BLyS/TNFSF13B và CCL2/MCP-1

+ Nguyên lý, cách tiến hành và đọc kết quả: như phần trên

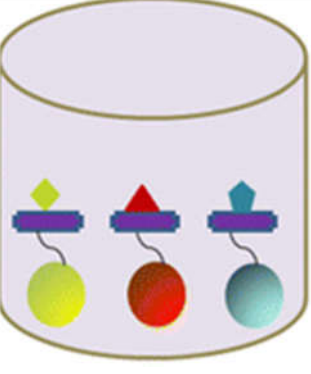
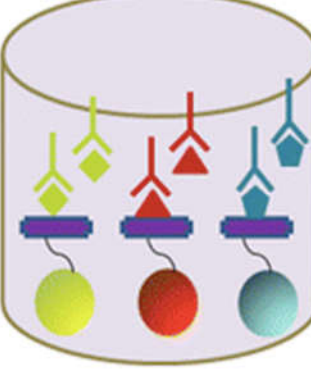
+ Vật liệu: bộ kit Mesacup anti-RNA của Nhật Bản, Quantikines ELISA Human TGF- β 1 Immunoassay, Quantikines ELISA Human BAFF/BLyS/TNFSF13B Immunoassay và Quantikines ELISA Human CCL2/MCP-1 Immunoassay của hãng R&D Systems China Company

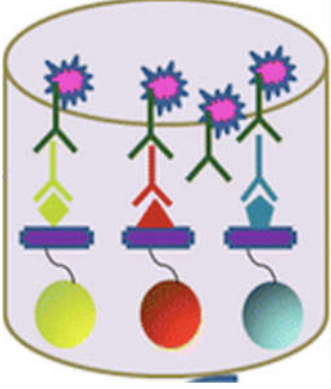
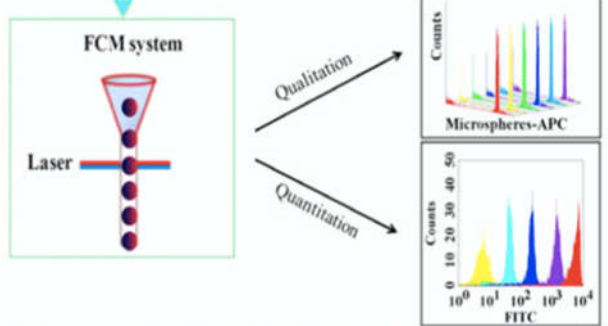
- Kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy (BD flow cytometric) định lượng cytokin IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN- γ và IL-17A

+ Nguyên lý: Kỹ thuật đếm tế bào dòng chảy là phương pháp bắt giữ nhiều loại chất hoà tan cần phân tích, mỗi chất gắn đặc hiệu lên một loại hạt có kích thước và phát màu huỳnh quang khác nhau. Tín hiệu huỳnh quang của từng loại hạt tỷ lệ với số lượng chất hoà tan cần phân tích bị bắt giữ. Tín hiệu huỳnh quang này được phát hiện bằng cách cho chảy qua một máy lọc đếm hạt màu. Nhờ đó đo được nồng độ của nhiều loại chất hoà tan có nồng độ rất thấp trong 1 lần làm xét nghiệm một cách chính xác, tiết kiệm mẫu và thời gian.

+ Vật liệu: bộ kit BD Cytometric Bead Array (CBA) Human Th1/Th2/Th17 Cytokin Kit của hãng Becton, Dickinson and Company có khả năng phát hiện được 7 cytokin trên.

+ Cách tiến hành:

<p>- Trộn hạt bắt cytokin Human Th1/Th2/Th17 cytokin capture beads của 7 loại cytokin IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF, IFN-γ và IL-17A. Lắc và hút 50 μl cho vào mỗi ống chạy máy</p>	
<p>- Thêm vào mỗi ống lần lượt 50 μL dung dịch chuẩn nồng độ từ 1 đến 1:256 và các mẫu huyết thanh cần phân tích cytokin. Mỗi loại cytokin cần phân tích (nếu có trong huyết thanh) sẽ bị gắn lên từng loại hạt khác nhau.</p>	

<p>- Thêm vào mỗi ống 50 μL dung dịch phát hiện phản ứng Human Th1/Th2/Th17 PE Detection Reagent. Ủ các ống chạy máy ở nhiệt độ phòng, tránh ánh sáng.</p>	
<p>- Rửa các ống bằng 1 mL dung dịch pha loãng Wash Buffer. Sau đó pha loãng mỗi ống bằng 300 μL dung dịch pha loãng Wash Buffer. Sử dụng máy đếm tế bào dòng chảy (The flow cytometer) đọc từng ống theo thứ tự: ống chuẩn nồng độ trước, các ống huyết thanh cần phân tích sau.</p>	

+ Đọc kết quả: Máy sẽ phân tích và đưa ra bảng kết quả từng loại cytokin của từng mẫu huyết thanh bệnh nhân tính bằng pg/ml.

2.2.6. Phương pháp phân tích và xử lý kết quả

- Xử lý số liệu theo chương trình SPSS và Stata để phân tích tương quan giữa các biến số lâm sàng, cận lâm sàng về thương tổn da và nội tạng với các tự kháng thể và các cytokin.

- Các số liệu trong nghiên cứu được đánh giá là có ý nghĩa thống kê nếu $p < 0,05$.

- Các số liệu định lượng được biểu hiện dưới dạng trung bình \pm SD (biến chuẩn) và giá trị trung vị (biến không chuẩn). So sánh tìm sự khác biệt giữa 2 biến định lượng sử dụng t test độc lập và t test ghép cặp trong

trường hợp biến phân bố chuẩn; sử dụng test Mann-Whitney U trong trường hợp biến độc lập phân bố không chuẩn; sử dụng test Wilcoxon Signed Ranks trong trường hợp biến ghép cặp phân bố không chuẩn; sử dụng test Kruskal Wallis để so sánh tìm sự khác biệt giữa 3 biến định lượng độc lập phân bố không chuẩn.

- Các số liệu định tính được biểu hiện dưới dạng n, tỷ lệ %. So sánh tìm sự khác biệt 2 biến định tính sử dụng test Chi bình phương.

- Các biến số trong nghiên cứu đều được xác định tương quan đơn biến:

Các biến định lượng được thể hiện bằng hệ số tương quan r (biến chuẩn dùng test pearson, biến không chuẩn dùng test spearman)

+ $r > 0$: tương quan tuyến tính đồng biến

+ $r < 0$: tương quan tuyến tính nghịch biến

+ $< 0,3$: tương quan tuyến tính yếu

+ $\geq 0,3 - 0,5$: tương quan tuyến tính trung bình

+ $\geq 0,5 - 0,7$: tương quan tuyến tính chặt chẽ

+ $\geq 0,7$: tương quan tuyến tính rất chặt chẽ

Các biến định tính hoặc một biến định tính và một biến định lượng dựa vào hệ số tương quan OR với độ tin cậy CI 95%.

- Chúng tôi sử dụng phân tích đa biến: giữa các biến định tính sử dụng mô hình hồi quy logistic (mức cutoff như trình bày trên phần 2.2.4). Trong y sinh học, thường có rất nhiều yếu tố khác nhau ảnh hưởng đến một hiện tượng, vì vậy, phân tích hồi quy tuyến tính đa biến cho ta biết mức độ ảnh hưởng của từng yếu tố lên biến kết cục trong mối tương quan của nhiều yếu tố. Ý nghĩa của các hệ số OR trong phân tích đa biến định lượng:

+ $OR < 1$: yếu tố bảo vệ

+ $OR = 1$: không tương quan

+ $OR > 1$: yếu tố nguy cơ

2.2.7. Hạn chế của đề tài

Đề tài tiến hành theo dõi dọc, tuy nhiên, do cỡ mẫu nhỏ nên chúng tôi không chia nhóm đánh giá bệnh nhân theo các loại thuốc điều trị. Mỗi thuốc có thể ảnh hưởng đến sự tiến triển của bệnh và biểu lộ khác nhau của cytokin nên đây là một trong các hạn chế của đề tài trong việc đánh giá sự thay đổi cytokin sau điều trị. Tuy vậy, việc đánh giá sự thay đổi cytokin trên các nhóm thay đổi triệu chứng sau điều trị vẫn đảm bảo đưa ra kết luận khách quan về liên quan giữa cytokin và thương tổn nội tạng. XCBHT là một bệnh mạn tính và cytokin trong giai đoạn muộn sẽ có các thay đổi đặc trưng khác nên đánh giá tiếp bệnh nhân các mốc thời gian sau 1 năm. Ngoài ra, do xét nghiệm trong nghiên cứu về cytokin rất đắt tiền nên chúng tôi chỉ làm 3 chứng là người khoẻ mạnh để ưu tiên cho làm xét nghiệm cho nhóm bệnh nhân và không đưa vào các phân tích trong đề tài. Các xét nghiệm thăm dò chức năng được làm trong bảo hiểm nên không tiến hành thường xuyên và không làm đồng loạt tất cả các thăm dò chức năng cơ quan nội tạng nếu không có bất thường về lâm sàng. Thời gian nghiên cứu trong vòng 3 năm nên cỡ mẫu chưa đủ lớn. Cần theo dõi tiếp nhóm bệnh nhân nghiên cứu và đánh giá lại các bệnh nhân.

2.3. ĐỊA ĐIỂM VÀ THỜI GIAN NGHIÊN CỨU

Địa điểm nghiên cứu: Bệnh viện Da liễu Trung ương và Khoa da Bệnh viện Kanazawa Nhật Bản

Thời gian nghiên cứu: 12/2014 -12/2017

2.4. ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU

- Nghiên cứu được sự đồng ý của hội đồng Trường Đại học Y Hà Nội và Bộ môn Da liễu Trường Đại học Y Hà Nội trong việc phối hợp tiến hành quản lý bệnh nhân tại Bệnh viện Da liễu Trung ương

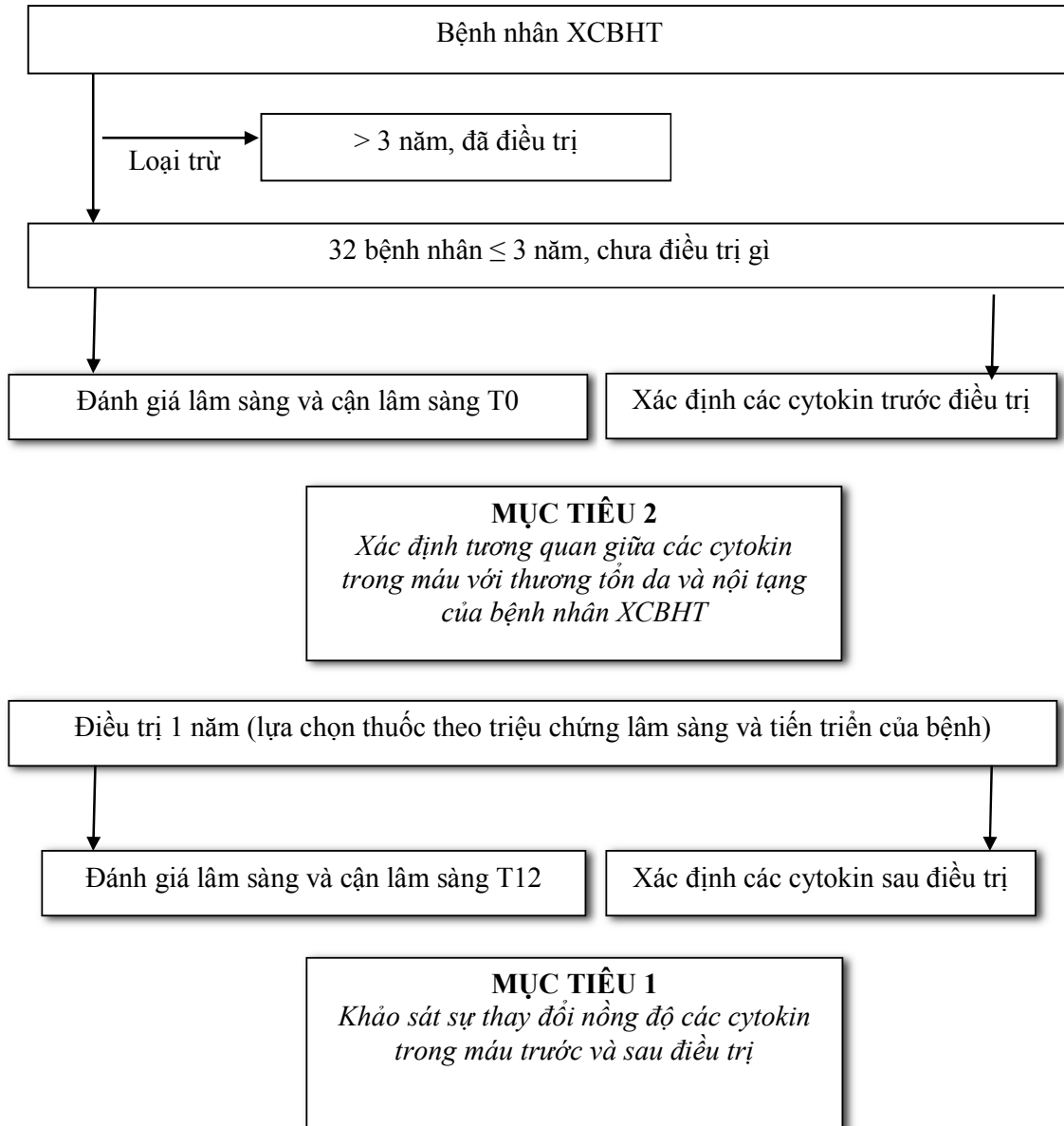
- Đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là các bệnh nhân được chẩn đoán XCBHT tự nguyện đến khám và điều trị, đồng ý làm xét nghiệm tại Bệnh viện Da liễu Trung ương. Phương pháp lấy bệnh phẩm máu tách huyết thanh là phương pháp lấy mẫu xét nghiệm thường quy không có biến chứng nguy hiểm, không gây ảnh hưởng đến sức khỏe bệnh nhân. Các xét nghiệm được tiến hành tại Bệnh viện Da liễu Trung ương, Bệnh viện Bạch Mai, Bệnh viện Lão khoa trung ương và Khoa da Bệnh viện Kanazawa Nhật Bản.

- Tính tự nguyện: nghiên cứu này là hoàn toàn tự nguyện và chỉ nhằm mục đích đánh giá các yếu tố liên quan đến chẩn đoán, theo dõi điều trị cho bệnh nhân, không nhằm mục đích nào khác. Những bệnh nhân có đủ tiêu chuẩn lựa chọn sẽ được giải thích chi tiết về nghiên cứu, những bệnh nhân đồng ý tham gia nghiên cứu sẽ được ký tên vào phiếu tình nguyện tham gia nghiên cứu.

- Tất cả các thông tin chi tiết về tình trạng bệnh tật của người bệnh được mã hóa và bảo mật kỹ càng.

- Lợi ích cho bệnh nhân: Bệnh nhân được làm xét nghiệm cytokin miễn phí.

Sơ đồ nghiên cứu



Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU

3.1.1. Đặc điểm chung

Bảng 3.1: Đặc điểm chung của bệnh nhân nghiên cứu

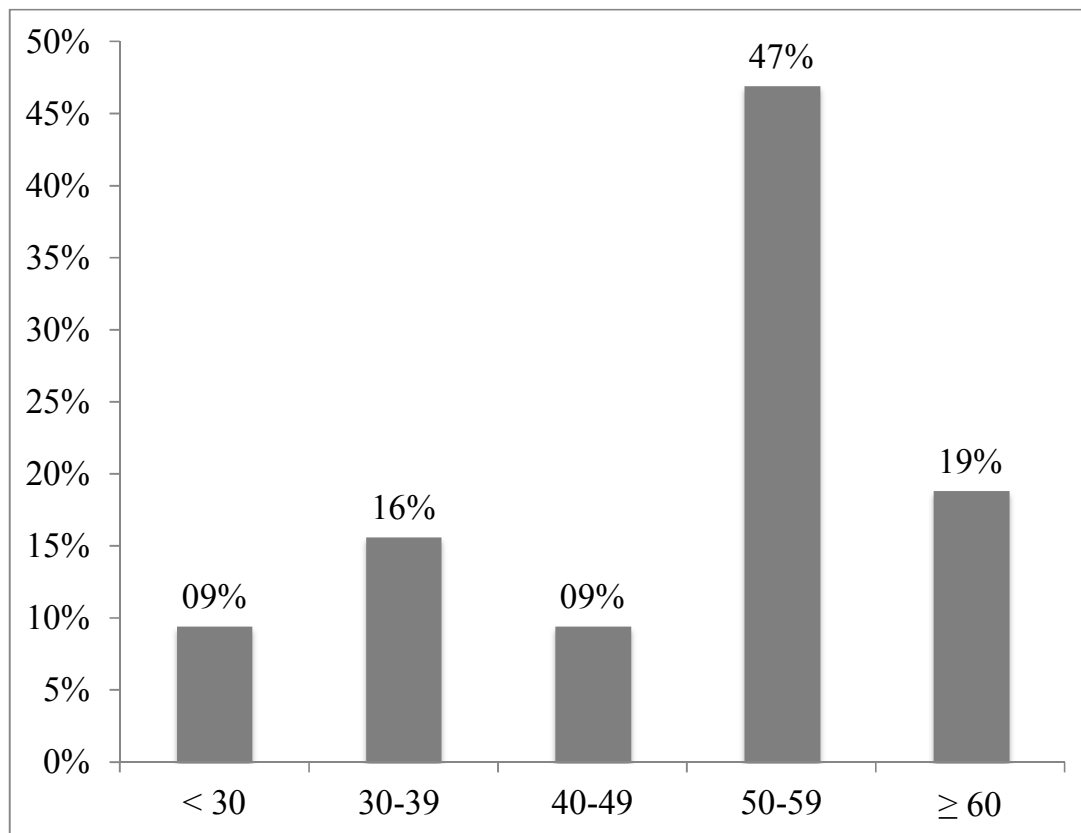
Đặc điểm	Tổng XCBHT N = 32	XCBHT	XCBHT	p
		thể lan toả n1 = 21	thể giới hạn n2 = 11	
N (%)	32	21 (65,6%)	11 (34,4%)	
Tuổi khởi phát (trung bình ± SD)	49,6 ± 12,0	47,5 ± 11,9	53,5 ± 11,6	0,2**
Nam: Nữ	2:5	2:5	3:8	0,9*
Thời gian bị bệnh (tháng)	10,8 ± 8,1	10,2 ± 7,3	12,0 ± 9,8	0,6**

* Kiểm định khi bình phương với biến định tính, ** Kiểm định t test với biến định lượng.

Có 21 bệnh nhân XCBHT thể lan toả (65,6%) và 11 bệnh nhân XCBHT thể giới hạn (34,4%). Thời gian bị bệnh trung bình của các bệnh nhân XCBHT là 10,8 ± 8,1 tháng. Tuổi khởi phát trung bình của các bệnh nhân XCBHT trong nghiên cứu là 49,6 ± 12,0 năm. Tuổi khởi phát trung bình của nhóm XCBHT thể giới hạn là 53,5 ± 11,6 năm; nhóm XCBHT thể

lan toả là $47,5 \pm 11,9$ năm, sự khác biệt giữa hai nhóm không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,2$.

3.1.2. Đặc điểm về tuổi khởi phát bệnh



Biểu đồ 3.1: Phân bố nhóm tuổi khởi phát

Nhóm tuổi khởi phát gặp nhiều nhất là 50-59 tuổi, chiếm 46,9%, tương ứng với 15 bệnh nhân.

3.1.3. Đặc điểm tự kháng thể

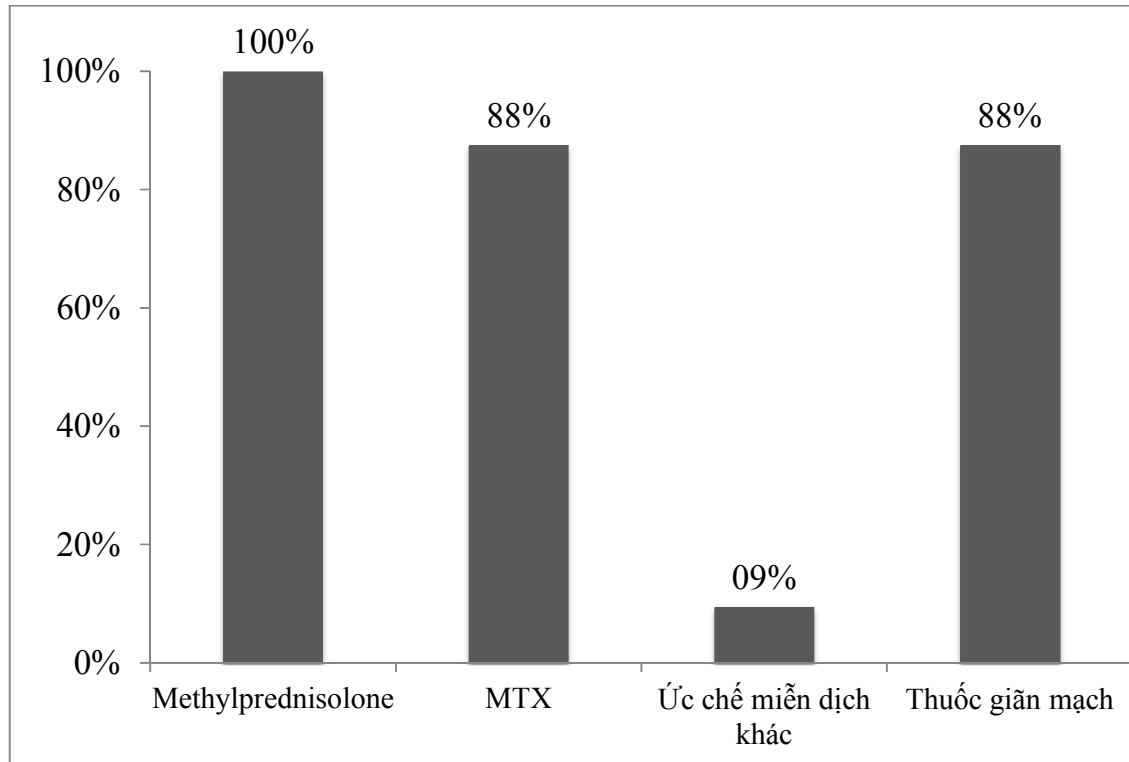
Bảng 3.2: Đặc điểm tự kháng thể

Đặc điểm	Tổng N = 32	XCBHT thể lan toả n1 = 21	XCBHT thể giới hạn n2 = 11	P *
ANA	32 (100%)	21/21 (100%)	11/11 (100%)	
ATA	26 (81,3%)	19/21 (90,5%)	7/11 (63,6%)	0,09
ACA	2 (6,3%)	1/21 (4,8%)	1/11 (9,1%)	0,58
RNAP	1 (3,1%)	1/21 (4,8%)	0/11 (0,0%)	0,66

* Kiểm định khi bình phương

Tất cả các bệnh nhân XCBHT trong nghiên cứu đều có tự kháng thể kháng nhân (ANA) dương tính. Trước điều trị, 81,3% bệnh nhân XCBHT có tự kháng thể ATA, 6,3% có ACA dương tính, 3,1% có RNAP dương tính. Không có sự khác biệt về tự kháng thể giữa thể giới hạn và thể lan toả.

3.1.4. Các thuốc điều trị



Biểu đồ 3.2: Tỷ lệ các loại thuốc lựa chọn dùng cho bệnh nhân XCBHT

Có 100% bệnh nhân XCBHT dùng methylprednisolone, 87,5% bệnh nhân sử dụng MTX và các thuốc giãn mạch (chủ yếu là nifedipin và bosentan), 9,4% dùng các thuốc ức chế miễn dịch khác bao gồm AZA và tacrolimus đường uống. Ngoài ra, các bệnh nhân còn được sử dụng thuốc bôi (chủ yếu là tacrolimus đường bôi và dưỡng ẩm), thuốc điều trị dạ dày, bổ sung canxi, vitamin E, sắt... tùy trường hợp dựa trên triệu chứng lâm sàng.

3.1.5. Đặc điểm thương tổn cơ quan

Bảng 3.3: Sự thay đổi thương tổn cơ quan trước và sau 1 năm điều trị

Đặc điểm	Tổng trước điều trị	Tổng sau 1 năm	Thể lan toả (n1 = 21)		Thể giới hạn (n2 = 11)	
	(N = 32)	(N = 32)	Trước điều trị	Sau 1 năm	Trước điều trị	Sau 1 năm
Loét đầu chi	6 (18,8%)	8 (25,0%)	4/21 (19,0%)	6/21 (28,6%)	2/11 (18,2%)	2/11 (18,2%)
mRSS	13,9 ± 8,7	10,6 ± 7,4***	17,7 ± 8,1	13,2 ± 7,7	6,6 ± 3,7	5,4 ± 2,9
ILD	25 (78,1%)	26 (81,3%)	16/21 (76,2%)	17/21 (81,0%)	9/11 (81,8%)	9/11 (81,8%)
PAH	13 (40,6%)	16 (50,0%)	7/21 (33,3%)	11/21 (52,4%)	6/11 (54,5%)	5/11 (45,5%)
Nuốt nghẹn	5 (15,6%)	7 (21,9%)	4/21 (19,0%)	5/21 (23,8%)	1/11 (9,1%)	2/11 (18,2%)
Rối loạn tổng phân tích nước tiểu	7 (21,9%)	11 (34,4%)	5/21 (23,8%)	8/21 (38,1%)	2/11 (18,2%)	3/11 (27,3%)
Thương tổn cơ	8 (25%)	9 (28,1%)	5/21 (23,8%)	6/21 (28,6%)	3/11 (27,3%)	2/11 (18,2%)
Đau khớp	18 (56,3%)	20 (62,5%)	13/21 (61,9%)	14/21 (66,7%)	5/11 (45,5%)	6/11 (54,5%)

*** p = 0,001. Kiểm định t test với biến định lượng, kiểm định khi bình phương với biến định tính.

Trước điều trị, mRSS trung bình là 13,9 ± 8,7. Trong đó, nhóm XCBHT thể lan toả có mRSS trung bình là 17,7 ± 8,1, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với thể giới hạn (có mRSS trung bình 6,6 ± 3,7; p = 0,0001). 25 bệnh nhân có ILD (78,1%), 13 bệnh nhân có PAH (40,6%), 6 bệnh nhân loét đầu chi (18,8%), 5 bệnh nhân nuốt nghẹn (15,6%), 18 bệnh nhân đau khớp (56,3%) và 8 bệnh nhân có thương tổn cơ (25%). mRSS thay đổi sau 1 năm có ý nghĩa thống kê với p = 0,001. Sau 1 năm, XCBHT thể lan toả có thêm 2 bệnh nhân loét đầu chi, 4 bệnh nhân PAH, 3 bệnh nhân bất thường tổng phân tích nước tiểu.

3.2. NỒNG ĐỘ CÁC CYTOKIN VÀ YẾU TỐ LIÊN QUAN

3.2.1. Thay đổi cytokin trước và sau 1 năm điều trị

Bảng 3.4: Thay đổi nồng độ của các cytokin trước và sau 1 năm điều trị

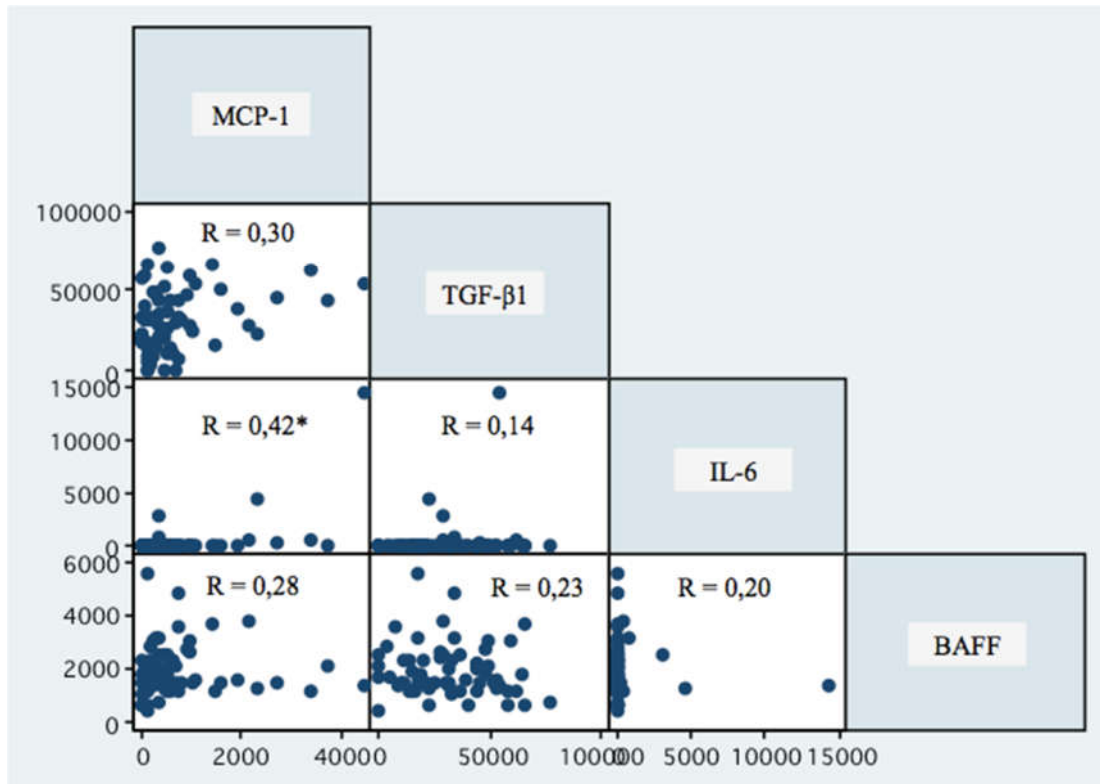
Cytokin (pg/ml)	Trước điều trị				Sau 1 năm				P *
	N (%)	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	N (%)	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
TNF	13 (40,6)	8,1 ± 17,9	0	0-68	8 (25)	4,7 ± 13,7	0	0-71	0,16
MCP-1	31 (96,9)	673,6 ± 702,7	439	0-2730	30 (93,8)	793,6 ± 1094,5	450	0-4445	0,54
TGF-β1	30 (93,8)	28367,0 ± 18037,7	28669	0-65800	31 (96,9)	34562,8 ± 20256,8	32274	0-77300	0,18
IL-6	32 (100)	301,1 ± 950,5	9	2-4541	32 (100)	482,7 ± 2537,5	14	2-14400	0,91
BAFF	32 (100)	2148,1 ± 979,4	1977	430-4820	32 (100)	1683,7 ± 919,1	1488	608-5523	0,007
IL-10	10 (31,3)	3,1 ± 14,9	0	0-85	8 (25)	5,2 ± 21,9	0	0-124	0,62
IL-2	12 (37,5)	3,1 ± 9,9	9	0-54	13 (40,6)	2,7 ± 6,8	0	0-33	0,73
IL-4	8 (25)	2,9 ± 13,1	0	0-74	9 (28,1)	1,4 ± 4,6	0	0-24	0,68
IFN-γ	4 (12,5)	0,1 ± 0,2	0	0-1	1 (3,1)	0,01 ± 0,1	0	0-0,31	0,13
IL-17A	8 (25)	19,4 ± 92,1	0	0-523	2 (6,3)	1,4 ± 7,7	0	0-44	0,09

* Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks

Trong 10 cytokin khảo sát, MCP-1, TGF- β 1, IL-6 và BAFF là các cytokin phát hiện dễ dàng trong máu bệnh nhân XCBHT. TNF, IL-10 và IL-2 có tỷ lệ phát hiện từ 30% - 50%. 3 cytokin IFN- γ , IL-4 và IL-17A có tỷ lệ phát hiện dưới 30%. Chỉ có BAFF giảm có ý nghĩa thống kê sau 1 năm điều trị. MCP-1, TGF- β 1, IL-6 và IL-10 có trung bình, trung vị và khoảng min-max tăng lên so với trước điều trị, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Số bệnh nhân phát hiện được TNF trong huyết thanh giảm từ 13 xuống 8, IFN- γ giảm từ 4 xuống 1 và IL-17A giảm từ 8 xuống 2 bệnh nhân sau điều trị. Sự thay đổi IL-2, IL-4 sau điều trị không khác biệt.

3.2.2. Phân tích tương quan đơn biến giữa các cytokin

3.2.2.1. Trước điều trị

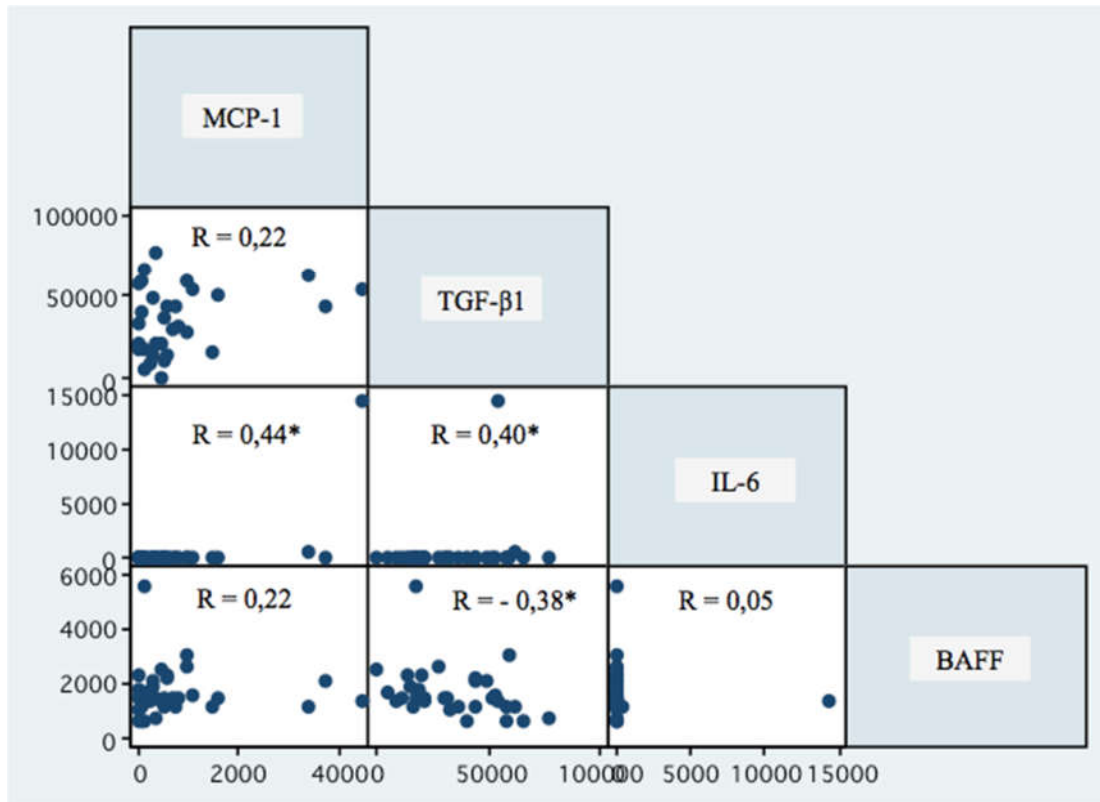


* $p < 0,05$ (Kiểm định Spearman's). Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Biểu đồ 3.3: Môi tương quan giữa nồng độ của MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF trước điều trị

Trước điều trị, trong mô hình đơn biến chỉ phát hiện tương quan tuyến tính đồng biến giữa nồng độ của MCP-1 và IL-6 trong huyết thanh $r = 0,42$, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,02$. Ý nghĩa của tương quan tuyến tính đồng biến này là: bệnh nhân có MCP-1 cao thì IL-6 cũng cao và ngược lại.

3.2.2.2. Sau 1 năm điều trị



* $p < 0,05$ (Kiểm định Spearman's). Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF- β 1, IL-6 và BAFF.

Biểu đồ 3.4: Mối tương quan giữa nồng độ của MCP-1, TGF- β 1, IL-6 và BAFF sau 1 năm điều trị

Sau 1 năm điều trị, trong mô hình đơn biến, ngoài tương quan đồng biến giữa MCP-1 và IL-6 ($r = 0,44$; $p = 0,01$) như thời điểm trước điều trị, xuất hiện thêm tương quan đồng biến có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ TGF- β 1 với IL-6 ($r = 0,40$; $p = 0,02$) và tương quan nghịch biến có ý nghĩa thống kê giữa TGF- β 1 với BAFF ($r = -0,38$; $p = 0,03$).

3.2.3. Liên quan giữa nồng độ cytokin và yếu tố khác

3.2.3.1. Liên quan giữa nồng độ các cytokin với giới tính

Bảng 3.5: Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với giới tính

Cytokin (pg/ml)	Nam (n = 9)			Nữ (n = 23)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	782,6 ± 564,9	709	299-2189	630,9 ± 756,9	352	0-2731	0,07
TGF-β1	31862,8 ± 21181,9	33513	51-64389	26999,1 ± 16980,9	27172	0-65849	0,46
IL-6	171,4 ± 314,5	20	5-911	351,8 ± 1107,9	9	2-4541	0,56
BAFF	2921,4 ± 1093,0	3097	1258-4820	1845,4 ± 759,4	1665	430-3621	0,01

* Kiểm định Mann-Whitney U. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Tại thời điểm trước điều trị, nồng độ BAFF của nam cao hơn nữ, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với p = 0,01.

3.2.3.2. Liên quan giữa nồng độ các cytokin với thể bệnh

Bảng 3.6: Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với thể bệnh

Cytokin (pg/ml)	XCBHT thể lan toả (n1 = 21)				XCBHT thể giới hạn (n2 = 11)				P *
	N (%)	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	N (%)	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
TNF	9 (42,9)	9,9 ± 20,8	0	0-68	4 (36,4)	4,6 ± 10,6	0	0-35	0,61
MCP-1	21 (100)	619,6 ± 633,8	370	120-2317	10 (90,9)	776,6 ± 842,4	558	0-2730	0,73
TGF-β1	19 (90,5)	26823,2 ± 20669,5	25429	0-65848	11 (100)	31314,3 ± 11815,1	33513	10753-48122	0,31
IL-6	21 (100)	251,9 ± 987,8	9	2-4541	11 (100)	394,9 ± 913,4	21	4-3028	0,18
BAFF	21 (100)	2087,8 ± 921,3	1803	430-3735	11 (100)	2263,0 ± 1119,7	2279	649-4820	0,73
IL-10	5 (23,8)	4,3 ± 18,4	0	0-85	5 (45,5)	0,8 ± 1,9	0	0-7	0,51
IL-4	7 (33,3)	4,3 ± 16,1	0	0-74	1 (9,0)	0,4 ± 1,2	0	0-4	0,31
IFN-γ	4 (19,0)	0,1 ± 0,2	0	0-1	0 (0)	0	0	0	0,39
IL-17A	6 (28,6)	4,2 ± 8,5	0	0-31	2 (18,2)	48,3 ± 157,4	0	0-523	0,70
IL-2	10 (47,6)	3,8 ± 11,6	0	0-54	2 (18,2)	1,7 ± 5,3	0	0-18	0,22

* Kiểm định Wilcoxon Signed Ranks

Các cytokin không khác biệt giữa nhóm XCBHT thể lan toả và thể giới hạn.

3.2.3.3. Liên quan giữa nồng độ cytokin với ANA

Bảng 3.7: Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với ANA

Cytokin (pg/ml)	ANA 3+ (n = 12)			ANA 4+ (n = 20)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	489,6 ± 587,9	315	0-2189	783,9 ± 755,9	531	120-2731	0,14
TGF-β1	30849,2 ± 19802,2	30930	51-64389	26877,7 ± 17251,2	26301	0-65849	0,51
IL-6	47,1 ± 130,9	8	3-462	453,5 ± 1182,7	15	2-4541	0,049
BAFF	2251,4 ± 1170,0	1977	649-4820	2086,1 ± 872,7	2022	430-3621	0,76

* Kiểm định Mann-Whitney U. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Tại thời điểm trước điều trị, nồng độ IL-6 của nhóm ANA 4+ cao hơn nhóm 3+, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,049$.

3.2.3.4. Liên quan giữa nồng độ cytokin với ATA

Bảng 3.8: Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với ATA

Cytokin (pg/ml)	ATA - (n = 6)			ATA + (n = 26)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	737,0 ± 1005,9	463	0-2731	658,9 ± 639,4	439	102-2317	0,85
TGF-β1	20396,9 ± 15622,4	18963	0-44936	30206,3 ± 18326,8	30930	0-65849	0,22
IL-6	544,9 ± 1219,5	9	2-3028	244,8 ± 897,3	10	3-4541	0,90
BAFF	1421,2 ± 840,1	1335	430-2499	2315,8 ± 944,5	2034	1204-4820	0,04

* Kiểm định Mann-Whitney U. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Tại thời điểm trước điều trị, nồng độ BAFF của nhóm ATA dương tính cao hơn nhóm âm tính, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,04$. Có 2 bệnh nhân ACA dương tính và 1 bệnh nhân RNAP dương tính. Không có sự khác biệt giữa nồng độ của các cytokin trước điều trị với nhóm có và không có tự kháng thể ACA và RNAP (sử dụng kiểm định Mann-Whitney U).

3.2.3.5. Liên quan giữa nồng độ cytokin với tuổi khởi phát và thời gian bị bệnh

Bảng 3.9: Liên quan giữa nồng độ cytokin trước điều trị với tuổi và thời gian bị bệnh

Cytokin (pg/ml)	Tuổi khởi phát (năm)		Thời gian bị bệnh (tháng)	
	r	Phương trình	r	Phương trình
MCP-1	0,16	451,5+4,5 x Tuổi	-0,14	5888,4+7,9 x Thời gian
TGF-β1	-0,26	42148,5-278,1 x Tuổi	0,26	22867,9+508,6 x Thời gian
IL-6	0,10	570,7-5,4 x Tuổi	-0,02	408,9-9,9 x Thời gian
BAFF	-0,02	2036,9 +2,2 x Tuổi	-0,36 *	2660,7-47,4 x Thời gian**

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ / $R = 0,39$. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Có tương quan tuyến tính nghịch biến giữa nồng độ BAFF trước điều trị với thời gian bị bệnh ($r = -0,36$; $p = 0,04$). Theo phương trình đơn biến, thời gian từ khi bị bệnh cho đến khi vào nghiên cứu cứ tăng 1 tháng thì nồng độ BAFF tăng 47,4 pg/ml. Phương trình giải thích được 39% số bệnh nhân trong nghiên cứu và có ý nghĩa thống kê với $p = 0,03$.

3.3. TƯƠNG QUAN GIỮA CYTOKIN VỚI THƯƠNG TỔN DA VÀ NỘI TẠNG

3.3.1. Thương tổn loét đầu chi

3.3.1.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.10: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn loét đầu chi

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thể bệnh (thể lan toả)	1,9 (0,1-64,7)	0,7
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,4 (0,01-12,7)	0,6
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	0,1 (0,004-5,9)	0,3
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	8,5 (0,2-365,9)	0,3
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	10,1 (0,2-424,2)	0,2
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	1,0 (0,03-37,5)	0,9
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	4,7 (0,1-197,1)	0,4
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	76,9 (1,2-4911,6)	0,04
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	2,4 (0,04-126,6)	0,7

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy IL-10 trên ngưỡng phát hiện làm tăng loét đầu chi lên 76,9 lần với 95% CI: 1,2-4911,6; p = 0,04.

3.3.1.2. Liên quan giữa loét đầu chi với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.11: Phân tích sự thay đổi thương tổn loét đầu chi theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 3)			Không thay đổi (n2 = 24)			Nặng lên (n3 = 5)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	284,3 ± 203,5	349	56-448	912,6 ± 1220,7	519	0-4445	527,8 ± 572,3	380	71-1484	0,65
TGF-β1	46539,5 ± 28244,4	40603	21735- 77280	31663,5 ± 19045,0	30594	0-62225	41293,3 ± 21931,9	44359	15844- 65622	0,38
IL-6	7,5 ± 7,5	4	3-16	639,2 ± 2928,6	14	2-14381	16,7 ± 9,7	22	6-25	0,38
BAFF	879,3 ± 395,6	696	608-1333	1860,6 ± 959,0	1563	658-5523	1317,2 ± 582,2	1159	620-2200	0,03

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 3 bệnh nhân cải thiện loét đầu chi và 5 bệnh nhân nặng lên. Nhóm loét đầu chi nặng lên có trung bình, trung vị và khoảng min-max của BAFF cao hơn so với nhóm loét đầu chi cải thiện, có ý nghĩa thống kê với $p = 0,03$.

3.3.2. Thương tổn dày da

3.3.2.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.12: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn dày da nặng

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,7 (0,1-3,8)	0,7
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	0,2 (0,04-1,7)	0,2
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	2,6 (0,4-15,4)	0,3
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	0,6 (0,1-4,1)	0,6
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	1,1 (0,2-7,3)	0,9
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	1,3 (0,3-6,3)	0,7
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	3,3 (0,5-22,6)	0,2
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	1,2 (0,2-8,2)	0,9

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy không có yếu tố nguy cơ nào làm nặng thương tổn da.

3.3.2.2. Liên quan giữa thương tổn dày da với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.13: Phân tích sự thay đổi thương tổn dày da theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 16)			Không thay đổi (n2 = 12)			Nặng lên (n3 = 4)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	868,9 ± 1134,9	485	0-3742	701,7 ± 1230,1	308	33-4445	767,7 ± 571,1	672	242-1484	0,62
TGF-β1	43781,1 ± 18295,3	43765	14084- 77280	27639,5 ± 20296,7	19532	0-58668	18459,7 ± 8087,1	18909	8613- 27407	0,04
IL-6	39,8 ± 111,7	10	2-457	1225,2 ± 4143,3	21	2-14381	26,7 ± 32,6	13	6-75	0,51
BAFF	1426,9 ± 697,9	1269	608-3057	2038,7 ± 1172,4	1625	1123-5523	1645,4 ± 628,7	1428	1159-2567	0,16

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 16 bệnh nhân cải thiện thương tổn dày da và 4 bệnh nhân nặng lên. TGF-β1 thấp hơn ở nhóm thương tổn dày da nặng có ý nghĩa thống kê so với nhóm thương tổn dày da cải thiện với $p = 0,04$.

3.3.3. Thương tổn bệnh phổi kẽ (ILD)

3.3.3.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.14: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn ILD nặng trên HRCT (chỉ số HRCT > 5)

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thể bệnh (thể lan toả)	17,9 (0,7-494,2)	0,09
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,2 (0,01-4,7)	0,3
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	1,9 (0,1-40,0)	0,7
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	42,1 (1,1-1643,1)	0,045
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	0,03 (0-3,7)	0,1
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	0,02 (0-1,1)	0,06
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	0,1 (0,01-1,7)	0,1
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	236,2 (1,4-38664,9)	0,036
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	0,1 (0,01-2,4)	0,2

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy sự xuất hiện của MCP-1 với nồng độ ≥ 389,2 pg/ml làm tăng nguy cơ gặp ILD nặng lên 42,1 lần (95% CI: 1,1 – 1643,1). Nồng độ IL-10 trên ngưỡng phát hiện làm tăng nguy cơ gặp ILD nặng lên 236,2 lần (95% CI: 1,4 – 38664,9).

3.3.3.2. Liên quan giữa thương tổn ILD với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.15: Phân tích sự thay đổi thương tổn ILD trên HRCT theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 3)			Không thay đổi (n2 = 17)			Nặng lên (n3 = 12)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trun g vị	Min - Max	
MCP-1	254,9 ± 271,0	164	41-560	1004,4 ± 1079,7	781	33-3742	629,6 ± 1220,6	308	0-4445	0,12
TGF-β1	17413,3 ± 3166,6	17769	14084- 20387	38199,8 ± 19230,6	40603	4936- 77280	33697,7 ± 22698,0	31561	0-65622	0,24
IL-6	32,9 ± 48,1	8	2-88	49,2 ± 108,6	16	2-457	1209,2 ± 4148,2	9	2-14381	0,58
BAFF	3392,2 ± 1845,7	2349	2304-5523	1565,2 ± 627,8	1493	608-3057	1424,5 ± 544,8	1420	620-2478	0,04

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 3 bệnh nhân cải thiện ILD và 12 bệnh nhân nặng lên. Nhóm ILD nặng lên có trung bình, trung vị và khoảng min-max của BAFF thấp hơn so với nhóm ILD cải thiện, có ý nghĩa thống kê với $p=0,04$.

3.3.4. Thương tổn tăng áp lực động mạch phổi (PAH)

3.3.4.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.16: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn PAH trên siêu âm tim qua thành ngực

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thể bệnh (thể lan toả)	1,8 (0,2-13,4)	0,6
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	1,2 (0,2-8,8)	0,9
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	0,7 (0,1-5,2)	0,7
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	3,7 (0,5-26,6)	0,2
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	3,1 (0,3-37,0)	0,4
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	0,7 (0,1-5,3)	0,8
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	0,6 (0,1-3,6)	0,5
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	0,5 (0,1-3,6)	0,5
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	2,1 (0,2-18,2)	0,5

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy không có yếu tố nguy cơ nào làm tăng tỷ lệ xuất hiện của PAH.

3.3.4.2. Liên quan giữa thương tổn PAH với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.17: Phân tích sự thay đổi thương tổn PAH trên siêu âm tim qua thành ngực theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 4)			Không thay đổi (n2 = 18)			Nặng lên (n3 = 10)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	422,9 ± 377,1	437	37-437	1004,9 ± 1387,8	483	0-4445	561,3 ± 480,1	414	0-1484	0,92
TGF-β1	27112,6 ± 12543,9	23825	17068- 43732	36857,7 ± 23382,7	38614	0-77280	33412,1 ± 17073,9	30324	8613- 58668	0,71
IL-6	29,5 ± 39,7	14	2-88	840,9 ± 3380,9	13	2-14381	19,1 ± 21,6	13	3-75	0,92
BAFF	2400,6 ± 2089,2	1484	1111-5523	1572,7 ± 700,5	1505	608-3057	1596,7 ± 516,2	1428	1040-2567	0,97

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 4 bệnh nhân cải thiện PAH và 10 bệnh nhân nặng lên. Nhóm PAH nặng lên có trung bình, trung vị và khoảng min-max của BAFF thấp hơn và TGF-β1 cao hơn so với nhóm PAH cải thiện. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.3.5. Thương tổn tiêu hoá

3.3.5.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.18: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn ruột nheñ

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thể bệnh (thể lan toả)	1,5 (0,03-84,7)	0,9
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,2 (0,002-14,4)	0,4
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	140,3 (0,1-143044,2)	0,2
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	82,0 (0,1-82695,6)	0,2
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	30,3 (0,1-7230,9)	0,2
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	0 (0-6,2)	0,1
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	0,1 (0,002-3,9)	0,2
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	0 (0-4,1)	0,9
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	15 (0,02-10,3)	0,6

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy không có yếu tố nguy cơ nào làm tăng tỷ lệ xuất hiện của triệu chứng ruột nheñ.

3.3.5.2. Liên quan giữa thương tổn tiêu hoá với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.19: Phân tích sự thay đổi thương tổn ruột nghẹn theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 3)			Không thay đổi (n2 = 25)			Nặng lên (n3 = 4)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	532,2 ± 824,6	71	41-1484	890,3 ± 1198,3	452	0-4445	385,3 ± 262,3	481	0-579	0,68
TGF-β1	31632,8 ± 23522,7	20387	15844- 58668	36037,3 ± 21123,5	36625	0-77280	27544,5 ± 14466,4	27488	10844- 44359	0,78
IL-6	10,9 ± 11,6	6	2-24	614,6 ± 2869,5	15	2-14381	11,8 ± 10,3	11	3-22	0,43
BAFF	1543,8 ± 697,7	1159	1123-2349	1728,3 ± 1005,3	1504	608-5523	1509,9 ± 493,3	1400	1040-2200	0,78

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 3 bệnh nhân cải thiện ruột nghẹn và 4 bệnh nhân nặng lên. Nhóm bệnh nhân có triệu chứng ruột nghẹn nặng lên có trung bình, trung vị và khoảng min-max của IL-6 cao hơn so với nhóm cải thiện. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.3.6. Thương tổn thận

3.3.6.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.20: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp bất thường tổng phân tích nước tiểu

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thể bệnh (thể lan toả)	1,9 (0,04-71,2)	0,9
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,03 (0,001-1,2)	0,06
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	1,5 (0,03-79,9)	0,8
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	0,05 (0,001-2,6)	0,2
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	2,1 (0,1-74,9)	0,7
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	5,3 (0,2-183,9)	0,4
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	0,1 (0,003-5,9)	0,3
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	0,3 (0,01-6,9)	0,5
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	7,2 (0,1-486,8)	0,4

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy không có yếu tố nguy cơ nào làm tăng tỷ lệ xuất hiện của bất thường tổng phân tích nước tiểu.

3.3.6.2. Liên quan giữa thương tổn thận với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.21: Phân tích sự thay đổi thương tổn tổng phân tích nước tiểu theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 2)			Không thay đổi (n2 = 25)			Nặng lên (n3 = 5)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	907,8 ± 815,2	908	331-1484	887,3 ± 1199,1	515	0-4445	278,9 ± 314,2	164	33-781	0,32
TGF-β1	32343,9 ± 23334,5	32344	15844- 48844	36884,1 ± 21358,5	36625	0-77280	23843,9 ± 11275,6	18676	17068- 43732	0,47
IL-6	6,4 ± 0,0	6	6	612,4 ± 2869,9	20	2-14381	24,8 ± 35,9	12	2-88	0,44
BAFF	1620,2 ± 652,4	1620	1159-2082	1572,9 ± 654,7	1493	608-3057	2262,7 ± 1835,9	1484	1111-5523	0,93

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 2 bệnh nhân cải thiện triệu chứng bất thường tổng phân tích nước tiểu và 5 bệnh nhân nặng lên. Nhóm nặng lên có trung bình, trung vị và khoảng min-max của MCP-1 và TGF-β1 thấp hơn, IL-6 cao hơn so với nhóm cải thiện. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.3.7. Thương tổn cơ

3.3.7.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.22: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn cơ

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Thể bệnh (thể lan toả)	1,3 (0,1-14,8)	0,8
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	4,2 (0,3-66,5)	0,3
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	0,6 (0,08-4,7)	0,6
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	1,7 (0,2-15,4)	0,6
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	0,7 (0,05-9,3)	0,8
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	0,4 (0,04-3,8)	0,4
BAFF (≥ 1977,1 pg/ml)	3,7 (0,5-28,4)	0,2
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	3,2 (0,3-36,2)	0,4
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	0,4 (0,04-4,9)	0,5

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy không có yếu tố nguy cơ nào làm tăng tỷ lệ xuất hiện của thương tổn cơ.

3.3.7.2. Liên quan giữa thương tổn cơ với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.23: Phân tích sự thay đổi thương tổn cơ theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 3)			Không thay đổi (n2 = 28)			Nặng lên (n3 = 1)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	794,6 ± 597,2	452	448-1484	820,3 ± 1152,1	447	0-4445	40,9	40,9	40,9	0,37
TGF-β1	12526,3 ± 11240,9	15844	0-21735	37430,1 ± 19795,1	38614	4936- 77280	20386,9	20386, 9	20386,9	0,13
IL-6	4,7 ± 1,8	5	3-6	551,1 ± 2711,9	18	2-14381	2,4	2,4	2,4	0,05
BAFF	1656,7 ± 716,6	1333	1159-2478	1662,8 ± 956,5	1488	608-5523	2349,2	2349,2	2349,2	0,46

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 3 bệnh nhân cải thiện thương tổn cơ và 1 bệnh nhân nặng lên. Sự khác biệt về nồng độ các cytokin của bệnh nhân nặng lên không có ý nghĩa thống kê so với nhóm cải thiện.

3.3.8. Thương tổn khớp

3.3.8.1. Phân tích đa biến trước điều trị

Bảng 3.24: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp thương tổn đau khớp

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Giới (nam)	0,04 (0,002-0,9)	0,05
Thể bệnh (thể lan toả)	14,7 (0,9-243,6)	0,06
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	0,3 (0,02-3,4)	0,3
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	2,2 (0,2-25,2)	0,5
MCP-1(≥ 389,2 pg/ml)	30,8 (1,4-673,1)	0,03
TGF-β1 (≥ 46404 pg/ml)	2,5 (0,1-53,3)	0,6
IL-6 (≥ 9,06 pg/ml)	0,8 (0,1-7,5)	0,8
BAFF (≥ 1977.1 pg/ml)	2,5 (0,3-23,5)	0,4
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	23,2 (1,0-514,8)	0,047
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	0,9 (0,1-7,3)	0,9

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy sự xuất hiện của MCP-1 với nồng độ $\geq 389,2$ pg/ml làm tăng nguy cơ gặp đau khớp lên 30,8 lần (95% CI: 1,4 – 673,1). IL-10 trên ngưỡng phát hiện làm tăng nguy cơ gặp đau khớp lên 23,2 lần (95% CI: 1,0 – 514,8).

3.3.8.2. Liên quan giữa thương tổn khớp với nồng độ cytokin sau 1 năm điều trị

Bảng 3.25: Phân tích sự thay đổi thương tổn khớp theo nồng độ cytokin

Cytokin (pg/ml)	Cải thiện (n1 = 10)			Không thay đổi (n2 = 14)			Nặng lên (n3 = 8)			P *
	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	$\bar{X} \pm SD$	Trung vị	Min - Max	
MCP-1	1157,1 ± 1350,3	635	56-3742	512,1 ± 475,1	450	0-1575	831,6 ± 1480,9	332	41-4445	0,50
TGF-β1	39451,4 ± 22515,1	35242	14083- 77280	34426,3 ± 18964,5	34933	0-58820	28691,0 ± 20589,9	21181	4936- 58667	0,59
IL-6	69,2 ± 139,8	13	2-457	20,6 ± 26,4	17	2-107	1808,2 ± 5080,4	11	2-14381	0,95
BAFF	1823,8 ± 1477,4	1355	608-5523	1656,9 ± 620,7	1505	658-3057	1555,4 ± 412,9	1476	1111-2349	0,88

* Kiểm định Kruskal Wallis. Chỉ đưa vào phân tích tương quan giữa 4 cytokin có tỷ lệ phát hiện trên 90% trong máu là MCP-1, TGF-β1, IL-6 và BAFF.

Sau 1 năm điều trị, có 10 bệnh nhân cải thiện triệu chứng đau khớp và 8 bệnh nhân nặng lên. Nhóm cải thiện có trung bình, trung vị và khoảng min-max của TGF-β cao hơn nhóm nặng lên. Tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

3.3.9. Thương tổn cơ quan phối hợp

3.3.9.1. Tỷ lệ bệnh nhân gặp nhiều thương tổn cơ quan cùng lúc trước điều trị

Bảng 3.26: Tỷ lệ phối hợp thương tổn cơ quan trước điều trị

Số thương tổn	2	3	4	5	6	Tổng
N	3	10	10	7	2	32
%	9,4	31,2	31,2	21,9	6,2	100

100% bệnh nhân trong nghiên cứu có ≥ 2 thương tổn cơ quan trong đó luôn có thương tổn da. Bệnh nhân có 3 hoặc 4 thương tổn cơ quan gặp tỷ lệ cao nhất là 62,4% bệnh nhân.

3.3.9.2. Phân tích đa biến nguy cơ xuất hiện thương tổn phổi hợp trước điều trị

Bảng 3.27: Phân tích đa biến yếu tố nguy cơ gặp ≥ 4 thương tổn phổi hợp

Các yếu tố nguy cơ	OR (95%CI)*	P
Giới (nam)	0,5 (0,04-5,2)	0,5
Thể bệnh (thể lan toả)	0,1 (0,01-2,0)	0,1
Thời gian bị bệnh (< 12 tháng)	1,9 (0,1-26,3)	0,6
TNF (trên ngưỡng phát hiện)	1,0 (0,1-8,2)	0,9
MCP-1($\geq 389,2$ pg/ml)	0,3 (0,03-4,2)	0,4
TGF- β 1 (≥ 46404 pg/ml)	1,4 (0,1-23,3)	0,8
IL-6 ($\geq 9,06$ pg/ml)	1,1 (0,1-10,5)	0,9
BAFF (< 1977,1 pg/ml)	10,1 (1,0-98,3)	0,046
IL-10 (trên ngưỡng phát hiện)	0,1 (0,01-1,8)	0,1
IL-2 (trên ngưỡng phát hiện)	1,5 (0,1-20,3)	0,8

* Hồi quy Regression Binary Logistic. Chỉ phân tích các cytokin có tỷ lệ phát hiện trong máu > 30%.

Mô hình đa biến cho thấy sự xuất hiện của BAFF với nồng độ < 1977,1 pg/ml làm tăng nguy cơ gặp ≥ 4 thương tổn phổi hợp lên 10,1 lần (95% CI: 1,0 – 98,3).

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM NHÓM NGHIÊN CỨU

4.1.1. Đặc điểm chung của nhóm bệnh nhân XCBHT

Tuổi khởi phát bệnh trung bình của các bệnh nhân XCBHT trong nghiên cứu của chúng tôi là $49,6 \pm 12,0$ tương tự với kết quả trong nghiên cứu của Elhai và cộng sự năm 2012 [18]. Kết quả trong phân tích của Elhai và cộng sự cho thấy tuổi khởi phát trung bình của XCBHT là 46 tuổi. Kết quả này phù hợp với tuổi khởi phát muộn của bệnh.

Chúng tôi lựa chọn các bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm, chưa được điều trị gì nhằm mục đích đánh giá đặc điểm lâm sàng và biến đổi cytokin trong giai đoạn đầu của bệnh. Thời gian bị bệnh trung bình của bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi là $10,8 \pm 8,1$ tháng, sớm hơn so với các nghiên cứu khác cùng nghiên cứu về giai đoạn sớm của bệnh: Hasegawa và cộng sự năm 2011 [12] khảo sát 31 bệnh nhân Nhật Bản có thời gian bị bệnh trung bình là 21 ± 15 tháng. Trong khi đó, Matsushita và cộng sự năm 2006 [11] xác định BAFF trên 83 bệnh nhân có thời gian bị bệnh trung bình là 27 tháng. Bệnh nhân XCBHT có biểu hiện lâm sàng đa dạng. Trong giai đoạn đầu, biểu hiện lâm sàng thường chưa rõ ràng nên bị chẩn đoán nhầm hoặc muộn. Vì vậy, nghiên cứu về XCBHT giai đoạn sớm trên thế giới rất hiếm và cỡ mẫu thường nhỏ. Thời gian bị bệnh trung bình trong nghiên cứu của chúng tôi là sớm nhất so với các nghiên cứu cùng mục tiêu.

Theo nghiên cứu của chúng tôi, trong tổng số 32 bệnh nhân, có 23 bệnh nhân nữ, chiếm 72%. Tỷ lệ nam : nữ xấp xỉ 2:5. Kết quả này phù hợp với đặc điểm dịch tễ của bệnh XCBHT, thường gặp ở nữ nhiều hơn nam và tương tự

kết quả của Elhai và cộng sự [18] (nữ chiếm 83%), tác giả Tuyền và cộng sự [42] (nữ chiếm 65% ở thể lan toả và 93,3% ở thể giới hạn).

Trong nghiên cứu của chúng tôi, có 21 bệnh nhân XCBHT thể lan toả (65,6%) và 11 bệnh nhân XCBHT thể giới hạn (34,4%). Kết quả này ngược lại với dịch tễ thông thường của bệnh XCBHT. Theo Elhai và cộng sự [18], thể lan toả chiếm 26%, còn thể giới hạn là 63%. Trong khi đó, một số nghiên cứu khác trên thế giới gặp thể lan toả cao hơn thể giới hạn. Matsushita [11] nghiên cứu trên 83 bệnh nhân XCBHT của Nhật Bản cho kết quả: 54,2% thể lan toả, 45,8% thể giới hạn. Sự khác nhau này có thể do bệnh nhân của chúng tôi lựa chọn khám tại Bệnh viện Da liễu Trung ương là tuyến cao nhất khi có biểu hiện da nặng, vì vậy, tỷ lệ thể lan toả cao hơn. Các bệnh nhân thể giới hạn thường đến khám tại các cơ sở y tế nội khoa khác hoặc đi khám muộn. Vì vậy, 11 bệnh nhân XCBHT thể giới hạn trong nghiên cứu của chúng tôi cũng có thời gian bị bệnh trung bình dài hơn nhóm XCBHT thể lan toả: $12,0 \pm 9,8$ tháng so với $10,2 \pm 7,3$ tháng, tuy nhiên, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

4.1.2. Đặc điểm tự kháng thể

Tất cả các bệnh nhân XCBHT trong nghiên cứu đều có tự kháng thể kháng nhân (Anti nuclear antibody - ANA) dương tính. Trước điều trị, 26 bệnh nhân (81,3%) có ATA dương tính, 2 bệnh nhân có ACA dương tính (6,3%), 1 bệnh nhân có RNAP dương tính (3,1%). Trong đó, 19/21 (90,5%) bệnh nhân thể lan toả có ATA và chỉ có 7/11 (63,6%) bệnh nhân thể giới hạn có tự kháng thể này. Theo nghiên cứu của Hamaguchi và cộng sự trên 203 bệnh nhân người Nhật, mỗi bệnh nhân XCBHT thường chỉ gặp một trong số các ANA đặc hiệu và hiếm khi có cùng lúc hai loại ANA. Cũng trong nghiên cứu này, chỉ có 3 bệnh nhân (chiếm 1,4%) có 2 loại tự kháng thể [115]. Ngoài ra, dưới nhóm ANA xuất hiện trên bệnh nhân XCBHT thường không thay đổi

trong thời gian dài. Vai trò của ANA trong cơ chế bệnh sinh của XCBHT vẫn chưa rõ ràng. Tuy nhiên, thông tin về ANA có giá trị giúp chẩn đoán và tiên lượng bệnh vì mỗi loại ANA thường gắn liền với các đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng. Vì vậy, một số tác giả có xu hướng chia XCBHT ra các dưới tuýp theo dưới nhóm ANA giúp đánh giá lâm sàng và tiên lượng bệnh [115]. Tỷ lệ ATA trong nghiên cứu của chúng tôi cao hơn so với nghiên cứu của Antonelli và cộng sự [9]. Trong nghiên cứu này, trên 72 bệnh nhân chẩn đoán sớm và chưa điều trị, chỉ có 35% ATA dương tính, 31% ACA dương tính. Sự khác biệt này có thể do nghiên cứu của Antonelli có tỷ lệ bệnh nhân XCBHT thể lan toả thấp hơn trong nghiên cứu của chúng tôi (29%). Các bệnh nhân thể lan toả thường gặp ATA cao hơn. Kết quả của chúng tôi phù hợp với đặc điểm bệnh nhân XCBHT thể lan toả trong nghiên cứu của Hamaguchi và cộng sự tại Nhật Bản: 76,9% ATA dương tính, 7,7% ACA dương tính và 15,4% RNAP I và III dương tính [115]. Ngoài ra, nghiên cứu của chúng tôi sử dụng phương pháp nhuộm miễn dịch huỳnh quang gián tiếp trên tế bào Hep-2 để phát hiện tự kháng thể ACA. Phương pháp này có độ nhạy không cao bằng phương pháp ELISA nên có thể tỷ lệ ACA trong nghiên cứu của chúng tôi thấp hơn so với các nghiên cứu khác.

4.1.3. Đặc điểm thương tổn cơ quan trước và sau 1 năm điều trị

Năm 2011, Meier và cộng sự tổng kết 7655 bệnh nhân XCBHT từ 174 trung tâm, chủ yếu ở Châu Âu thu được kết quả: 2838 bệnh nhân XCBHT lan toả và 4481 bệnh nhân XCBHT khu trú. Trong số bệnh nhân này, hiện tượng Raynaud gặp ở 96,3%, bất thường mao mạch đầu chi 90,9% bệnh nhân, loét đầu chi là 42,4%, yếu cơ 33,5%, teo cơ 18%, cứng khớp 48,7%. Ngoài ra, điểm Rodnan trung bình là 16, Scl-70 dương tính 59,8%, kháng thể kháng nhân dương tính 93,4%, PAH 22,1%, ILD trên Xquang 52%, trên CLVT ngực 64,1% [116].

Walker và cộng sự (2007) nghiên cứu 3450 bệnh nhân XCBHT (1349 XCBHT lan tỏa và 2101 XCBHT khu trú) từ 102 trung tâm ở 30 nước cũng cho kết quả tương tự: Raynaud 96,1%, loét đầu chi 42,7%, cứng khớp 47,1%, yếu cơ 37,1%, teo cơ 21,1%. Ngoài ra, có một số triệu chứng khác như tăng men cơ 11,3%, tổn thương thực quản 68,2%, dạ dày 26,6%, đường tiêu hóa dưới 22,5%. Trong nghiên cứu này, tỷ lệ kháng thể kháng nhân dương tính chiếm 92,1%, Scl-70 dương tính 60,8%, điểm Rodnan trung bình 19 ± 10 . ILD 53,4%, PAH 22,3%, viêm cầu thận 4,2%, protein niệu 9,2% [117].

Chỉ số mRSS trung bình của các bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi trước điều trị là $13,9 \pm 8,7$ và giảm xuống $10,6 \pm 7,4$ sau 1 năm điều trị với $p = 0,03$. Trong đó, trước điều trị, mRSS ở thể lan tỏa cao hơn ($17,7 \pm 8,1$) so với thể giới hạn ($6,6 \pm 3,7$). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Kết quả của chúng tôi thấp hơn nghiên cứu của Meier [116], tương tự với nghiên cứu của Hasegawa và cộng sự [12] ghi nhận điểm mRSS trung vị của các bệnh nhân là 13. Trong khi đó, Merkel và cộng sự cho thấy mRSS trung bình trên 629 bệnh nhân XCBHT là $25,1 \pm 8,2$ [118]. Sự khác biệt về chỉ số mRSS trung bình của các nghiên cứu phụ thuộc vào giai đoạn bệnh và tỷ lệ thể bệnh.

Có 25 bệnh nhân trong nghiên cứu (78,1%) bị ILD xác định trên phim chụp HRCT. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Meier [116] và cũng cao hơn nghiên cứu của Antonelli và cộng sự tại Ý [9]: trong số 72 bệnh nhân chẩn đoán sớm, chỉ có 43% bệnh nhân gặp ILD. Sự khác biệt này có thể do nhóm bệnh nhân XCBHT trong nghiên cứu của Antonelli 71% thuộc thể giới hạn (ít gặp thương tổn ILD hơn) so với 28% thể giới hạn trong nghiên cứu của chúng tôi. Hơn nữa, các bệnh nhân ILD trong nghiên cứu của chúng tôi có 16/21 thuộc nhóm XCBHT thể lan tỏa, 9/11 thuộc nhóm XCBHT thể giới hạn. 1 bệnh nhân bị ILD nặng lên sau 1 năm điều trị (thuộc thể lan tỏa). ILD

trên các bệnh nhân thể giới hạn không thay đổi sau 1 năm điều trị mặc dù chức năng thông khí có cải thiện. XCBHT thể lan toả gặp nhiều thương tổn ILD đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu trước đây [9], [116], [117].

Có 13/32 bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi bị PAH trên siêu âm tim qua thành ngực (PAPs \geq 35 mmHg) trước điều trị, trong đó 7 bệnh nhân thể lan toả (chiếm 33,3% các bệnh nhân thể lan toả) và 6 bệnh nhân thể giới hạn (chiếm 54,5% thể giới hạn). Sau 1 năm, có thêm 4 bệnh nhân thể lan toả xuất hiện PAH. Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây cho thấy PAH thường tăng lên theo thời gian bị bệnh [116], [117], [119].

Trước điều trị, 7 bệnh nhân có bất thường trên tổng phân tích nước tiểu ít nhất 2 lần (tương ứng với 21,9% tổng số bệnh nhân). 5/7 bệnh nhân này thuộc nhóm XCBHT thể lan toả. Sau 1 năm điều trị, có thêm 3 bệnh nhân trong nhóm này bị bất thường tổng phân tích nước tiểu. Các nghiên cứu trước đây đã ghi nhận thương tổn thận, tiết niệu gặp nhiều và sớm trên bệnh nhân XCBHT thể lan toả và có tự kháng thể RNAP dương tính [9]. Tuy nhiên, nghiên cứu của chúng tôi không gặp trường hợp nào có cơn kịch phát thận hay các thương tổn thận nặng khác. Chúng tôi chỉ gặp 1 bệnh nhân có RNAP dương tính (không phối hợp với thương tổn thận), vì vậy, chỉ đánh giá được thương tổn thận thông qua bất thường tổng phân tích nước tiểu (protein niệu, hồng cầu niệu, bạch cầu niệu, trụ niệu...). Các bệnh nhân này cần được theo dõi thêm để đánh giá tiến triển thương tổn thận trong những năm sau.

5/32 bệnh nhân (15,6%) nuốt nghẹn trước điều trị. Kết quả này thấp hơn so với nghiên cứu của Antonelli và cộng sự tại Ý [9] với 43% bệnh nhân gặp nuốt nghẹn và/hoặc rối loạn chức năng thực quản trên phim chụp, hoặc có triệu chứng dạ dày ruột. Nghiên cứu của chúng tôi chỉ đánh giá triệu chứng nuốt nghẹn là triệu chứng cơ năng nặng của đường tiêu hoá và không đánh giá các triệu chứng dạ dày ruột khác. Ngoài ra, chỉ có các bệnh nhân với triệu

chúng tiêu hoá nặng mới được chụp phim và thăm dò chức năng đường tiêu hoá, nên tỷ lệ thương tổn đường tiêu hoá có thể thấp hơn kết quả của Antonelli.

Trước điều trị, 18 bệnh nhân XCBHT có biểu hiện đau khớp, chiếm 56,3%. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Antonelli và cộng sự tại Ý (11%) [9]. Điều này có thể do triệu chứng khớp gặp nhiều hơn trên nhóm bệnh nhân XCBHT thể lan toả. 13 bệnh nhân đau khớp của chúng tôi thuộc nhóm XCBHT thể lan toả. Nghiên cứu của Antonelli có 71% bệnh nhân thể giới hạn nên ít gặp triệu chứng khớp hơn. Ngoài ra, Antonelli chỉ thống kê những bệnh nhân có thương tổn từ 2 khớp trở lên trong khi đề tài của chúng tôi thống kê tất cả các bệnh nhân có thương tổn 1 khớp hoặc đau mỗi nhẹ.

8 bệnh nhân (25%) trong nghiên cứu của chúng tôi có thương tổn cơ gồm: đau cơ, yếu cơ, CK tăng từ 2 lần, điện cơ kim có thương tổn cơ. Trong số 8 bệnh nhân này, 5 bệnh nhân thuộc nhóm XCBHT thể lan toả, chiếm 23,8% tổng số có thương tổn cơ và 15,6% tổng các bệnh nhân trong nghiên cứu. Kết quả của chúng tôi tương tự kết quả nghiên cứu của Jung và cộng sự [120]. Thương tổn cơ ở bệnh nhân XCBHT rất phức tạp vì tiêu chuẩn chẩn đoán còn lẫn lộn với thương tổn cơ trong bệnh cảnh của hội chứng chồng chéo (Overlap syndrome). Tất cả các bệnh nhân thương tổn cơ của chúng tôi đều đã được loại trừ hội chứng chồng chéo dựa trên lâm sàng, cận lâm sàng, tự kháng thể và sinh thiết cơ.

4.2. NỒNG ĐỘ CÁC CYTOKIN VÀ YẾU TỐ LIÊN QUAN

4.2.1. TNF

TNF được biết với chức năng chính là một chất tiền viêm và là yếu tố quan trọng nhất trong các bệnh viêm, tự miễn, tăng cao trong các bệnh lý như viêm khớp dạng thấp, vẩy nến...[71]. Giả thuyết mạng lưới cytokine trong bệnh vẩy nến được mô tả lần đầu tiên từ năm 1991, trong đó TNF- α đóng vai

trò trung tâm [121]. Trong bệnh vẩy nến, theo nhiều nghiên cứu, TNF- α đóng vai trò vào cơ chế bệnh sinh thông qua khả năng thúc đẩy miễn dịch và tăng sản tế bào sừng. TNF- α kích thích tăng sản xuất các cytokine viêm, tăng hoạt động các phân tử kết dính bề mặt tế bào, tăng quá trình thực bào [122]. Sử dụng chất ức chế chọn lọc TNF- α có hiệu quả cao trong điều trị vẩy nến.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trước điều trị, có 13/32 bệnh nhân phát hiện được TNF trong máu với nồng độ trung bình là 8,1 pg/ml. Tuy nhiên, sau điều trị, 5 bệnh nhân nồng độ TNF trong máu giảm xuống dưới ngưỡng phát hiện làm nồng độ trung bình giảm còn 4,7 pg/ml. TNF trước điều trị của thể lan toả và thể giới hạn khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

Nghiên cứu của Needleman [113] cho thấy 10/69 bệnh nhân XCBHT có TNF- α , trên ngưỡng phát hiện trong huyết thanh với nồng độ trung bình là 18,0 pg/ml. Trong khi đó, có 2/53 nhóm chứng khoẻ mạnh phát hiện được TNF- α , trong huyết thanh. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,1$. Nghiên cứu bao gồm cả các bệnh nhân chẩn đoán sớm và muộn, bệnh nhân đã điều trị và chưa điều trị .

Theo nghiên cứu của Matsushita 2006 [13], TNF- α tăng trên bệnh nhân XCBHT không khác biệt so với nhóm chứng. Cũng tác giả này, năm 2016 [123] đã đưa ra kết luận: ảnh hưởng của TNF với lympho B trên bệnh nhân XCBHT có thể theo hướng TNF nội sinh kích thích lympho B sản xuất tự kháng thể chứ không phải TNF bị kích thích bởi kháng nguyên ngoại lai.

Hiện tại có 5 chất ức chế TNF- α đã được sử dụng điều trị: infliximal, adalimumab, golimumab, certolizumal và etanercept. Một số nghiên cứu nhỏ đã sử dụng thuốc ức chế TNF- α trên bệnh nhân XCBHT. Kết quả cho thấy ức chế TNF- α giúp cải thiện thương tổn sung đau khớp, tuy nhiên, thương tổn dày da, ILD và PAH đều không cải thiện. Ngoài ra, các bệnh nhân trong thử

nghiệm gặp một số tác dụng phụ nghiêm trọng như nhiễm trùng, loét, nặng thêm hiện tượng Raynaud và cơn kịch phát thận [124].

Như vậy, XCBHT là bệnh lý viêm nhưng không theo mô hình phản ứng viêm mạnh kiểu TNF và khả năng sử dụng thuốc ức chế TNF- α trên bệnh nhân XCBHT cần phải được đánh giá thêm.

4.2.2. MCP-1

Sự tổng hợp và giải phóng MCP-1 đóng vai trò trung tâm trong quá trình viêm cấp và mãn tính bằng cách kiểm soát dòng đại thực bào và tình trạng kích hoạt đại thực bào cùng với các cytokine viêm như TNF, IL-6... [125]. Vì vậy, MCP-1 là một mục tiêu rất hấp dẫn đối với các thuốc chống viêm. Ngoài ra, tùy từng vi môi trường cụ thể mà MCP-1 có thể kích thích phân cực Th1 hoặc Th2, nhưng cytokin này chịu trách nhiệm chính cho sự phân cực Th2 [126]. Mặc dù MCP-1 làm tăng tổng hợp collagen từ nguyên bào sợi thông qua thụ thể CCR2 trên nguyên bào sợi, nhưng quá trình này cần có sự tương tác với các loại tế bào khác như lympho Th2 [73].

Trước điều trị, 31/32 bệnh nhân phát hiện được MCP-1 trong máu với nồng độ trung bình là 673,6 pg/ml. Sau 1 năm điều trị, có 30/32 bệnh nhân phát hiện được MCP-1 trong máu với nồng độ trung bình là 793,6 pg/ml. Tuy nhiên, sự tăng nồng độ sau điều trị không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Antonelli và cộng sự năm 2008 tại Ý [9] trên 37 bệnh nhân XCBHT có thời gian bị bệnh trung bình là 29 tháng, ghi nhận MCP-1 tăng cao có ý nghĩa thống kê so với nhóm người lành tương ứng là 388 ± 172 so với 318 ± 120 pg/ml, $p = 0,01$. Nghiên cứu của Matsushita 2006 [13] cho thấy: MCP-1 tăng cao có ý nghĩa thống kê trong tất cả các năm theo dõi so với nhóm chứng ($p < 0,0001$), chỉ giảm 10-20% ở các năm sau.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, phân tích đơn biến cho thấy tương quan giữa nồng độ MCP-1 với IL-6: $r = 0,42$; $p = 0,02$ trước điều trị và

$r = 0,44$; $p = 0,01$ sau điều trị. Phát hiện này chưa được phân tích trong các nghiên cứu trước đây nhưng lại phù hợp với quan sát trên mô hình theo thực nghiệm của Biswas và cộng sự (1998) cho thấy IL-6 có thể độc lập với các cytokin khác, kích thích các tế bào đơn nhân trong máu ngoại vi tiết MCP-1 để duy trì phản ứng viêm [125]. Giả thuyết này cũng cho thấy sự khác biệt giữa tăng nồng độ MCP-1 sau 1 năm điều trị trong nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu của Matsushita 2006 [13]. Trong 26 bệnh nhân thể lan toả, thời gian bị bệnh trung bình là 25 tháng cho kết luận: MCP-1 tăng cao giai đoạn đầu cho tới suốt 6 năm sau. Sự khác biệt này có thể do bệnh nhân nghiên cứu của chúng tôi có thời gian bị bệnh rất sớm so với nghiên cứu của Matsushita. Cần theo dõi thêm MCP-1 trong những năm sau thì mới biết được mức độ tăng dần của MCP-1 dưới kích thích của IL-6.

Tóm lại, MCP-1 trên bệnh nhân XCBHT có thể do tế bào đơn nhân bị IL-6 kích thích tiết ra. Trong giai đoạn muộn, IL-6 có xu hướng tăng lên làm tăng nồng độ MCP-1 và duy trì ổn định ở ngưỡng cao kéo dài.

4.2.3. TGF- β 1

Ngay từ khi được phát hiện, TGF- β đã được coi là một chất có hoạt động tiền xơ rất mạnh [127]. TGF- β kích thích sự tổng hợp, tiết, xử lý và tạo liên kết chéo collagen [128]. Đối với các tế bào miễn dịch, TGF- β làm giảm hoạt động kích hoạt lympho T (ức chế biệt hoá cả Th1, Th2 và Th17), tăng biệt hoá Treg [129]. TGF- β ở trên bề mặt Treg, góp phần giúp trưởng thành Treg (phối hợp với IL-2). TGF- β cũng có tác dụng tăng thâm nhiễm bạch cầu đơn nhân, tăng biểu hiện của MCP-1 [130]. Các nghiên cứu sử dụng thuốc anti TGF- β 1 như CAT-192 là một tự kháng thể tái tổ hợp của người có chức năng trung hoà TGF- β 1 đã được thử nghiệm trên bệnh nhân XCBHT [131]. Tuy nhiên, kết quả điều trị không chứng minh được hiệu quả điều trị ngoài tác dụng giảm mRSS ở tuần thứ 22.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trước điều trị, có 30/32 bệnh nhân phát hiện được TGF- β 1 trong máu với nồng độ trung bình là 28 367,0 pg/ml. Sau điều trị, có 31/32 bệnh nhân có TGF- β 1 với nồng độ trung bình tăng lên 34 562,8 pg/ml. Tuy nhiên, mức tăng này chưa có sự khác biệt. TGF- β 1 của thể lan toả và thể giới hạn khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Matsushita 2006 [13] cho thấy TGF- β 1 tăng có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng trong tất cả các thời điểm theo dõi và có xu hướng giảm 10% sau 6 năm điều trị, song sự thay đổi không có ý nghĩa thống kê.

Năm 2013, Arai và cộng sự đã chứng minh trên thực nghiệm mối liên quan giữa TGF- β 1 và MCP-1 trong quá trình xơ hoá da của chuột [132]. Qua đó, nhóm tác giả đã đưa ra một mô hình xơ hoá da chuột như sau: đầu tiên, MCP-1 làm tăng biểu hiện thụ thể CCR2 trên đại thực bào, giúp tế bào này tương tác với nguyên bào sợi. Sau đó, các đại thực bào có tăng thụ thể CCR2 sẽ tiết TGF- β 1 để kích thích nguyên bào sợi tổng hợp collagen. Đồng thời với quá trình đó, MCP-1 gây biệt hoá lympho T thành Th2, tiết IL-4. IL-4 di chuyển đến nguyên bào sợi. Các nguyên bào sợi được hoạt hoá sản xuất ra MCP-1 làm khuếch đại quá trình xơ hoá. Trong nghiên cứu của chúng tôi, nồng độ TGF- β 1 trước điều trị tương quan không rõ rệt với nồng độ MCP-1 ($r = 0,30$; $p > 0,05$). Như vậy, cần phải xem xét lại ảnh hưởng của TGF- β tăng thâm nhiễm bạch cầu đơn nhân, tăng biểu hiện MCP-1 trong giai đoạn sớm của XCBHT [130].

Sau 1 năm điều trị, xuất hiện tương quan nghịch biến giữa TGF- β 1 với BAFF ($r = - 0,38$; $p = 0,03$) và tương quan đồng biến với IL-6 ($r = 0,40$; $p = 0,02$). Nồng độ TGF- β 1 cùng với IL-6 và MCP-1 đều có xu hướng tăng lên trong khi các cytokine nguồn gốc lympho Th1, Th2, Th17 đều giảm, cho thấy vai trò quan trọng trong ức chế phản ứng viêm và duy trì phản ứng của lympho B, đại thực bào và nguyên bào sợi. Đối với các tế bào miễn dịch,

TGF- β làm giảm hoạt động kích hoạt lympho T (ức chế biệt hoá cả Th1, Th2 và Th17), tăng biệt hoá Treg [90], [129].

Tóm lại: Sau điều trị, BAFF đóng vai trò làm giảm nồng độ TGF- β 1; TGF- β 1 và IL-6 tăng lên đồng biến với nhau có thể liên quan đến cơ chế bệnh sinh của bệnh.

4.2.4. IL-6

Trong các nghiên cứu trước đây, vai trò của IL-6 được chứng minh là rất quan trọng trong XCBHT vì tham gia vào nhiều vị trí nhất trong cơ chế bệnh sinh của bệnh [133]. IL-6 là cytokin dễ dàng phát hiện nhất trong huyết thanh bệnh nhân XCBHT và người khoẻ mạnh. Nghiên cứu của Needleman cho thấy 29/72 bệnh nhân XCBHT có IL-6 trên ngưỡng phát hiện trong huyết thanh với nồng độ trung bình là 34,0 pg/ml [113]. Chỉ có 16/65 nhóm chứng khoẻ mạnh phát hiện được IL-6 trong huyết thanh. Sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê với $p = 0,05$. Nghiên cứu này bao gồm cả các bệnh nhân chẩn đoán sớm và muộn, bệnh nhân đã điều trị và chưa điều trị. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây về IL-6 cho kết quả rất trái ngược nhau. Một số nghiên cứu cho thấy nồng độ IL-6 tăng cao trên bệnh nhân XCBHT [13], [134] nhưng một số nghiên cứu khác lại cho kết quả ngược lại [4], [12], [135]. Theo nghiên cứu của Hasegawa và cộng sự trên bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm (thời gian bị bệnh trung bình là 21 tháng), IL-6 phát hiện được ở 20/31 bệnh nhân (65%) và không khác biệt so với nhóm chứng [12]. Nghiên cứu của Khan và cộng sự (2011) trên 68 bệnh nhân XCBHT ghi nhận: ở giai đoạn muộn, nguyên bào sợi sản xuất một lượng lớn IL-6, tham gia vào cơ chế gây xơ hoá muộn các cơ quan [134]. Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy xuất hiện IL-6 trên 32/32 bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm với nồng độ trung bình trước điều trị là 301,1 pg/ml.

Sau 1 năm, IL-6 tăng lên 482,7 pg/ml nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê. Matsushita 2006 [13] cho thấy: IL-6 trên bệnh nhân XCBHT tăng cao gấp 9 lần so với nhóm chứng khoẻ mạnh ($p < 0,05$). Tuy nhiên, IL-6 giảm sau 6 năm theo dõi.

Ngoài ra, trong nghiên cứu của chúng tôi IL-6 là cytokine duy nhất tăng cao ở nhóm ANA 4+, khác biệt có ý nghĩa với nhóm ANA 3+. Kết quả này phù hợp với giả thuyết: Trong giai đoạn đầu của bệnh XCBHT, IL-6 do lympho B bị BAFF kích hoạt sản xuất ra cùng với hiện tượng sản xuất tự kháng thể dịch thể [11], [67]. Kondo và cộng sự 2001 [92] cũng chứng minh vai trò sản xuất một lượng nhỏ IL-6 trong giai đoạn sớm của bệnh XCBHT từ lympho B cùng với một số cytokine khác như TNF- α và IL-1.

Ở giai đoạn muộn, nguyên bào sợi bị kích thích có thể sản xuất một lượng lớn IL-6, tham gia vào cơ chế gây xơ hoá muộn các cơ quan [134]. Phù hợp với quá trình này, trước điều trị, nồng độ IL-6 không tương quan với nồng độ TGF- β 1, tuy nhiên, sau 1 năm, nồng độ IL-6 tương quan tuyến tính với nồng độ TGF- β 1 như phân tích ở phần 4.2.3. Kết quả này có thể giải thích mối liên quan của IL-6 và TGF- β 1 có cùng nguồn gốc do nguyên bào sợi bị kích thích sản xuất ra ở giai đoạn sau của bệnh. Nghiên cứu của Kondo và cộng sự năm 2001 [92] và Dumoitier và cộng sự năm 2017 [90] cũng cho kết quả tương đương.

Ngoài các sự kiện trên, sự thay đổi IL-6 trước và sau 1 năm còn tương quan chặt chẽ với MCP-1 sẽ được phân tích trong phần 4.2.2.

Tóm lại, IL-6 là cytokine tham gia vào nhiều khâu nhất trong cơ chế bệnh sinh của bệnh XCBHT. Nồng độ IL-6 thay đổi nhiều, phụ thuộc vào giai đoạn bệnh. Ở giai đoạn sớm, IL-6 do lympho B tiết ra một lượng nhỏ và liên quan với quá trình sản xuất tự kháng thể đặc hiệu cho bệnh. Ở giai đoạn sau,

IL-6 do nguyên bào sợi tiết ra một lượng lớn cùng với TGF- β 1 duy trì quá trình xơ hoá da và nội tạng.

4.2.5. BAFF

Trong nhiều loại cytokin có liên quan với cơ chế bệnh sinh của XCBHT, BAFF là cytokin có sự thay đổi rõ rệt nhất. Họ gia đình BAFF/BAFFR có mặt trong gần như tất cả các giai đoạn biệt hoá lympho B và duy trì thời gian sống của lympho B trong tuỷ xương. BAFF cũng có chức năng đồng kích thích lympho B mạnh trong ống nghiệm [136]. Vì vậy, sự tăng quá cao BAFF gây ra tự hoạt hoá lympho B, đóng vai trò quan trọng trong sự phát triển bệnh tự miễn. Các nghiên cứu trước đây trên quần thể bệnh nhân XCBHT ở Nhật, bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống, viêm khớp dạng thấp và hội chứng Sjogren's cũng cho thấy BAFF tăng cao. Chính vì vậy, belimumab (một kháng thể đơn dòng ức chế BAFF hoà tan) đã được FDA cấp phép cho điều trị bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống [3] và đang được xem xét trong điều trị XCBHT. Nồng độ BAFF tăng trên bệnh nhân XCBHT có mối liên quan với thương tổn da xơ hoá, dung tích sống, thương tổn cơ khớp... gợi ý rằng BAFF là một tín hiệu của sự hoạt hoá bất thường lympho B và phát triển bệnh XCBHT [11]. Kháng thể đơn dòng ức chế BAFF hoà tan cũng là một đích tác động cần xem xét trong điều trị XCBHT.

Nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, nồng độ BAFF trong máu của bệnh nhân XCBHT trước điều trị tương quan nghịch với thời gian bị bệnh ($r = -0,36$; $p = 0,04$): thời gian bị bệnh càng ngắn thì nồng độ BAFF càng cao. Kết quả này có thể khẳng định rối loạn lympho B xuất hiện rất sớm trong cơ chế bệnh sinh của bệnh. Matsushita và cộng sự (2006) [11] nghiên cứu BAFF trên 21 bệnh nhân XCBHT cho thấy: nồng độ BAFF là 1260 pg/ml, cao hơn có ý nghĩa thống kê so với người khoẻ mạnh ($p < 0,001$), thấp hơn

nồng độ BAFF trên nhóm bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống (1630 pg/ml; $p < 0,0001$) nhưng cao hơn nhóm bệnh nhân viêm bì cơ (1000 pg/ml; $p < 0,01$). Tuy nhiên, thời gian bị bệnh trung bình của các bệnh nhân trong nghiên cứu này là 2 năm với thể lan toả và 3 năm với thể giới hạn. Trong khi đó, nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả: BAFF trước điều trị là 2148,1 pg/ml trên nhóm bệnh nhân XCBHT giai đoạn sớm (thời gian bị bệnh trung bình là 10,8 tháng). So sánh 2 nghiên cứu giúp chúng ta đưa ra kết luận: BAFF tăng cao từ rất sớm trên bệnh nhân XCBHT.

Một mô hình thực nghiệm của Matsushita và cộng sự [11] cũng cho thấy: lympho B của bệnh nhân XCBHT bị kích thích mạnh dưới ảnh hưởng của BAFF, tăng sản xuất IL-6 và tự kháng thể. Trong phân tích của chúng tôi vào thời điểm trước điều trị, nồng độ BAFF ở nhóm ATA dương tính cao hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm âm tính. Điều này có ý nghĩa khẳng định vai trò của BAFF trong việc đại diện cho hoạt động sản xuất kháng thể của lympho B và trong chẩn đoán, tiên lượng bệnh.

Sau 1 năm điều trị, nồng độ BAFF giảm có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước điều trị ($p = 0,007$). Theo Matsushita [11], nồng độ BAFF thay đổi không phụ thuộc vào quá trình điều trị (bao gồm prednisolone và d-penicillamine). Như vậy, sự giảm nồng độ này thể hiện sự khác biệt giữa thời gian bị bệnh sớm và muộn.

Ngoài ra, trên mô hình phân tích đơn biến sau điều trị, TGF- β 1 tương quan nghịch biến có ý nghĩa thống kê với nồng độ BAFF như đã phân tích ở phần 4.2.3.

Thêm vào đó, nồng độ trung bình của BAFF trước điều trị trên bệnh nhân nam giới ($2921,4 \pm 1093,0$ pg/ml) cao hơn có ý nghĩa thống kê so với bệnh nhân nữ giới ($1845,4 \pm 759,4$ pg/ml); $p = 0,01$. Kết quả này chưa được mô tả trong các nghiên cứu trước đây.

Tóm lại, trước điều trị, BAFF tăng cao trên bệnh nhân XCBHT có thời gian bị bệnh ngắn và nhóm có tự kháng thể ATA dương tính. Sau 1 năm điều trị, nồng độ BAFF giảm so với trước điều trị, tương quan với nồng độ TGF- β 1 trong máu.

4.2.6. IL-10

Trước điều trị, nồng độ trung bình IL-10 là 3,1 pg/ml, sau điều trị, tăng lên 5,2 pg/ml. Mặc dù sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên, kết quả phù hợp với khả năng chống viêm của methylprednisolon. Giomarelli và cộng sự (2003) đã chứng minh corticosteroid toàn thân làm tăng nồng độ IL-10 trong máu và ngăn ngừa giải phóng cytokin tiền viêm như TNF- α , IL-6, IL-8 [137]. Trên 20 bệnh nhân của nhóm nghiên cứu được phẫu thuật động mạch vành điều trị bằng corticosteroid, nồng độ IL-10 trong máu tăng lên và ít gặp viêm cơ tim, thương tổn phổi sau điều trị hơn nhóm không được dùng corticosteroid.

So sánh nồng độ IL-10 theo thể bệnh, chúng tôi ghi nhận được kết quả: có tới 5/11 bệnh nhân XCBHT thể giới hạn và chỉ có 5/21 bệnh nhân XCBHT thể lan toả phát hiện được IL-10 trong huyết thanh trước điều trị. Mặc dù sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê do số lượng bệnh nhân trong hai nhóm ít, tuy nhiên, kết quả này cũng phù hợp với khả năng chống viêm của IL-10. XCBHT thể giới hạn thường có biểu hiện ít râm rộ và thời gian tiến triển dài hơn thể lan toả rất nhiều năm.

Nghiên cứu của Matsushita 2006 [13] cho thấy: IL-10 trên bệnh nhân XCBHT tăng cao gấp 12 lần so với nhóm chứng khoẻ mạnh ($p < 0,01$). Tuy nhiên, IL-10 giảm sau 4 năm theo dõi.

Việc áp dụng chế phẩm sinh học IL-10 trong điều trị các bệnh miễn dịch như bệnh viêm ruột và viêm khớp dạng thấp đã được thử nghiệm giai đoạn II. Tuy nhiên, kết quả gây thất vọng của các nghiên cứu đã yêu cầu phải có các

ngiên cứu sâu hơn, thử nghiệm mù đôi có nhóm chứng giả dược, đa trung tâm để xác định tốt hơn khả năng điều trị của cytokine này. Các nghiên cứu cho rằng hiệu lực của phương pháp điều trị này dường như thấp hơn so với các cách tiếp cận khác như kháng TNF- α vì khả năng chống viêm của IL-10 tương đối thấp. Do đó, IL-10 không phải là "đột phá" chính trong điều trị chống viêm của các bệnh trầm trọng mà có thể giúp điều hòa miễn dịch lâu dài [108].

4.2.7. IL-2

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trước điều trị, chỉ có 12/32 bệnh nhân phát hiện được IL-2 trong máu, nồng độ trung bình là 3,1 pg/ml. Dựa trên các bằng chứng về sự xuất hiện của lympho T trong da [94], trong dịch rửa phế quản trên bệnh nhân XCBHT [138], nghiên cứu về cytokin đầu tiên trong huyết thanh bệnh nhân XCBHT đã tập trung vào tìm hiểu nồng độ và hoạt động của IL-2. Nghiên cứu đầu tiên theo hướng này được thực hiện bởi Kahaleh năm 1989 [112] đánh giá nồng độ IL-2 trong huyết thanh của 47 bệnh nhân XCBHT, 20 bệnh nhân viêm khớp dạng thấp và 14 người khoẻ mạnh bằng phương pháp ELISA. Các tác giả đã phát hiện được IL-2 trong mẫu huyết thanh của 41/47 bệnh nhân XCBHT và 9/20 bệnh nhân viêm khớp dạng thấp. Nghiên cứu còn xác định mối liên quan giữa nồng độ IL-2 và điểm số dày da nhưng không liên quan với thời gian bị bệnh. Tuy nhiên, thời gian bị bệnh trung bình trong nghiên cứu này là 5,9 năm (giai đoạn muộn của bệnh) và điểm số dày da không được tính bằng chỉ số mRSS là các yếu tố khác biệt so với nghiên cứu của chúng tôi. Chúng tôi không tìm được tương quan nào giữa IL-2 và các thương tổn nội tạng trong giai đoạn sớm của bệnh. Nồng độ của IL-2 không tương quan với thời gian bị bệnh.

Sau nghiên cứu của Kahaleh, nhiều nghiên cứu khác đã được tiến hành nhằm đánh giá vai trò của IL-2 trên XCBHT. Nghiên cứu của

Famularo [139] với 20 bệnh nhân nữ XCBHT tiến triển cho thấy IL-2 tăng cao có ý nghĩa so với nhóm chứng khoẻ mạnh. Tuy nhiên, thời gian bị bệnh của các bệnh nhân trong nghiên cứu này ngắn nhất là 2 năm (nhóm giai đoạn muộn) và có 3/20 bệnh nhân mới ngừng corticosteroid toàn thân 10 ngày. IL-2 có xu hướng tăng cao ở bệnh nhân XCBHT thể lan toả hơn thể giới hạn (8/45 bệnh nhân XCBHT thể lan toả so với 1/33 bệnh nhân XCBHT thể giới hạn, $p = 0,11$). Nghiên cứu của Matsushita 2006 [13] cho thấy IL-2 tăng không có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng trong lần đánh giá đầu tiên, giảm 66% sau 4 năm và 83% sau 6 năm ($p < 0,05$).

IL-2 đã được chứng minh là một yếu tố điều tiết chính sự di cư lympho trong cơ thể. IL-2 làm tăng biểu hiện thụ thể MCP-1 trên lympho T, do đó làm tăng ảnh hưởng thu hút lympho T vào tổ chức của MCP-1 [132]. Số lượng các tế bào không phải là lympho trong tổ chức và khả năng biểu hiện IL-2R α của chúng kiểm soát sự cân bằng nội mô của IL-2 tại mỗi cơ quan. IL-2 thúc đẩy tạo Th1 bằng cách tăng thụ thể IL-12R β 2 và T-bet làm tăng sản xuất IFN- γ . Đối với Th2, IL-2 làm tăng IL-4R α và kích thích tăng sản xuất IL-4, IL-5 và IL-13. Việc tạo ra các tế bào Th17 phụ thuộc vào IL-6 và tín hiệu chuyên dạng TGF- β bị ức chế bởi IL-2 thông qua giảm biểu hiện IL-6R β . Tất cả các thế hệ của Treg đều cần có IL-2 để phát triển và tăng khả năng chống viêm. Ảnh hưởng của IL-2 lên cân bằng các dưới nhóm lympho T phụ thuộc vào tỷ lệ sản xuất IL-2 và tỷ lệ tiêu thụ IL-2. Treg có chức năng duy trì cân bằng IL-2 trong toàn mạng lưới [97]. Liệu pháp miễn dịch IL-2 được sử dụng trong một số bệnh ung thư di căn làm giảm lympho T kích thích, tăng hoạt động của Treg nhưng lại dẫn tới sự giải phóng các cytokine tiền viêm gây tổn thương nội tạng [140]. Liệu pháp này đang được xem xét sử dụng trên bệnh nhân XCBHT.

Sau điều trị, 13/32 bệnh nhân phát hiện được IL-2 trong máu, nồng độ trung bình giảm xuống 2,7 pg/ml (sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê). Sau 1 năm điều trị, nồng độ IL-2 giảm cùng với giảm nồng độ của IFN- γ , IL-4. Kết quả của chúng tôi phù hợp với kết quả của Matsushita và cộng sự [13].

Tóm lại, IL-2 là cytokine đại diện cho sự biệt hoá lympho T. Sau 1 năm điều trị, IL-2 có xu hướng giảm, cùng với sự giảm nồng độ của IFN- γ , IL-4.

4.2.8. IL-4

IL-4 là một cytokine đại diện cho Th2 làm tăng cường tổng hợp collagen từ nguyên bào sợi [15], [141]. IL-4 có thể làm thay đổi lắng đọng ngoại bào bằng cách ức chế men metalloproteinase 2 [142]. IL-4 đã được chứng minh là trung tâm cho sự phát triển xơ hoá da ở chuột bằng cách kích thích gen TGF- β và tương tác với TGF- β 1 để điều chỉnh biểu hiện gen collagen trong ống nghiệm [141]. Sự kiện tăng nồng độ IL-4 trong máu bệnh nhân XCBHT lần đầu tiên được mô tả từ năm 1992 trong báo cáo của Needleman và cộng sự [113]. Nghiên cứu của Needleman cho thấy 16/78 bệnh nhân XCBHT có IL-4 trên ngưỡng phát hiện trong huyết thanh với nồng độ trung bình là 51,3 pg/ml. Chỉ có 1/65 nhóm chứng khoẻ mạnh phát hiện được IL-4 trong huyết thanh. Sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê với $p = 0,001$. Tuy nhiên, nghiên cứu bao gồm cả các bệnh nhân chẩn đoán sớm và muộn, bệnh nhân đã điều trị và chưa điều trị. IL-4 có xu hướng tăng cao ở bệnh nhân XCBHT thể lan toả hơn thể giới hạn (13/45 bệnh nhân XCBHT thể lan toả so với 3/33 bệnh nhân XCBHT thể giới hạn, $p = 0,06$). Trước đó, Famularo và cộng sự đã không phát hiện được IL-4 trong bất kỳ mẫu huyết thanh nào của 20 bệnh nhân XCBHT và 15 chứng khoẻ mạnh [139].

Gần đây, nhiều tác giả đã nghiên cứu vai trò của IL-4 tăng trên bệnh nhân XCBHT. Tuy nhiên, các kết quả cho thấy khả năng phát hiện IL-4 trong máu bệnh nhân XCBHT chỉ trong giai đoạn sớm của bệnh. Sau đó IL-4 có xu hướng giảm [13] và không phát hiện được trong các giai đoạn muộn [139].

Trong nghiên cứu này, trước điều trị, chúng tôi chỉ phát hiện được IL-4 trong 8/32 bệnh nhân XCBHT với nồng độ trung bình là 2,9 pg/ml. Sau điều trị, có 9/32 ca phát hiện được IL-4 và nồng độ trung bình giảm xuống 1,4 pg/ml. Mặc dù nồng độ IL-4 trước điều trị của thể lan toả cao hơn thể giới hạn nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê.

4.2.9. IFN- γ

IFN- γ là một cytokin có nhiều chức năng bao gồm: tăng biểu hiện trình diện kháng nguyên MHC, hoạt hoá đại thực bào, ức chế tăng sinh virus, ức chế tăng sinh tuỷ xương, giảm sự tăng sinh lympho B và sự sản xuất kháng thể do IL-4 gây ra [107]. Trên lympho T, IFN- γ ức chế hoạt động tiết IL-4 từ Th2 và ức chế tăng sinh của Th2 do IL-4 nhưng không ức chế hoạt động tăng sinh Th1 do IL-2, Th1 cũng sản xuất một lượng lớn IFN- γ khi được hoạt hoá [98]. Ngoài ra, IFN- γ còn ức chế sự sản xuất collagen từ nguyên bào sợi [143]. Môi trường có cả IFN- γ và IL-4, IFN- γ làm giảm biểu hiện thụ thể IL-4 trên nguyên bào sợi nên ức chế hoàn toàn sự kích thích sản xuất collagen từ nguyên bào sợi do IL-4 gây ra [101].

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trước điều trị, IFN- γ chỉ được phát hiện ở 4/32 bệnh nhân với nồng độ lưu hành trung bình rất thấp 0,1 pg/ml. Sau điều trị, chỉ còn 1/32 bệnh nhân phát hiện được 0,01 pg/ml IFN- γ trong máu. Nghiên cứu của Needleman không phát hiện được IFN- γ ở bất kỳ bệnh nhân cũng như người khoẻ mạnh nào [113]. Matsushita 2006 [13] cho thấy IFN- γ không phát hiện được trong bất kỳ mẫu huyết thanh của bệnh

nhân cũng như nhóm chứng nào. Như vậy, trong giai đoạn sớm của XCBHT, vai trò của Th1 rất thấp.

4.2.10. IL-17A

Vai trò của IL-17A trong vẩy nến [144], lupus ban đỏ hệ thống [145] và viêm khớp dạng thấp [146] liên quan đến việc tuyển dụng bạch cầu đơn nhân, bạch cầu trung tính và các cytokin viêm vào tổ chức. Trên bệnh nhân lupus ban đỏ hệ thống và viêm khớp dạng thấp, IL-17A tăng cao trong máu và tương quan với mức độ hoạt động bệnh. Đối với bệnh vẩy nến, kháng thể kháng IL-17A đơn dòng (secukinumab) là thuốc đầu tiên trong các kháng thể kháng IL-17A được FDA chấp thuận để điều trị vẩy nến thể mảng từ vừa đến nặng. Secukinumab cũng được phê duyệt để điều trị viêm khớp vẩy nến và viêm cột sống dính khớp.

Trong nghiên cứu của chúng tôi, trước điều trị, 8/32 bệnh nhân phát hiện được IL-17A trong huyết thanh với nồng độ trung bình lưu hành là 19,4 pg/ml. Sau điều trị, chỉ có 2/32 bệnh nhân phát hiện được IL-17A và nồng độ giảm xuống 1,4 pg/ml. Mặc dù sự thay đổi nồng độ IL-17A này không có ý nghĩa thống kê. Tuy nhiên, IL-17A có xu hướng giảm sau điều trị.

Nồng độ IL-17A tăng trong máu ngoại vi của bệnh nhân XCBHT được ghi nhận lần đầu trong nghiên cứu của Kurasama và cộng sự [147]. Nghiên cứu này đã chỉ ra IL-17A tăng thoáng qua trong giai đoạn sớm của bệnh XCBHT do tăng cường sản xuất từ nguyên bào sợi và lympho T, gây tăng biểu hiện phân tử bám dính và tăng sản xuất IL-1 từ tế bào nội mô. IL-17 cũng làm tăng sản xuất các cytokin tiền viêm như MCP-1, IL-6 từ nguyên bào sợi của da và phổi [147]. IL-17 có chức năng tiền viêm và tiền xơ do kích thích tiết IL-6 và IL-8 từ nguyên bào sợi [124]. Trong môi trường có nồng độ cao của IL-6 sẽ ức chế Th1 và Treg, nếu phối hợp với nồng độ thấp TGF- β ,

lympho T ngây thơ sẽ biệt hoá thành Th17. Nếu môi trường có mật nồng độ thấp IL-6, Th17 sẽ chuyển thành Treg [106].

Nghiên cứu của Mangan và cộng sự (2006) cũng cho thấy sự biệt hoá của Th17 được kích thích bởi sự có mặt của TGF- β nhưng bị ức chế mạnh bởi IFN- γ và IL-4 [101], [104].

Tóm lại, IL-17A tăng thoáng qua trong giai đoạn sớm của bệnh XCBTH và giảm nhanh với điều trị ức chế miễn dịch. Khả năng sử dụng kháng thể kháng IL-17A trong XCBHT chưa có nhiều bằng chứng thuyết phục.

Như vậy, 10 cytokin trước và sau điều trị có những thay đổi. Với hiệu quả của các thuốc ức chế miễn dịch, sau 1 năm, các cytokin có nguồn gốc lympho T (IL-17A, IFN- γ , IL-2, IL-4, TNF) và lympho B (BAFF) đều có xu hướng giảm. Tuy nhiên, TGF- β 1, IL-6, MCP-1 và IL-10 có xu hướng tăng lên. Đây là các cytokin có liên quan tới viêm mạn tính và tăng quá trình xơ hoá nên nếu không tìm được các phương pháp điều trị trúng đích hơn, bệnh sẽ vẫn tiến triển nặng lên. Đây là những đặc điểm nổi bật giúp ta hiểu rõ hơn về cơ chế bệnh sinh của XCBHT, từ đó có thể xác định các yếu tố chính để tạo nên những thuốc chế phẩm sinh học mới điều trị hiệu quả hơn căn bệnh tự miễn này.

4.3. TƯƠNG QUAN GIỮA CYTOKIN VỚI THƯƠNG TỔN DA VÀ NỘI TẠNG

4.3.1. Thương tổn loét đầu chi

Trong nghiên cứu của chúng tôi, chỉ có 2 bệnh nhân không có hiện tượng Raynaud trước điều trị. Hiện tượng Raynaud liên quan nhiều đến thời tiết và nhiệt độ môi trường và là một biến số chủ quan. Chúng tôi chưa đánh giá được thương tổn mao mạch quanh móng, là biến số khách quan hơn hiện tượng Raynaud về thương tổn mao mạch ngoại vi [148], vì vậy, chúng tôi chọn phân tích yếu tố nguy cơ của thương tổn loét đầu chi. Đây

là thương tổn nặng nề nhất trong các thương tổn mao mạch ngoại vi trên bệnh nhân XCBHT.

Nguyên nhân gây tổn thương mạch máu hiện nay vẫn chưa rõ. Trong huyết thanh của bệnh nhân XCBHT có một số yếu tố gây độc tế bào nội mô, serin proteinase do tế bào T hoạt hoá tiết ra và yếu tố hoại tử u... Các yếu tố này còn có khả năng kích thích xơ hoá và co thắt mạch máu. Các mạch máu bị tổn thương có thể giải phóng các yếu tố gây co mạch và giảm giải phóng các chất gây giãn mạch tại chỗ. Người ta thấy yếu tố co thắt mạch ET-1 do tế bào nội mô giải phóng khi nhiễm lạnh tăng lên ở bệnh nhân XCBHT. Tỷ lệ yếu tố VIII/ yếu tố Von willebrand tăng, kết hợp với lớp dưới nội mô dẫn đến sự bám dính và ngưng kết tiểu cầu. Tiểu cầu hoạt hoá giải phóng ra các yếu tố làm tăng tính thấm thành mạch dẫn đến phù, đồng thời cũng giải phóng ra những chất kích thích nguyên bào sợi tổng hợp collagen, xơ hoá nội mạc. Như vậy giai đoạn đầu, thương tổn của bệnh XCBHT có thể là hiện tượng phù nề các cơ quan đích và sau đó tiến triển đến xơ hoá và giãn mao mạch. Ngoài ra, quá trình tăng sản nội mạc mạch cũng có thể xảy ra vào giai đoạn sớm của bệnh kết hợp với các quá trình gây nên tổn thương mạch máu trong bệnh XCBHT [65].

Trong mô hình phân tích đa biến, chỉ có IL-10 trên ngưỡng phát hiện tương quan với tăng tỷ lệ loét đầu chi lên 76,9 lần với $p = 0,04$. IL-10 được chứng minh là một cytokin chống viêm, tăng trong trường hợp tổ chức bị viêm và/ hoặc thiếu máu cục bộ, giúp ổn định phản ứng viêm [149]. Sự kích thích sản xuất IL-10 nội sinh này có thể liên quan đến phản ứng tăng adenosine nội sinh do hiện tượng viêm và phụ thuộc vào nồng độ TNF, mức độ nitrit/nitrat là các sản phẩm phân huỷ của oxit nitric (NO) trong môi trường thiếu máu cục bộ. Ngoài ra, nhiều nghiên cứu in vivo về việc sử dụng chế phẩm sinh học IL-10 điều trị bệnh mạch máu đặc biệt là xơ vữa động

mạch đã đạt được một số kết quả khả quan [150]. Như vậy, kết quả phân tích của chúng tôi về tương quan giữa tăng IL-10 trong huyết thanh và loét đầu chi có thể liên quan đến hiện tượng tăng sản xuất IL-10 nội sinh do viêm và thiếu máu cục bộ. Cần có các nghiên cứu vivo để khẳng định được mối quan hệ nhân quả này.

Sau 1 năm điều trị, 5 bệnh nhân loét đầu chi nặng lên có BAFF cao hơn nhóm loét đầu chi cải thiện. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê, tuy nhiên, số lượng bệnh nhân khá ít để đưa ra các nhận định sâu hơn.

Ngoài ra, phân tích đa biến của Tiev và cộng sự còn cho thấy giới tính nam và độ dày da đều là các yếu tố nguy cơ có ý nghĩa thống kê với thương tổn loét đầu chi [151]. Trong nghiên cứu của chúng tôi, các yếu tố này không có liên quan với thương tổn loét đầu chi.

4.3.2. Thương tổn dày da

Các nghiên cứu trước đây so sánh nồng độ cytokin với chỉ số mRSS cho kết quả rất khác biệt:

Hasegawa và cộng sự năm 2011 [12] cho thấy trong 10 cytokin được nghiên cứu (bao gồm IL-2, IL-6, IL-4, IL-10, IL-17A, TNF- α , IFN- γ , MCP-1), chỉ có MCP-1 tương quan với mRSS. Nghiên cứu của chúng tôi lại không tìm thấy mối tương quan giữa MCP-1 với mRSS.

Nghiên cứu của Khan và cộng sự năm 2015 [134] trên bệnh nhân XCBHT giai đoạn muộn xác định tương quan giữa nồng độ IL-6 và mRSS của 39 bệnh nhân XCBHT thể lan toả. Tuy nhiên, tác giả không phân tích tương quan về sự thay đổi nồng độ và chỉ số mRSS.

Matsushita và cộng sự năm 2006 [13] đánh giá sự thay đổi mRSS trong 6 năm đồng thời với 8 loại cytokin (trong đó có IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF-

α , TGF- β 1, MCP-1), tuy nhiên tác giả cũng không phân tích số liệu tương quan về sự thay đổi theo thời gian.

Hai cytokin IL-6 và TGF- β 1 đã được khẳng định trong nhiều nghiên cứu trước đây về ảnh hưởng kích thích sản xuất collagen từ nguyên bào sợi gây xơ hoá [90], [91], [109], [134]. Tuy nhiên, việc điều trị kháng thể kháng IL-6 (tocilizumab) giúp cải thiện phản ứng viêm cấp giai đoạn sớm và cải thiện FVC nhưng không cải thiện rõ ràng thương tổn xơ hoá da và phổi [93]. Điều này cho thấy mối liên quan giữa IL-6 và thương tổn xơ hoá da cần được đánh giá lại. Mô hình phân tích đa biến của chúng tôi không phát hiện mối liên quan giữa IL-6 và thương tổn da trong giai đoạn sớm của bệnh.

Sau 1 năm điều trị, 16 bệnh nhân thương tổn da cải thiện có TGF- β 1 cao hơn có ý nghĩa thống kê so với 4 bệnh nhân thương tổn da nặng lên. Ngay từ khi được phát hiện, TGF- β đã được coi là một chất có hoạt động tiền xơ rất mạnh [127]. TGF- β kích thích sự tổng hợp, tiết, xử lý và tạo liên kết chéo collagen [128]. Tuy nhiên, kết quả nghiên cứu sử dụng thuốc anti TGF- β 1 như CAT-192 là một tự kháng thể tái tổ hợp của người có chức năng trung hoà TGF- β 1 không chứng minh được hiệu quả điều trị ngoài tác dụng giảm mRSS ở tuần thứ 22 [131]. Qua nghiên cứu của chúng tôi và nghiên cứu thử nghiệm anti TGF- β 1, chúng ta cần xem xét lại ảnh hưởng của TGF- β 1 và cân nhắc sử dụng thuốc kháng TGF- β 1 trên bệnh nhân XCBHT.

4.3.3. Thương tổn bệnh phổi kẽ (ILD)

Bệnh nhân XCBHT có thể bị thương tổn tất cả các thành phần của hệ hô hấp bao gồm: hệ mạch máu ở phổi, đường hô hấp, màng phổi, nhu mô phổi, cơ phế quản [48], [139]. Có nhiều biểu hiện thương tổn phổi trong XCBHT: bệnh phổi kẽ (viêm phổi kẽ không đặc hiệu, viêm phổi kẽ thông thường, tổn thương phế nang lan toả, viêm tổ chức phổi), PAH, viêm màng phổi gây tràn

dịch màng phổi, giãn phế quản, u phổi, viêm phổi do sặc và viêm phổi do thuốc gây ra, xuất huyết phế nang, bệnh lý đường hô hấp nhỏ, tràn khí màng phổi tự phát, yếu cơ hô hấp [48], [139]. Tổn thương phổi thường gặp nhất là PAH và ILD. Đây là những nguyên nhân hàng đầu gây tử vong ở bệnh nhân XCBHT, với ước tính khoảng 33% [152]. PAH và ILD được Hội khớp học Mỹ và Hội khớp học châu Âu đưa vào tiêu chuẩn chẩn đoán XCBHT năm 2013 [52].

Xơ phổi là biểu hiện sớm và dễ chẩn đoán nếu chụp CT ngực cho bệnh nhân XCBHT [47]. Bệnh nhân XCBHT xơ phổi có tiên lượng xấu hơn, dẫn đến tỷ lệ tử vong cao hơn nhóm không có xơ phổi [8]. Tuy nhiên, do điều kiện tại Việt Nam, không phải bệnh nhân XCBHT nào cũng được xét nghiệm CT ngực để xác định vấn đề trầm trọng này. Chúng tôi sử dụng phim chụp HRCT để chẩn đoán ILD và 25 bệnh nhân được xác định có ILD trước điều trị. Các nghiên cứu trước đây đưa ra tỷ lệ ILD trên CT ngực khá cao Walker 53,4% [117]; Meier 64,1% [116]; Asous 51,8% [153]; Gatta (2013) 85% thương tổn dạng kính mờ [154]; Santis 93,5% ILD [155]...

Trên mô hình đa biến, MCP-1 tăng $\geq 389,2$ pg/ml và IL-10 trên ngưỡng phát hiện làm tăng nguy cơ gặp ILD nặng có ý nghĩa thống kê. Như chúng tôi đã phân tích, MCP-1 đóng vai trò trung tâm trong quá trình viêm cấp và mãn tính bằng cách kiểm soát dòng đại thực bào đi vào tổ chức [125]. Với phân tích mô hình hồi quy đa biến, chúng tôi thấy ảnh hưởng của MCP-1 lên thương tổn ILD một cách rõ ràng hơn so với nghiên cứu của Antonelli năm 2008 [8] và nghiên cứu của Hasegawa năm 2011 [12]. Sự xâm nhập của đơn bào/đại thực bào vào dịch rửa phế quản của bệnh nhân XCBHT đã được chứng minh trong nghiên cứu trước đây có thể là kết quả của tăng cường sản xuất MCP-1 tại tổ chức phổi, dẫn đến tăng nồng độ MCP-1 huyết thanh trên bệnh nhân XCBHT [138]. Vai trò của MCP-1 thu hút đại thực bào đi vào tổ

chức bằng cách điều chỉnh sự biểu hiện của các phân tử bám dính và các cytokin trong tế bào này. Nhiều nghiên cứu đã cho thấy rằng MCP-1 kích thích các tế bào đơn nhân/đại thực bào đến các vị trí viêm trong nhiều bệnh lý khác nhau bao gồm xơ vữa động mạch, viêm khớp dạng thấp [156], và viêm cầu thận [157]...Nghiên cứu của Hasegawa và Takehara (1999) cũng cho thấy MCP-1 xuất hiện thường xuyên trong biểu bì, tế bào đơn nhân viêm và nội mô mạch máu ở da của bệnh nhân XCBHT. Hơn nữa, MCP-1 thường tăng cao hơn ở bệnh nhân có thời gian bị bệnh ngắn. Do đó, sự tăng cường MCP-1 có thể góp phần vào việc tăng thương tổn xơ hoá của bệnh nhân XCBHT, đặc biệt trong giai đoạn sớm của bệnh [158].

Theo kết quả của Scala và cộng sự [159], xơ hoá phổi được đánh giá dựa trên điểm HRCT có liên quan giữa tăng nồng độ IL-10 với sự xuất hiện thương tổn phổi. Tuy nhiên, nghiên cứu này tiến hành trên nhóm bệnh nhân XCBHT giai đoạn muộn (11,1 năm). Nhiều nghiên cứu khác cho thấy sự tiết IL-10 của các tế bào B ngoại vi bị suy yếu làm bệnh nặng lên và hoạt động tăng tiết IL-10 từ các lympho điều hoà làm giảm ILD, protein C phản ứng và tự kháng thể [80], [123], [160]. Vai trò của IL-10 trong xơ hoá phổi cần được đánh giá sâu hơn dựa trên các mô hình thực nghiệm.

4.3.4. Thương tổn tăng áp lực động mạch phổi (PAH)

Sinh bệnh học của PAH không hoàn toàn sáng tỏ, nhưng những tiến bộ quan trọng gần đây về di truyền và phân tử, cơ chế bệnh lý của PAH đã xác định được các con đường tham gia vào sự phát triển của PAH. Nguyên nhân PAH có thể tiên phát do tổn thương mạch máu phổi hoặc thứ phát sau bệnh phổi kẽ và tổn thương tim [17]. Khi có tiến triển TALĐMP ở bệnh nhân XCBHT thì cần phải phân biệt nguyên nhân tiên phát với PAH liên quan đến sự xơ hóa phổi. Nhưng sự phân biệt này đôi khi không dễ dàng, đặc biệt ở nhiều bệnh nhân có sự kết hợp cả xơ hóa phổi và tổn thương mạch phổi thực

sự. PAH tiên phát được đặc trưng bằng sự tái cấu trúc các động mạch phổi do quá sản lớp nội mạc mạch, dày tổ chức trung mô, xơ hóa thứ phát và lắng đọng chất tạo keo gây ra vi tắc mạch do hẹp lòng mạch, tăng trở kháng lòng mạch, làm tăng gánh thất phải và suy tim. Thương tổn nội mô được cho là sự kiện tiên đề dẫn đến các bệnh lý mạch máu trong XCBHT, đóng vai trò thiết yếu trong sinh bệnh học của PAH. Ngoài ra, còn có hoạt động quá mức của hệ giao cảm và thay đổi hấp thu serotonin tại các tế bào cơ trơn mạch máu. Theo thời gian, quá trình tăng sinh và ảnh hưởng tái tạo tế bào nội mô cùng với các cytokin tiền xơ hoá như TGF- β 1, dẫn đến thay đổi cấu trúc và tắc nghẽn mạch máu phổi, hậu quả cuối cùng là xơ hoá mạch máu. Tình trạng thiếu oxy ở mô sẽ kích thích mạnh sản xuất TGF- β 1 và kích hoạt nguyên bào sợi tăng cường quá trình xơ hoá. Tăng kích hoạt tiểu cầu dẫn đến tình trạng huyết khối tại chỗ và kích hoạt các phản ứng oxy đặc hiệu, dẫn tới thiếu máu cục bộ và giảm tái tưới máu [151]. Ngoài thương tổn mạch máu nhỏ của phổi như mô tả ở trên, xơ hoá cũng tồn tại ở nhu mô phổi với các mức độ khác nhau dẫn đến thương tổn và thậm chí phá huỷ các tiểu động mạch nhỏ trong mô xơ góp phần vào bệnh sinh của PAH [152]. Tăng áp lực mạch phổi dai dẳng là nguyên nhân làm tăng sức cản mạch máu của phổi, cũng như hậu quả của PAH không hồi phục bất kể là nguyên nhân gì, dẫn đến tăng dần áp lực tâm thu và tình trạng quá tải của thất phải, cuối cùng dẫn đến suy tim phải, cung lượng tim và chỉ số tim giảm (bệnh tim phổi) [161].

TGF- β đóng vai trò quan trọng trong việc hình thành bệnh PAH gia đình theo cơ chế làm tăng sự phosphoryl hoá của Smad2/3 gây ra chết theo chương trình bất thường của các tế bào thành mạch máu. Điều trị gen vào tín hiệu TGF- β đã trở thành một điều trị đích trong bệnh PAH. Nghiên cứu trên mô hình PAH do sản mangan cho thấy sản mangan kích hoạt phản ứng miễn dịch Th2 (tăng IL-4 và IL-13) gây tăng mạch máu phổi tân tạo qua con đường kích hoạt

tín hiệu TGF- β [162]. Tuy nhiên, hồi quy đa biến trong nghiên cứu của chúng tôi, không có yếu tố nào làm tăng tỷ lệ gặp PAH có ý nghĩa thống kê.

Sau 1 năm điều trị, nhóm PAH nặng lên có TGF- β 1 cao hơn so với nhóm PAH cải thiện, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê nên cần phải tiến hành các nghiên cứu với cỡ mẫu lớn hơn và trong khoảng thời gian dài hơn để đánh giá mối liên quan này.

4.3.5. Thương tổn tiêu hoá

Chúng tôi không phát hiện được sự thay đổi nào có ý nghĩa thống kê về nồng độ cytokin trong máu của bệnh nhân XCBHT có và không có thương tổn ruột nghẹn. Các trường hợp bệnh nhân nặng lên, đặc biệt là hiện tượng trào ngược dạ dày thực quản chỉ liên quan nhiều đến tác dụng phụ của glucocorticoid đường uống. Thương tổn đường tiêu hoá trên bệnh nhân XCBHT liên quan chủ yếu đến xâm nhập viêm quanh mạch máu và giảm mật độ mao mạch trong giai đoạn đầu; tổng hợp và lắng đọng quá mức các thành phần ma trận ngoại bào ở giai đoạn sau. Trong mảnh cắt sinh thiết đường tiêu hoá của bệnh nhân XCBHT có rất nhiều sợi collagen IV xung quanh các tuyến và mạch máu nhỏ. Màng đáy dày lên làm giảm khả năng bài tiết. TGF- β 1, CTGF, ET-1 biểu hiện quá mức trong dạ dày của bệnh nhân XCBHT, chủ yếu ở thành mạch nhỏ và các lớp cơ. ...[163]. Tuy nhiên, chúng tôi không tìm nghiên cứu nào trước đây xác định được mối liên quan giữa triệu chứng đường tiêu hoá và nồng độ cytokin trong huyết thanh của bệnh nhân XCBHT.

Sau 1 năm điều trị, có 4 bệnh nhân nặng thêm triệu chứng ruột nghẹn. 4 bệnh nhân này có MCP-1, TGF- β 1 và BAFF thấp so với nhóm cải thiện. Tuy nhiên, chúng ta cần đánh giá thêm về triệu chứng này với cỡ mẫu lớn hơn.

4.3.6. Thương tổn thận

Cơ chế bệnh sinh thương tổn thận trên bệnh nhân XCBHT liên quan chủ yếu đến hẹp động mạch thận và thiếu máu cầu thận [164]. Cytokin được ghi nhận có ảnh hưởng nhiều nhất đến thương tổn thận ở bệnh nhân XCBHT là ET-1. Tuy nhiên, nhiều nghiên cứu trên tử thi cho thấy có sự thay đổi mạch máu thận ở nhiều bệnh nhân mà không có bằng chứng lâm sàng về cơn kịch phát thận. Do đó, các tác giả vẫn gặp khó khăn trong việc đưa ra yếu tố dự đoán cơn kịch phát thận.

Nghiên cứu của chúng tôi không gặp bệnh nhân cơn kịch phát thận mà chỉ đánh giá được về sự xuất hiện của bất thường tổng phân tích nước tiểu. Trên mô hình phân tích đa biến không bộc lộ yếu tố nguy cơ nào. Sự xuất hiện thương tổn thận liên quan đến thời gian bị bệnh dài đã được ghi nhận trong nhiều nghiên cứu như nghiên cứu của Scala và cộng sự [159]. Tuy nhiên, tiêu chuẩn thương tổn thận trong nghiên cứu của Scala không phải là bất thường tổng phân tích nước tiểu mà là cơn tăng huyết áp kịch phát thận hoặc tăng creatinine...Thời gian bị bệnh trung bình trong nghiên cứu của Scala là 11,1 năm - nhóm đối tượng giai đoạn muộn.

Sau 1 năm điều trị, 5 bệnh nhân nặng lên về bất thường tổng phân tích nước tiểu. Nhóm bệnh nhân nặng lên có IL-6 cao hơn nhưng TGF- β 1 lại thấp hơn so với nhóm cải thiện triệu chứng này. Tuy nhiên, cần đánh giá thêm về triệu chứng này với cỡ mẫu lớn hơn trong một thời gian lâu hơn.

4.3.7. Thương tổn cơ

Nghiên cứu về thương tổn cơ xương trong XCBHT lần đầu tiên được mô tả vào năm 1876. Để nhận biết bệnh lý cơ trên bệnh nhân XCBHT, cần phải loại trừ hội chứng chồng chéo (viêm đa cơ/viêm da cơ và XCBHT). Nhiều nghiên cứu đã cho thấy thương tổn cơ là một đặc điểm sống còn của

bệnh nhân XCBHT vì liên quan đến biến chứng tim phổi và thậm chí là đột tử do bệnh tim [165]. Dấu hiệu mô bệnh học chính của bệnh cơ trên bệnh nhân XCBHT là thương tổn xơ hoá, bệnh lý vi mạch và thâm nhiễm ít tế bào viêm. Nhuộm hoá mô miễn dịch thương tổn cơ cho thấy tăng VEGF-A165b, tuy nhiên, hình ảnh này cũng có thể gặp trong các bệnh lý viêm đa cơ khác [165]. Nghiên cứu về cytokin trên bệnh lý cơ bắt đầu vào năm 1986 với việc nhận dạng IL-2 và IFN trong bệnh viêm đa cơ. Kể từ đó, các tác giả đã mô tả nhiều loại cytokin liên quan đến các bệnh lý cơ khác nhau. Tuy nhiên, trên nhóm bệnh nhân XCBHT, không ghi nhận được mối liên quan nào với nồng độ cytokin với thương tổn cơ [20], [120], [152].

4.3.8. Thương tổn khớp

Đối với thương tổn khớp, mặc dù chế phẩm sinh học ức chế TNF- α đã được sử dụng thành công trong điều trị viêm khớp dạng thấp [2], nhưng chế phẩm này không có tác dụng trong thương tổn khớp ở XCBHT [166]. Ngoài ra, chế phẩm sinh học kháng IL-6 (tocilizumab hay abatacept) an toàn hơn và cải thiện thương tổn khớp nặng/XCBHT nhưng chưa chứng minh được lợi ích với các thương tổn nội tạng khác [93].

Theo phân tích mô hình đa biến, chúng tôi không phát hiện được mối tương quan giữa TNF và IL-6 với thương tổn khớp nhưng lại ghi nhận MCP-1 $\geq 389,2$ pg/ml làm tăng tỷ lệ đau khớp lên 33,9 lần và IL-10 tăng trên ngưỡng phát hiện làm tăng tỷ lệ đau khớp lên 36,9 lần. Các số liệu có ý nghĩa thống kê. Ngoài ra, giới tính nam cũng góp phần vào mô hình đa biến làm tăng tỷ lệ đau khớp.

MCP-1 đã được chứng minh là một dấu ấn sinh học liên quan đến mức độ nặng của bệnh viêm khớp dạng thấp trong nhiều nghiên cứu trước đây [21], [156]. Koch và cộng sự đã chứng minh MCP-1 tăng trong huyết thanh

và tổ chức hoạt dịch của bệnh nhân viêm khớp, có nguồn gốc từ đại thực bào và nguyên bào sợi. Kết quả này cho thấy MCP-1 đóng vai trò quan trọng trong việc kích hoạt thực bào đơn nhân /đại thực bào vào tổ chức hoạt dịch của khớp viêm. Đại thực bào trong tổ chức hoạt dịch rất quan trọng trong sự phá huỷ khớp vì nó xử lý kháng nguyên và giải phóng ra nhiều loại cytokin bao gồm IL-6, TGF- β , TNF...Ngoài ra, tế bào này cũng làm trung gian cho phản ứng xơ hoá bằng cách sản xuất các yếu tố tăng sinh mạch. Hơn nữa, đại thực bào có thể kích thích nguyên bào sợi tổ chức hoạt dịch giải phóng các cytokin như IL-6, TNF..., tạo ra một mạng lưới cytokin tác dụng trong khớp. Nguyên bào sợi trong tổ chức hoạt dịch của bệnh nhân viêm khớp có biểu hiện tăng tổng hợp MCP-1 cao hơn so với ở người khoẻ mạnh. Ngược lại, chính MCP-1 kích thích quá trình tuyển dụng tế bào đơn nhân/đại thực bào vào khớp viêm để duy trì phản ứng viêm khớp [156].

Cho đến nay, chưa có nghiên cứu về IL-10 trên bệnh nhân XCBHT đau khớp. Tuy nhiên, IL-10 đã được nghiên cứu nhiều trên bệnh nhân viêm khớp dạng thấp. Các kết quả trái ngược nhau về khả năng bảo vệ thương tổn khớp [167] và nguy cơ tăng mức độ hoạt động bệnh của IL-10 [168]. Nghiên cứu của Lard và cộng sự cho thấy thương tổn khớp tăng lên kèm tăng phá huỷ khớp trên các bệnh nhân có kiểu gen sản xuất IL-10 cao. Ngoài ra, trên các bệnh nhân này, nồng độ tự kháng thể cũng cao hơn. Cơ chế của hiện tượng này được giải thích do IL-10 kích thích sự sống sót của lympho B và làm tăng sản xuất tự kháng thể trên bệnh nhân viêm khớp dạng thấp [169].

4.3.9. Thương tổn cơ quan phối hợp

Theo nghiên cứu của chúng tôi, 100% bệnh nhân có từ 2 thương tổn cơ quan trở lên bao gồm thương tổn da. Các bệnh nhân XCBHT thường chỉ đi khám khi thương tổn da lan rộng hoặc xuất hiện thêm bất thường cơ quan khác trong cơ thể. 62,4% bệnh nhân có 3-4 thương tổn cơ quan phối hợp. Khi

phân tích mô hình đa biến, BAFF < 1977,1 pg/ml làm tăng nguy cơ gấp từ 4 thương tổn cơ quan trở lên gấp 10,1 lần, có ý nghĩa thống kê. BAFF tăng trong huyết thanh bệnh nhân XCBHT thể hiện sự kích hoạt lympho B. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy lympho B là một quần thể không đồng nhất với các tập con khác nhau, được phân biệt bởi kiểu hình và sự sản xuất cytokin của chúng. Trên bệnh nhân XCBHT sự phân bố các tập con của lympho B bị thay đổi: lympho B nhớ giảm, lympho B “còn trinh” tăng lên [81], [170]. Kết quả của chúng tôi có thể lý giải một phần sự thất bại của liệu pháp ức chế lympho B trong điều trị XCBHT [83]. Thuốc kháng BAFF đã được chấp thuận trong điều trị lupus ban đỏ hệ thống, tuy nhiên, để ứng dụng trong điều trị XCBHT, cần có các nghiên cứu lớn hơn đảm bảo liệu pháp điều trị sinh học này không thất bại [3].

KẾT LUẬN

Nghiên cứu trên 32 bệnh nhân XCBHT giai đoạn rất sớm (thời gian bệnh trung bình $10,8 \pm 8,1$ tháng), chưa điều trị gì đưa ra các kết quả rất đáng quan tâm về nồng độ các cytokin trong máu của bệnh nhân XCBHT:

1. Thay đổi nồng độ các cytokin trong máu của bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống trước và sau điều trị

- Trước điều trị, 4 cytokin được phát hiện trong huyết thanh trên 90% bệnh nhân: MCP-1 ($673,6 \pm 702,7$ pg/ml), TGF- β 1 ($28\ 367,0 \pm 18\ 037,7$ pg/ml), IL-6 ($301,1 \pm 950,5$ pg/ml) và BAFF ($2148,1 \pm 979,4$ pg/ml). Chỉ có 30-40% bệnh nhân phát hiện được TNF ($8,1 \pm 17,9$ pg/ml), IL-10 ($3,1 \pm 14,9$ pg/ml) và IL-2 ($3,1 \pm 9,9$ pg/ml). Ngoài ra, các cytokin khác như IL-4, IFN- γ và IL-17A được phát hiện trong một số rất ít bệnh nhân.

+ Nồng độ BAFF tăng cao ở bệnh nhân nam giới, bệnh nhân có ATA dương tính và bệnh nhân có thời gian bị bệnh ngắn. IL-6 tăng cao ở nhóm ANA dương tính 4+.

+ Nồng độ MCP-1 tăng cao đồng biến với IL-6 với $r = 0,42$; $p = 0,02$ (theo phân tích tương quan đơn biến).

- Sau điều trị 1 năm, chỉ có BAFF giảm có ý nghĩa thống kê so với thời điểm trước điều trị ($1683,7 \pm 919,1$ pg/ml). Các cytokin nguồn gốc lympho T đều xu hướng giảm (TNF, IL-4, IFN- γ , IL-17A, IL-2). Trong khi đó, các cytokin: IL-6, TGF- β 1, MCP-1 và IL-10 có xu hướng tăng lên cho thấy đây là các cytokin quan trọng, duy trì phản ứng viêm và xơ hoá kéo dài trên bệnh nhân XCBHT.

2. Mối tương quan giữa các cytokin với thương tổn da và nội tạng

- Loét đầu chi tăng 76,9 lần trên bệnh nhân có IL-10 trên ngưỡng phát hiện. Sau 1 năm, tỷ lệ loét đầu chi tăng lên, nhóm nặng lên có BAFF cao hơn nhóm cải thiện.

- Thương tổn dày da: mRSS giảm có ý nghĩa thống kê sau 1 năm điều trị. Nhóm thương tổn da nặng lên có TGF- β 1 thấp hơn nhóm cải thiện.

- Các thương tổn nội tạng:

+ MCP-1 cao trên 389,2 pg/ml, IL-10 trên ngưỡng phát hiện làm tăng nguy cơILD 42,1 lần và 236,2 lần. Sau 1 năm, nhóm nặng lên có BAFF thấp hơn nhóm cải thiện

+ MCP-1 cao trên 389,2 pg/ml, IL-10 trên ngưỡng phát hiện làm tăng nguy cơ đau khớp 30,8 lần và 23,2 lần.

+ PAH gặp trong 40,6% bệnh nhân trước điều trị; nuốt nghẹn gặp trong 15,6%, rối loạn tổng phân tích nước tiểu gặp trong 21,9 % và thương tổn cơ gặp trong 25% bệnh nhân trước điều trị; tăng lên sau 1 năm. Không có mối tương quan giữa nồng độ cytokin và các thương tổn nội tạng này.

- Có 59,3% bệnh nhân gặp từ 4 thương tổn cơ quan trở lên, nguy cơ tăng lên 10,1 lần nếu BAFF thấp dưới 1977,1 pg/ml.

KIẾN NGHỊ

Sự khám phá các cytokin mới giúp tăng khả năng tiếp cận với bệnh nhân XCBHT, hỗ trợ cho các đánh giá trước đây bao gồm mRSS, PFTs, RHC và HRCT. Trong tương lai, cần nghiên cứu nhiều cytokin hơn, với cỡ mẫu lớn hơn và theo dõi trong thời gian dài hơn nhằm hiểu rõ hơn cơ chế bệnh sinh của bệnh xơ cứng bì hệ thống và đưa ra các chế phẩm sinh học điều trị đích phù hợp với từng bệnh nhân. Cần xây dựng được nhiều mô hình thực nghiệm với phương pháp đa dạng hơn để khẳng định các mối tương quan giữa cytokin và thương tổn nội tạng.

CÁC CÔNG TRÌNH CÔNG BỐ LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN

1. Thương tổn phổi trên các bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống giai đoạn sớm - *Tạp chí Da liễu học Việt Nam*. Số 20 (12/2015).
2. Đánh giá mức độ nặng của bệnh xơ cứng bì hệ thống giai đoạn sớm sử dụng thang điểm medsker - *Tạp chí Da liễu học Việt Nam*. Số 22 (07/2016).
3. Vai trò của BAFF trên bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống – *Tạp chí y học thực hành*. Số 3 (1068) 2018.
4. Định lượng nồng độ huyết thanh 07 cytokin ở bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống giai đoạn sớm – *Tạp chí Y dược lâm sàng 108*. Số 8 (12/2018).

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Katsumoto T.R., M.L. Whitfield, M.K. Connolly (2011). The pathogenesis of systemic sclerosis. *Annu Rev Pathol*; 6: p. 509-37.
2. Van Den Bosch F., E. Kruithof, D. Baeten et al (2002). Randomized double-blind comparison of chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha (infliximab) versus placebo in active spondylarthropathy. *Arthritis Rheum*; 46(3): p. 755-65.
3. Navarra S.V., R.M. Guzmán, A.E. Gallacher et al (2011). Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *The Lancet*; 377(9767): p. 721-731.
4. Turner M.D., B. Nedjai, T. Hurst et al (2014). Cytokines and chemokines: At the crossroads of cell signalling and inflammatory disease. *Biochim Biophys Acta*; 1843(11): p. 2563-2582.
5. Baraut J., L. Michel, F. Verrecchia et al (2010). Relationship between cytokine profiles and clinical outcomes in patients with systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*; 10(2): p. 65-73.
6. Raja J., C.P. Denton (2015). Cytokines in the immunopathology of systemic sclerosis. *Semin Immunopathol*; 37(5): p. 543-57.
7. Bellando-Randone S., M. Matucci-Cerinic (2017). Very Early Systemic Sclerosis and Pre-systemic Sclerosis: Definition, Recognition, Clinical Relevance and Future Directions. *Curr Rheumatol Rep*; 19(10): p. 65.
8. Steen V.D., T.A. Medsger, Jr. (2000). Severe organ involvement in systemic sclerosis with diffuse scleroderma. *Arthritis Rheum*; 43(11): p. 2437-44.

9. Antonelli A., C. Ferri, P. Fallahi et al (2008). CXCL10 (alpha) and CCL2 (beta) chemokines in systemic sclerosis--a longitudinal study. *Rheumatology (Oxford)*; 47(1): p. 45-9.
10. Affandi A.J., T.R. Radstake, W. Marut (2015). Update on biomarkers in systemic sclerosis: tools for diagnosis and treatment. *Semin Immunopathol*; 37(5): p. 475-87.
11. Matsushita T., M. Hasegawa, K. Yanaba et al (2006). Elevated serum BAFF levels in patients with systemic sclerosis: enhanced BAFF signaling in systemic sclerosis B lymphocytes. *Arthritis Rheum*; 54(1): p. 192-201.
12. Hasegawa M., M. Fujimoto, T. Matsushita et al (2011). Serum chemokine and cytokine levels as indicators of disease activity in patients with systemic sclerosis. *Clin Rheumatol*; 30(2): p. 231-7.
13. Matsushita T., M. Hasegawa, Y. Hamaguchi et al (2006). Longitudinal analysis of serum cytokine concentrations in systemic sclerosis: association of interleukin 12 elevation with spontaneous regression of skin sclerosis. *J Rheumatol*; 33(2): p. 275-84.
14. Hasegawa M. (2016). Biomarkers in systemic sclerosis: Their potential to predict clinical courses. *J Dermatol*; 43(1): p. 29-38.
15. Hasegawa M., K. Takehara (2012). Potential immunologic targets for treating fibrosis in systemic sclerosis: a review focused on leukocytes and cytokines. *Semin Arthritis Rheum*; 42(3): p. 281-96.
16. Gyger G., M. Baron (2015). Systemic Sclerosis: Gastrointestinal Disease and Its Management. *Rheum Dis Clin North Am*; 41(3): p. 459-73.

17. Galie N., M. Humbert, J.L. Vachiery et al (2016). 2015 ESC/ERS Guidelines for the diagnosis and treatment of pulmonary hypertension: The Joint Task Force for the Diagnosis and Treatment of Pulmonary Hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Respiratory Society (ERS): Endorsed by: Association for European Paediatric and Congenital Cardiology (AEPC), International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT). *Eur Heart J*; 37(1): p. 67-119.
18. Elhai M., C. Meune, J. Avouac et al (2012). Trends in mortality in patients with systemic sclerosis over 40 years: a systematic review and meta-analysis of cohort studies. *Rheumatology (Oxford)*; 51(6): p. 1017-26.
19. Coghlan J.G., C.P. Denton, E. Grunig et al (2014). Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study. *Ann Rheum Dis*; 73(7): p. 1340-9.
20. Morrisroe K.B., M. Nikpour, S.M. Proudman (2015). Musculoskeletal Manifestations of Systemic Sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*; 41(3): p. 507-18.
21. Woodworth T.G., Y.A. Suliman, D.E. Furst et al (2016). Scleroderma renal crisis and renal involvement in systemic sclerosis. *Nat Rev Nephrol*; 12(11): p. 678-691.
22. Denton C.P., M. Hughes, N. Gak et al (2016). BSR and BHPR guideline for the treatment of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*; 55(10): p. 1906-10.
23. Vinh L.T. (2012). *Mô hình bệnh da liễu và hoạt động khám bệnh tại khoa khám bệnh, bệnh viện da liễu trung ương từ năm 2009 đến năm 2011*. Luận văn thạc sỹ quản lý bệnh viện - Trường đại học y tế công cộng.

24. Hausteiu U.F. (2002). Systemic sclerosis-scleroderma. *Dermatol Online J*; 8(1): p. 3.
25. Krasimirova E., T. Velikova, E. Ivanova-Todorova et al (2017). Treg/Th17 cell balance and phytohaemagglutinin activation of T lymphocytes in peripheral blood of systemic sclerosis patients. *World J Exp Med*; 7(3): p. 84-96.
26. Goldsmith L.A. (2012). *Fitzpatrick's Dermatology General in Medicine*. Mc Graw Hill; III (Issue): 1943 - 1953.
27. Martin P., W.R. Teodoro, A.P. Velosa et al (2012). Abnormal collagen V deposition in dermis correlates with skin thickening and disease activity in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*; 11(11): p. 827-35.
28. HN C. (1991). Endothelial and fibroblastic activation in scleroderma. The myth of the uninvolved skin. *Arthritis Rheum*; 34: p. 1495 - 1501.
29. Gabbiani G. (2003). The myofibroblast in wound healing and fibrocontractive diseases. *J Pathol*; 200(4): p. 500-3.
30. Agarwal S.K. (2008). Genetics and Genomic studies in scleroderma (systemic sclerosis). *Rheum Dis Clin N Am*; 34: p. 17 - 40.
31. Rodnan G. (1992). *Progressive systemic sclerosis (scleroderma) immunological diseases the atopis diseases allergic reaction patterns of the skin*. (Issue): 1109 - 1114.
32. C.M B. (1991). Systemic sclerosis and pregnancy. *Systemic scleroderma*; 28: p. 26.
33. Rodnan G.P., T.G. Benedek, T.A. Medsger, Jr. et al (1967). The association of progressive systemic sclerosis (scleroderma) with coal miners' pneumoconiosis and other forms of silicosis. *Ann Intern Med*; 66(2): p. 323-34.

34. L.D E. (1957). Scleroderma in goldminers on the Withwaterstrand with particular reference to pulmonary.
35. C.G B. (2005). Systemic sclerosis and related disorder. Harrison's principles of internal medicine.
36. Raynaud M. (1967). Raynaud's disease. *JAMA*; 200(11): p. 985-6.
37. Herrick A.L. C.S. (1998). "Quantifying digital Vascular disease in Patients With Primary Raynaud's phenomenon and Systemic Sclerosis". *Ann Rheum Dis*; (57): p. 70-78.
38. Kahaleh M.B (1994). Raynaud's phenomenon and Vascular disease in scleroderma. *Curr opin Rheumatol*; (6): p. 621-627.
39. M. Cutolo M.M.C. (2007). Nailfold capillaroscopy and classification criteria for systemic sclerosis. *Clinical and Experimental Rheumatology*; (25): p. 663-665.
40. Maurizio Cutolo, Carmen Pizzorni, Maria Elena Secchi et al (2008). Capillaroscopy. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*; 22(6): p. 1093-1108.
41. Clements PJ, Lachenbruch PA, Seibold JR et al (1995). Inter and intraobserver variability of total skin thickness score (modified Rodnan TSS) in systemic sclerosis. *J Rheumatol*; (22): p. 1281-1285.
42. Tuyên P.T. (2012). *Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, cận lâm sàng, mối liên quan giữa tổn thương da với nội tạng ở bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống*. Luận văn tốt nghiệp bác sỹ chuyên khoa II, Đại học Y Hà Nội.
43. Minh V.N. (2014). *Mối liên quan giữa thang điểm m-Rodnan với các thương tổn da khác và mô bệnh học da trong bệnh xơ cứng bì hệ thống*. Bệnh viện Da liễu Trung ương.
44. Khanna D., D.E. Furst, P.J. Clements et al (2017). Standardization of the modified Rodnan skin score for use in clinical trials of systemic sclerosis. *J Scleroderma Relat Disord*; 2(1): p. 11-18.

45. Rodnan G.P., E. Lipinski, J. Luksick (1979). Skin thickness and collagen content in progressive systemic sclerosis and localized scleroderma. *Arthritis Rheum*; 22(2): p. 130-40.
46. Centre N.C.G. (2013). *Diagnosis and Management of Suspected Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Idiopathic Pulmonary Fibrosis*, in *Diagnosis and Management of Suspected Idiopathic Pulmonary Fibrosis: Idiopathic Pulmonary Fibrosis*: London.
47. Tashkin D.P., E.R. Volkman, C.H. Tseng et al (2016). Relationship between quantitative radiographic assessments of interstitial lung disease and physiological and clinical features of systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*; 75(2): p. 374-81.
48. Goh N.S., S.R. Desai, S. Veeraraghavan et al (2008). Interstitial lung disease in systemic sclerosis: a simple staging system. *Am J Respir Crit Care Med*; 177(11): p. 1248-54.
49. Rubio-Rivas M., C. Royo, C.P. Simeon et al (2014). Mortality and survival in systemic sclerosis: systematic review and meta-analysis. *Semin Arthritis Rheum*; 44(2): p. 208-19.
50. Soukup T., R. Pudil, K. Kubinova et al (2016). Application of the DETECT algorithm for detection of risk of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: data from a Czech tertiary centre. *Rheumatology (Oxford)*; 55(1): p. 109-14.
51. Walecka I. (2017). Systemic sclerosis and the gastrointestinal tract. *Prz Gastroenterol*; 12(3): p. 163-168.
52. Hudson M., M.J. Fritzler (2014). Diagnostic criteria of systemic sclerosis. *J Autoimmun*; 48-49: p. 38-41.
53. Kowal-Bielecka O., R. Landewe, J. Avouac et al (2009). EULAR recommendations for the treatment of systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials and Research group (EUSTAR). *Ann Rheum Dis*; 68(5): p. 620-8.

54. Sampaio-Barros P.D., A.F. Zimmermann, S. Muller Cde et al (2013). Recommendations for the management and treatment of systemic sclerosis. *Rev Bras Reumatol*; 53(3): p. 258-75.
55. Steen V.D., S. Blair, T.A. Medsger, Jr. (1986). The toxicity of D-penicillamine in systemic sclerosis. *Ann Intern Med*; 104(5): p. 699-705.
56. Steen V.D., T.A. Medsger, Jr. (1998). Case-control study of corticosteroids and other drugs that either precipitate or protect from the development of scleroderma renal crisis. *Arthritis Rheum*; 41(9): p. 1613-9.
57. Bose N., A. Chiesa-Vottero, S. Chatterjee (2015). Scleroderma renal crisis. *Semin Arthritis Rheum*; 44(6): p. 687-94.
58. Manno R., F. Boin (2010). Immunotherapy of systemic sclerosis. *Immunotherapy*; 2(6): p. 863-878.
59. Dinarello C.A. (2007). Historical insights into cytokines. *Eur J Immunol*; 37 Suppl 1: p. S34-45.
60. Romagnani S. (1999). Th1/Th2 cells. *Inflamm Bowel Dis*; 5(4): p. 285-94.
61. Stockinger B., M. Veldhoen, B. Martin (2007). Th17 T cells: linking innate and adaptive immunity. *Semin Immunol*; 19(6): p. 353-61.
62. Liang S.C., X.Y. Tan, D.P. Luxenberg et al (2006). Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides. *J Exp Med*; 203(10): p. 2271-9.
63. Antiga E., P. Quaglino, S. Bellandi et al (2010). Regulatory T cells in the skin lesions and blood of patients with systemic sclerosis and morphea. *Br J Dermatol*; 162(5): p. 1056-63.
64. Yoshizaki A. (2016). B lymphocytes in systemic sclerosis: Abnormalities and therapeutic targets. *J Dermatol*; 43(1): p. 39-45.

65. Kahaleh B. (2008). Vascular disease in scleroderma: mechanisms of vascular injury. *Rheum Dis Clin North Am*; 34(1): p. 57-71; vi.
66. Inghilleri S., P. Morbini, T. Oggionni et al (2006). In situ assessment of oxidant and nitrogenic stress in bleomycin pulmonary fibrosis. *Histochem Cell Biol*; 125(6): p. 661-9.
67. Yoshizaki A., Y. Iwata, K. Komura et al (2008). CD19 regulates skin and lung fibrosis via Toll-like receptor signaling in a model of bleomycin-induced scleroderma. *Am J Pathol*; 172(6): p. 1650-63.
68. York M.R., T. Nagai, A.J. Mangini et al (2007). A macrophage marker, Siglec-1, is increased on circulating monocytes in patients with systemic sclerosis and induced by type I interferons and toll-like receptor agonists. *Arthritis Rheum*; 56(3): p. 1010-20.
69. Hugle T., S. O'Reilly, R. Simpson et al (2013). Tumor necrosis factor-costimulated T lymphocytes from patients with systemic sclerosis trigger collagen production in fibroblasts. *Arthritis Rheum*; 65(2): p. 481-91.
70. Stifano G., R.B. Christmann (2016). Macrophage Involvement in Systemic Sclerosis: Do We Need More Evidence? *Curr Rheumatol Rep*; 18(1): p. 2.
71. Parameswaran N., S. Patial (2010). Tumor necrosis factor-alpha signaling in macrophages. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*; 20(2): p. 87-103.
72. Rieckmann P., J.M. Tuscano, J.H. Kehrl (1997). Tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha) and interleukin-6 (IL-6) in B-lymphocyte function. *Methods*; 11(1): p. 128-32.
73. Distler J.H., A. Akhmetshina, G. Schett et al (2009). Monocyte chemoattractant proteins in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Rheumatology (Oxford)*; 48(2): p. 98-103.

74. Rajkumar V.S., C. Sundberg, D.J. Abraham et al (1999). Activation of microvascular pericytes in autoimmune Raynaud's phenomenon and systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*; 42(5): p. 930-41.
75. Lafyatis R. (2014). Transforming growth factor beta--at the centre of systemic sclerosis. *Nat Rev Rheumatol*; 10(12): p. 706-19.
76. Boileau C., D.C. Guo, N. Hanna et al (2012). TGFB2 mutations cause familial thoracic aortic aneurysms and dissections associated with mild systemic features of Marfan syndrome. *Nat Genet*; 44(8): p. 916-21.
77. Muraguchi A., T. Hirano, B. Tang et al (1988). The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J Exp Med*; 167(2): p. 332-44.
78. Davis L.S., J. Hutcheson, C. Mohan (2011). The role of cytokines in the pathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus. *J Interferon Cytokine Res*; 31(10): p. 781-9.
79. Yoshizaki A., S. Sato (2015). Abnormal B lymphocyte activation and function in systemic sclerosis. *Ann Dermatol*; 27(1): p. 1-9.
80. Mavropoulos A., T. Simopoulou, A. Varna et al (2016). Breg Cells Are Numerically Decreased and Functionally Impaired in Patients With Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheumatol*; 68(2): p. 494-504.
81. Sato S., M. Fujimoto, M. Hasegawa et al (2004). Altered blood B lymphocyte homeostasis in systemic sclerosis: expanded naive B cells and diminished but activated memory B cells. *Arthritis Rheum*; 50(6): p. 1918-27.
82. Mavropoulos A., C. Liaskos, T. Simopoulou et al (2017). IL-10-producing regulatory B cells (B10 cells), IL-17+ T cells and autoantibodies in systemic sclerosis. *Clin Immunol*.

83. Jordan S., J.H. Distler, B. Maurer et al (2015). Effects and safety of rituximab in systemic sclerosis: an analysis from the European Scleroderma Trial and Research (EUSTAR) group. *Ann Rheum Dis*; 74(6): p. 1188-94.
84. Czompoly T., D. Simon, L. Czirjak et al (2009). Anti-topoisomerase I autoantibodies in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*; 8(8): p. 692-6.
85. Perosa F., M. Prete, G. Di Lernia et al (2016). Anti-centromere protein A antibodies in systemic sclerosis: Significance and origin. *Autoimmun Rev*; 15(1): p. 102-9.
86. Sobanski V., L. Dauchet, G. Lefevre et al (2014). Prevalence of anti-RNA polymerase III antibodies in systemic sclerosis: New data from a French cohort and a systematic review and meta-analysis. *Arthritis Rheumatol*; 66(2): p. 407-17.
87. Sanges S., T. Guerrier, D. Launay et al (2017). Role of B cells in the pathogenesis of systemic sclerosis. *Rev Med Interne*; 38(2): p. 113-124.
88. Tvedt T.H.A., E. Ersvaer, A.A. Tveita et al (2017). Interleukin-6 in Allogeneic Stem Cell Transplantation: Its Possible Importance for Immunoregulation and As a Therapeutic Target. *Front Immunol*; 8: p. 667.
89. Muangchan C., J.E. Pope (2012). Interleukin 6 in systemic sclerosis and potential implications for targeted therapy. *J Rheumatol*; 39(6): p. 1120-4.
90. Dumoitier N., B. Chaigne, A. Regent et al (2017). Scleroderma Peripheral B Lymphocytes Secrete Interleukin-6 and Transforming Growth Factor beta and Activate Fibroblasts. *Arthritis Rheumatol*; 69(5): p. 1078-1089.
91. Feghali C.A., K.L. Bost, D.W. Boulware et al (2009). Control of Il-6 Expression and Response in Fibroblasts from Patients with Systemic Sclerosis. *Autoimmunity*; 17(4): p. 309-318.

92. Kondo K., T. Okada, T. Matsui et al (2001). Establishment and characterization of a human B cell line from the lung tissue of a patient with scleroderma; extraordinary high level of IL-6 secretion by stimulated fibroblasts. *Cytokine*; 13(4): p. 220-6.
93. Khanna D., C.P. Denton, A. Jahreis et al (2016). Safety and efficacy of subcutaneous tocilizumab in adults with systemic sclerosis (faSScinate): a phase 2, randomised, controlled trial. *The Lancet*; 387(10038): p. 2630-2640.
94. Roumm A.D., T.L. Whiteside, T.A. Medsger, Jr. et al (1984). Lymphocytes in the skin of patients with progressive systemic sclerosis. Quantification, subtyping, and clinical correlations. *Arthritis Rheum*; 27(6): p. 645-53.
95. Toribio M.L., J.C. Gutierrez-Ramos, L. Pezzi et al (1989). Interleukin-2-dependent autocrine proliferation in T-cell development. *Nature*; 342(6245): p. 82-5.
96. Spolski R., D. Gromer, W.J. Leonard (2017). The gamma c family of cytokines: fine-tuning signals from IL-2 and IL-21 in the regulation of the immune response. *F1000Res*; 6: p. 1872.
97. Boyman O., J. Sprent (2012). The role of interleukin-2 during homeostasis and activation of the immune system. *Nat Rev Immunol*; 12(3): p. 180-90.
98. Gajewski T.F., S.R. Schell, G. Nau et al (1989). Regulation of T-cell activation: differences among T-cell subsets. *Immunol Rev*; 111: p. 79-110.
99. Pestka S., C.D. Krause, M.R. Walter (2004). Interferons, interferon-like cytokines, and their receptors. *Immunol Rev*; 202: p. 8-32.
100. Grassegger A., G. Schuler, G. Hessenberger et al (1998). Interferon-gamma in the treatment of systemic sclerosis: a randomized controlled multicentre trial. *Br J Dermatol*; 139(4): p. 639-48.

101. Serpieri H., P. Gillery, V. Salmon-Ehr et al (1997). Antagonistic Effects of Interferon- γ and Interleukin-4 on Fibroblast Cultures. *Journal of Investigative Dermatology*; 109(2): p. 158-162.
102. Howard M., J. Farrar, M. Hilfiker et al (1982). Identification of a T cell-derived b cell growth factor distinct from interleukin 2. *J Exp Med*; 155(3): p. 914-23.
103. Paul W.E. (2015). History of interleukin-4. *Cytokine*; 75(1): p. 3-7.
104. Mangan P.R., L.E. Harrington, D.B. O'Quinn et al (2006). Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature*; 441(7090): p. 231-4.
105. Manel N., D. Unutmaz, D.R. Littman (2008). The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor ROR γ . *Nat Immunol*; 9(6): p. 641-9.
106. Iwakura Y., H. Ishigame, S. Saijo et al (2011). Functional specialization of interleukin-17 family members. *Immunity*; 34(2): p. 149-62.
107. Fiorentino D.F., M.W. Bond, T.R. Mosmann (1989). Two types of mouse T helper cell. IV. Th2 clones secrete a factor that inhibits cytokine production by Th1 clones. *J Exp Med*; 170(6): p. 2081-95.
108. Asadullah K., W. Sterry, H.D. Volk (2003). Interleukin-10 therapy--review of a new approach. *Pharmacol Rev*; 55(2): p. 241-69.
109. Yamamoto T., B. Eckes, T. Krieg (2001). Effect of interleukin-10 on the gene expression of type I collagen, fibronectin, and decorin in human skin fibroblasts: differential regulation by transforming growth factor-beta and monocyte chemoattractant protein-1. *Biochem Biophys Res Commun*; 281(1): p. 200-5.

110. Coyle W (1988). A brief history of Scleroderma. *Scleroderma News*; 8(2).
111. Raul Fleischmajer J.S.P., William P. West (1977). Ultrastructure of cutaneous cellular infiltrates in scleroderma. *Arch Dermatol*; 113: p. 1661-1666.
112. Kahaleh M.B., E.C. LeRoy (1989). Interleukin-2 in scleroderma: correlation of serum level with extent of skin involvement and disease duration. *Ann Intern Med*; 110(6): p. 446-50.
113. Needleman B.W., F.M. Wigley, R.W. Stair (1992). Interleukin-1, interleukin-2, interleukin-4, interleukin-6, tumor necrosis factor alpha, and interferon-gamma levels in sera from patients with scleroderma. *Arthritis Rheum*; 35(1): p. 67-72.
114. Hạnh T.T. (1995). *Góp phần nghiên cứu một số đặc điểm lâm sàng và miễn dịch ở bệnh nhân xơ cứng bì hệ thống tiên triễn*. Luận án tiến sĩ - Đại học Y Hà Nội.
115. Hamaguchi Y., M. Hasegawa, M. Fujimoto et al (2008). The clinical relevance of serum antinuclear antibodies in Japanese patients with systemic sclerosis. *Br J Dermatol*; 158(3): p. 487-95.
116. Meier F.M., K.W. Frommer, R. Dinser et al (2012). Update on the profile of the EUSTAR cohort: an analysis of the EULAR Scleroderma Trials and Research group database. *Ann Rheum Dis*; 71(8): p. 1355-60.
117. Walker U.A., A. Tyndall, L. Czirjak et al (2007). Clinical risk assessment of organ manifestations in systemic sclerosis: a report from the EULAR Scleroderma Trials And Research group database. *Ann Rheum Dis*; 66(6): p. 754-63.
118. Merkel P.A., N.P. Silliman, P.J. Clements et al (2012). Patterns and predictors of change in outcome measures in clinical trials in scleroderma: an individual patient meta-analysis of 629 subjects with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*; 64(10): p. 3420-9.

119. Scolnik M., L.J. Catoggio, E. Lancioni et al (2014). Are There Clinical Differences in Limited Systemic Sclerosis according to Extension of Skin Involvement? *Int J Rheumatol*; 2014: p. 716358.
120. Jung M., A. Bonner, M. Hudson et al (2014). Myopathy is a poor prognostic feature in systemic sclerosis: results from the Canadian Scleroderma Research Group (CSRG) cohort. *Scand J Rheumatol*; 43(3): p. 217-20.
121. Takematsu H., H. Ozawa, T. Yoshimura et al (1991). Systemic TNF administration in psoriatic patients: a promising therapeutic modality for severe psoriasis. *Br J Dermatol*; 124(2): p. 209-10.
122. Kerdel F.A.B.M. (2015). TNF Inhibitors in Psoriasis: A Review. *Semin Cutan Med Surg*; 34(2 Suppl): p. S37-9.
123. Matsushita T., Y. Hamaguchi, M. Hasegawa et al (2016). Decreased levels of regulatory B cells in patients with systemic sclerosis: association with autoantibody production and disease activity. *Rheumatology (Oxford)*; 55(2): p. 263-7.
124. Murdaca G., F. Spano, M. Contatore et al (2014). Potential use of TNF-alpha inhibitors in systemic sclerosis. *Immunotherapy*; 6(3): p. 283-9.
125. Biswas P., F. Delfanti, S. Bernasconi et al (1998). Interleukin-6 induces monocyte chemoattractant protein-1 in peripheral blood mononuclear cells and in the U937 cell line. *Blood*; 91(1): p. 258-65.
126. Gu L., S. Tseng, R.M. Horner et al (2000). Control of TH2 polarization by the chemokine monocyte chemoattractant protein-1. *Nature*; 404(6776): p. 407-11.
127. Roberts A.B., M.B. Sporn, R.K. Assoian et al (1986). Transforming growth factor type beta: rapid induction of fibrosis and angiogenesis in vivo and stimulation of collagen formation in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 83(12): p. 4167-71.

128. Roberts A.B., U.I. Heine, K.C. Flanders et al (1990). Transforming growth factor-beta. Major role in regulation of extracellular matrix. *Ann NY Acad Sci*; 580: p. 225-32.
129. Edwards J.P., H. Fujii, A.X. Zhou et al (2013). Regulation of the expression of GARP/latent TGF-beta1 complexes on mouse T cells and their role in regulatory T cell and Th17 differentiation. *J Immunol*; 190(11): p. 5506-15.
130. Li A.G., D. Wang, X.H. Feng et al (2004). Latent TGFbeta1 overexpression in keratinocytes results in a severe psoriasis-like skin disorder. *EMBO J*; 23(8): p. 1770-81.
131. Denton C.P., P.A. Merkel, D.E. Furst et al (2007). Recombinant human anti-transforming growth factor beta1 antibody therapy in systemic sclerosis: a multicenter, randomized, placebo-controlled phase I/II trial of CAT-192. *Arthritis Rheum*; 56(1): p. 323-33.
132. Arai M., Y. Ikawa, S. Chujo et al (2013). Chemokine receptors CCR2 and CX3CR1 regulate skin fibrosis in the mouse model of cytokine-induced systemic sclerosis. *J Dermatol Sci*; 69(3): p. 250-8.
133. Barnes T.C., M.E. Anderson, R.J. Moots (2011). The many faces of interleukin-6: the role of IL-6 in inflammation, vasculopathy, and fibrosis in systemic sclerosis. *Int J Rheumatol*; 2011: p. 721608.
134. Khan K., S. Xu, S. Nihtyanova et al (2012). Clinical and pathological significance of interleukin 6 overexpression in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*; 71(7): p. 1235-42.
135. Balanescu P., A. Ladaru, E. Balanescu et al (2015). IL-17, IL-6 and IFN-gamma in Systemic Sclerosis Patients. *Rom J Intern Med*; 53(1): p. 44-9.

136. Francois A., E. Chatelus, D. Wachsmann et al (2013). B lymphocytes and B-cell activating factor promote collagen and profibrotic markers expression by dermal fibroblasts in systemic sclerosis. *Arthritis Res Ther*; 15(5): p. R168.
137. Giomarelli P., S. Scolletta, E. Borrelli et al (2003). Myocardial and lung injury after cardiopulmonary bypass: role of interleukin (IL)-10. *Ann Thorac Surg*; 76(1): p. 117-23.
138. Rossi G.A., P.B. Bitterman, S.I. Rennard et al (1985). Evidence for chronic inflammation as a component of the interstitial lung disease associated with progressive systemic sclerosis. *Am Rev Respir Dis*; 131(4): p. 612-7.
139. Famularo G., A. Procopio, R. Giacomelli et al (1990). Soluble interleukin-2 receptor, interleukin-2 and interleukin-4 in sera and supernatants from patients with progressive systemic sclerosis. *Clin Exp Immunol*; 81(3): p. 368-72.
140. Boyman O., C.D. Surh, J. Sprent (2006). Potential use of IL-2/anti-IL-2 antibody immune complexes for the treatment of cancer and autoimmune disease. *Expert Opin Biol Ther*; 6(12): p. 1323-31.
141. Koderer T., T.L. McGaha, R. Phelps et al (2002). Disrupting the IL-4 gene rescues mice homozygous for the tight-skin mutation from embryonic death and diminishes TGF-beta production by fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 99(6): p. 3800-5.
142. Parel Y., M. Aurrand-Lions, A. Scheja et al (2007). Presence of CD4+CD8+ double-positive T cells with very high interleukin-4 production potential in lesional skin of patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*; 56(10): p. 3459-67.

143. Rosenbloom J., G. Feldman, B. Freundlich et al (1986). Inhibition of excessive scleroderma fibroblast collagen production by recombinant gamma-interferon. Association with a coordinate decrease in types I and III procollagen messenger RNA levels. *Arthritis Rheum*; 29(7): p. 851-6.
144. Frieder J., D. Kivelevitch, A. Menter (2018). Secukinumab: a review of the anti-IL-17A biologic for the treatment of psoriasis. *Ther Adv Chronic Dis*; 9(1): p. 5-21.
145. Raymond W., G. Ostli-Eilertsen, S. Griffiths et al (2017). IL-17A levels in systemic lupus erythematosus associated with inflammatory markers and lower rates of malignancy and heart damage: Evidence for a dual role. *Eur J Rheumatol*; 4(1): p. 29-35.
146. Montufar-Robles I., R.E. Barbosa-Cobos, I. Aleman-Avila et al (2018). IL-17A haplotype confers susceptibility to systemic lupus erythematosus but not to rheumatoid arthritis in Mexican patients. *Int J Rheum Dis*.
147. Kurasawa K., K. Hirose, H. Sano et al (2000). Increased interleukin-17 production in patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheum*; 43(11): p. 2455-63.
148. Etehad Tavakol M., A. Fatemi, A. Karbalaie et al (2015). Nailfold Capillaroscopy in Rheumatic Diseases: Which Parameters Should Be Evaluated? *Biomed Res Int*; 2015: p. 974530.
149. Hasko G., C. Szabo, Z.H. Nemeth et al (1996). Adenosine receptor agonists differentially regulate IL-10, TNF-alpha, and nitric oxide production in RAW 264.7 macrophages and in endotoxemic mice. *J Immunol*; 157(10): p. 4634-40.

150. Terkeltaub R.A. (1999). IL-10: An "immunologic scalpel" for atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 19(12): p. 2823-5.
151. Tiev K.P., E. Diot, P. Clerson et al (2009). Clinical features of scleroderma patients with or without prior or current ischemic digital ulcers: post-hoc analysis of a nationwide multicenter cohort (ItinerAIR-Sclerodermie). *J Rheumatol*; 36(7): p. 1470-6.
152. York M., H.W. Farber (2011). Pulmonary hypertension: screening and evaluation in scleroderma. *Curr opin Rheumatol*; 23(6): p. 536-44.
153. Assous N., Y. Allanore, F. Batteux et al (2005). Prevalence of antiphospholipid antibodies in systemic sclerosis and association with primitive pulmonary arterial hypertension and endothelial injury. *Clin Exp Rheumatol*; 23(2): p. 199-204.
154. Gatta G., G. Di Grezia, A. Iacomino et al (2013). HRCT in systemic sclerosis: correlation between respiratory functional indexes and extension of lung failure. *J Biol Regul Homeost Agents*; 27(2): p. 579-87.
155. De Santis M., S. Bosello, G. La Torre et al (2005). Functional, radiological and biological markers of alveolitis and infections of the lower respiratory tract in patients with systemic sclerosis. *Respir Res*; 6: p. 96.
156. Koch A.E., S.L. Kunkel, L.A. Harlow et al (1992). Enhanced production of monocyte chemoattractant protein-1 in rheumatoid arthritis. *J Clin Invest*; 90(3): p. 772-9.
157. Stahl R.A., F. Thaiss, M. Disser et al (1993). Increased expression of monocyte chemoattractant protein-1 in anti-thymocyte antibody-induced glomerulonephritis. *Kidney Int*; 44(5): p. 1036-47.

158. White B. (1996). Immunopathogenesis of systemic sclerosis. *Rheum Dis Clin North Am*; 22(4): p. 695-708],[Hasegawa M., S. Sato, K. Takehara (1999). Augmented production of chemokines (monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1), macrophage inflammatory protein-1alpha (MIP-1alpha) and MIP-1beta) in patients with systemic sclerosis: MCP-1 and MIP-1alpha may be involved in the development of pulmonary fibrosis. *Clin Exp Immunol*; 117(1): p. 159-65.
159. Scala E., S. Pallotta, A. Frezzolini et al (2004). Cytokine and chemokine levels in systemic sclerosis: relationship with cutaneous and internal organ involvement. *Clin Exp Immunol*; 138(3): p. 540-6.
160. Soto L., A. Ferrier, O. Aravena et al (2015). Systemic Sclerosis Patients Present Alterations in the Expression of Molecules Involved in B-Cell Regulation. *Front Immunol*; 6: p. 496.
161. Mathai S.C., L.K. Hummers, H.C. Champion et al (2009). Survival in pulmonary hypertension associated with the scleroderma spectrum of diseases: impact of interstitial lung disease. *Arthritis Rheum*; 60(2): p. 569-77.
162. Graham B.B., J. Chabon, L. Gebreab et al (2013). Transforming growth factor-beta signaling promotes pulmonary hypertension caused by *Schistosoma mansoni*. *Circulation*; 128(12): p. 1354-64.
163. Manetti M., E. Neumann, A.F. Milia et al (2007). Severe fibrosis and increased expression of fibrogenic cytokines in the gastric wall of systemic sclerosis patients. *Arthritis Rheum*; 56(10): p. 3442-7.
164. Shanmugam V.K., V.D. Steen (2012). Renal disease in scleroderma: an update on evaluation, risk stratification, pathogenesis and management. *Curr opin Rheumatol*; 24(6): p. 669-76.

165. Corallo C., M. Cutolo, N. Volpi et al (2017). Histopathological findings in systemic sclerosis-related myopathy: fibrosis and microangiopathy with lack of cellular inflammation. *Ther Adv Musculoskelet Dis*; 9(1): p. 3-10.
166. Denton C.P., M. Engelhart, N. Tvede et al (2009). An open-label pilot study of infliximab therapy in diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis*; 68(9): p. 1433-9.
167. Verhoef C.M., J.A. van Roon, M.E. Vianen et al (2001). Interleukin 10 (IL-10), not IL-4 or interferon-gamma production, correlates with progression of joint destruction in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol*; 28(9): p. 1960-6.
168. Pawlik A., M. Kurzawski, B.G. Szklarz et al (2005). Interleukin-10 promoter polymorphism in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol*; 24(5): p. 480-4.
169. Lard L.R., F.A. van Gaalen, J.J. Schonkeren et al (2003). Association of the -2849 interleukin-10 promoter polymorphism with autoantibody production and joint destruction in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*; 48(7): p. 1841-8.
170. Forestier A., T. Guerrier, M. Jouvray et al (2018). Altered B lymphocyte homeostasis and functions in systemic sclerosis. *Autoimmun Rev*; 17(3): p. 244-255.

Phụ lục 1: BỆNH ÁN NGHIÊN CỨU

PHẦN LƯU TRỮ

Số bệnh án điện tử:..... Số lưu trữ:

Ngày khám:..... Ngày lưu huyết thanh:..... Bác sĩ khám:.....

PHẦN HÀNH CHÍNH - BỆNH SỬ - TIỀN SỬ

Họ tên Địa chỉ:.....

Nghề nghiệp:..... Điện thoại:

Tuổi:..... Giới:..... Cân nặng bình thường:.....kg Cân nặng hiện tại:kg

Cao:.....cm

M:.....lần/ phút HA:.....mmHg Nhiệt độ:.....độ C

Thời gian từ khi khởi phát bệnh:tháng Triệu chứng đầu tiên:

Thời gian từ khi thấy dày da:tháng

ĐIỀU TRỊ TRƯỚC ĐÂY

.....

.....

Nhóm thuốc làm thay đổi tiến triển bệnh (Nếu có, ghi rõ thời gian sử dụng)

D- penicillamine Hiện đang dùng Dừng thuốc cách đây:..... Chưa điều trị Không biết

Corticosteroid Hiện đang dùng Dừng thuốc cách đây:..... Chưa điều trị Không biết

Cyclophosphamide Hiện đang dùng Dừng thuốc cách đây:..... Chưa điều trị Không biết

Azathioprine Hiện đang dùng Dừng thuốc cách đây:..... Chưa điều trị Không biết

Methotrexate Hiện đang dùng Dừng thuốc cách đây:..... Chưa điều trị Không biết

Thuốc khác Hiện đang dùng Dừng thuốc cách đây:..... Chưa điều trị Không biết

TIÊU CHUẨN CHẨN ĐOÁN

Thể giới hạn Thể lan tỏa

Tiêu chuẩn ACR 1980 (Chẩn đoán khi có tiêu chuẩn chính hoặc ≥ 2 tiêu chuẩn phụ)

Tiêu chuẩn chính	Da dày, giảm đàn hồi, hướng tâm, đối xứng	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
Tiêu chuẩn phụ	Xơ cứng da đầu chi	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
	Sẹo lõm hoặc loét đầu chi	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không
	Xơ hóa đáy phổi hai bên	<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không

Tiêu chuẩn ACR và EULAR 2013 (Chẩn đoán khi tổng điểm ≥ 9)

Tiêu chuẩn đầy đủ Thương tổn da vùng ngón tay cả hai bên, lan đến gần khớp đốt bàn)

Tổng:điểm

9 điểm

Các tiêu chuẩn khác	Phù nề đầu ngón	<input type="checkbox"/> 2 điểm
Dày da ngón tay (chỉ tính điểm cao nhất)	Xơ cứng da đầu ngón (chưa đến khớp đốt bàn nhưng gần đến vùng khớp ngón gần)	<input type="checkbox"/> 4 điểm
Thương tổn đầu ngón (chỉ tính điểm cao nhất)	Loét đầu ngón	<input type="checkbox"/> 2 điểm
Giãn mạch	Sẹo rỗ đầu ngón	<input type="checkbox"/> 3 điểm
Bất thường mao mạch nền móng		<input type="checkbox"/> 2 điểm
Tăng áp lực động mạch phổi và/hoặc bệnh phổi kẽ (điểm tối đa là 2)	Tăng áp lực động mạch phổi	<input type="checkbox"/> 2 điểm
Hiện tượng Raynaud's	Bệnh phổi kẽ	<input type="checkbox"/> 2 điểm
Các tự kháng thể liên quan đến XCBHT (điểm tối đa là 3)	Anti-Centromere	<input type="checkbox"/> 1 điểm
	Anti-Topoisomerase I	<input type="checkbox"/> 1 điểm
	Anti-RNAPolymerase III	<input type="checkbox"/> 1 điểm
	Kháng thể kháng nhân (HEP-2)	Ngày:
	Xn tự kháng thể khác:	KQ:

LÂM SÀNG DA							
m-RODNAN	Tổng:.....	0: không dày da	1: dày da nhẹ	2: dày da vừa	3: dày da nặng		
		Phải			Trái		
Ngón tay	0 1 2 3			Ngón tay	0 1 2 3		
Mu tay	0 1 2 3			Mu tay	0 1 2 3		
Cẳng tay	0 1 2 3			Cẳng tay	0 1 2 3		
Cánh tay	0 1 2 3			Cánh tay	0 1 2 3		
		Mặt	0 1 2 3				
		Ngực trước	0 1 2 3				
		Bụng	0 1 2 3				
Đùi	0 1 2 3			Đùi	0 1 2 3		
Cẳng chân	0 1 2 3			Cẳng chân	0 1 2 3		
Mu chân	0 1 2 3			Mu chân	0 1 2 3		
Sẹo rỗ (số lượng).....		Loét đầu ngón (số lượng).....		Hoại tử đầu ngón (số lượng).....			
<i>Hoại tử khô đầu ngón (trong vòng 1 năm trước)</i>		<input type="checkbox"/> Có	<input type="checkbox"/> Không	<input type="checkbox"/> Không biết			

Loét vết đầu ngón (trong vòng 1 năm trước) Có Không Không biết

Khớp (vị trí:) Có Không

Đau khớp Viêm khớp Hạn chế vận động Biến dạng

Khó thở khi gắng sức Có Không

TC đường tiêu hóa trên (nuốt nghẹn...) Có Không Không biết

CẬN LÂM SÀNG

Công thức máu Bạch cầu.....G/l PNN: Lympho:..... Ái toan:..... Khác:.....

Ngày làm:..... HC:.....T/l Hb.....g/dl HCT.....% Tiểu cầu.....x10³μl

Máu lắng Ngày làm:.....mm/1hmm/2h CRP (mg/dl).....

Sinh hóa Ureμmol/l Creatinin.....μmol/l

Nước tiểu Protein niệu 3+ 2+ 1+ -

Ngày làm:..... Trụ niệu Có Không Không biết

HC niệu Có Không Không biết

BC niệu Có Không Không biết

Nước tiểu 24h Ngày làm:..... Lượng nước tiểu/24h:..... Pro niệu:.....g/l Không biết

Cytokin IL-2.....IL-4.....IL-6.....IL-10.....

TGF.....BAFF.....MCP-1.....TNF.....IFN.....

IL-17A.....

THANG ĐIỂM MEDSGER - PHẦN NGHIÊNG KHÔNG THUỘC THANG ĐIỂM

Toàn trạng 0-bình thường 1 - nhẹ 2 - trung bình 3 - nặng 4-giai đoạn cuối

Giảm cân (%) < 5 5-10 10-15 15-20 >20

% giảm cân tính từ thời điểm ngay trước khi bắt đầu có biểu hiện xơ cứng da đến lúc thăm khám

Hematocrit (%)..... >37 33-37 29-33 25-29 <25

Hb (g/dl)..... >12,3 11,0-12,2 9,7-10,9 8,3-9,6 <8,3

Mạch máu ngoại vi 0-bình thường 1 - nhẹ 2 - trung bình 3 - nặng 4-giai đoạn cuối

Không Raynaud's Có Raynaud's Sẹo rỗ đầu ngón Loét nhỏ đầu ngón Hoại tử đầu ngón

Khớp/Gân 0-bình thường 1 - nhẹ 2 - trung bình 3 - nặng 4-giai đoạn cuối

FTP (cm) 0-0,9 1,0-1,9 2,0-3,9 4,0-4,9 >5,0

FTP: Độ nắm bàn tay

Phổi/mạch máu phổi	<input type="checkbox"/> 0-bình thường	<input type="checkbox"/> 1 - nhẹ	<input type="checkbox"/> 2 - trung bình	<input type="checkbox"/> 3 - nặng	<input type="checkbox"/> 4-giai đoạn cuối
DLCO (%)	>80	70-79	50-69	<50	Cần thở oxy (spO2 ≤90%)
FVC (%)	>80	70-79	50-69	<50	
sPAP (mmHg)	<35	35-49	50-64	>65	
	Không xơ trên phim Xquang	Có rale, xơ trên phim Xquang			

TLC:

FEV1/FVC:

KQ CT phổi:

KQ CNHH:

Tim	<input type="checkbox"/> 0-bình thường	<input type="checkbox"/> 1 - nhẹ	<input type="checkbox"/> 2 - trung bình	<input type="checkbox"/> 3 - nặng	<input type="checkbox"/> 4-giai đoạn cuối
EKG: Điện tâm đồ	Bình thường	Rối loạn dẫn truyền trên EKG	Loạn nhịp	Loạn nhịp cần điều trị	Suy tim
LVEFF (%)	>50	45-49	40-44	30-40	<30
KQ SAT:			KQ ĐTD:		

Thận	<input type="checkbox"/> 0-bình thường	<input type="checkbox"/> 1 - nhẹ	<input type="checkbox"/> 2 - trung bình	<input type="checkbox"/> 3 - nặng	<input type="checkbox"/> 4-giai đoạn cuối
Tiền sử đợt kịch phát thận và	Không	Có	Có	Có	Có
Creatinine (μmol/l)	< 115	<132	132 - 212	213 - 442	>442 hoặc lọc máu

Tiêu hóa	<input type="checkbox"/> 0-bình thường	<input type="checkbox"/> 1 - nhẹ	<input type="checkbox"/> 2 - trung bình	<input type="checkbox"/> 3 - nặng	<input type="checkbox"/> 4-giai đoạn cuối
	Bình thường	Nuốt khó, nuốt nghẹn	NK tiêu hóa tái phát (tiêu lỏng, đau bụng, phân nhầy, sốt)	Hội chứng kém hấp thu (phân sống, đau bụng, suy kiệt, thiếu chất); táo bón kéo dài, tiền sử giả tắc ruột	Cần truyền dịch hỗ trợ

Cơ	<input type="checkbox"/> 0-bình thường	<input type="checkbox"/> 1 - nhẹ	<input type="checkbox"/> 2 - trung bình	<input type="checkbox"/> 3 - nặng	<input type="checkbox"/> 4-giai đoạn cuối
Đánh giá cơ cánh tay, cơ đùi	Cơ lực độ 5: bình thường	Cơ lực độ 4: cơ cơ chống đối lực	Cơ lực độ 3: cơ cơ thắng trọng lực	Cơ lực độ 2: cơ cơ không thắng trọng lực	Cơ lực độ 0: không có cơ cơ hoặc độ 1: cơ cơ không sinh động tác

Phụ lục 2: DANH SÁCH BỆNH NHÂN

STT	HỌ	TÊN	MÃ LƯU	NGÀY VÀO NGHIÊN CỨU	GIỚI	TUỔI
1	Nguyễn Thị	L.	X042	23/07/13	Nữ	59
2	Đào Thị	V.	X055	12/09/13	Nữ	65
3	Trần Thị	V.	X061	03/10/13	Nữ	50
4	Đặng Văn	T.	X063	08/10/13	Nam	50
5	Nguyễn Thị	H.	X081	10/12/13	Nữ	52
6	Phạm Minh	C.	X086	19/12/13	Nam	59
7	Lài Thị	B.	X102	13/03/14	Nữ	30
8	Đỗ Văn	C.	X111	08/04/14	Nam	60
9	Nguyễn Ngọc	S.	X116	08/05/14	Nam	57
10	Trịnh Thị	Q.	X119	20/05/14	Nữ	60
11	Trần Thị	Q.	X140	24/07/14	Nữ	66
12	Phạm Thị	X.	X147	07/08/14	Nữ	44
13	Vũ Trọng	C.	X158	11/09/14	Nam	72
14	Vi Thị	B.	X160	17/09/14	Nữ	62
15	Vương Thị	O.	X179	25/11/14	Nữ	50
16	Hoàng Thị	V.	X207	12/03/15	Nữ	56
17	Đỗ Thị Vân	A.	X213	26/03/15	Nữ	28
18	Đinh Văn	Đ.	X244	11/06/15	Nam	49
19	Nguyễn Văn	L.	X245	12/05/15	Nam	29
20	Đoàn Thị	L.	X252	11/06/15	Nữ	57
21	Phạm Thị	H.	X260	25/06/15	Nữ	38
22	Nguyễn Thị	H.	X270	14/07/15	Nữ	30
23	Nguyễn Thị	L.	X284	27/08/15	Nữ	58
24	Lê Thị	H.	X311	31/12/15	Nữ	53

25	Nguyễn Thị	M.	X312	31/12/15	Nữ	52
26	Phạm Thị Kim	T.	X325	17/03/16	Nữ	52
27	Lê Văn	T.	X331	07/04/16	Nam	31
28	Lê Thị	D.	X344	07/06/16	Nữ	58
29	Lương Văn	L.	X380	03/11/16	Nam	30
30	Đặng Thị	L.	X390	13/09/16	Nữ	54
31	Triệu Thị	T.	X340	26/05/16	Nữ	52
32	Nguyễn Thị	Q.	X391	17/11/16	Nữ	46

**XÁC NHẬN CỦA
PHÒNG KẾ HOẠCH TỔNG HỢP
BỆNH VIỆN DA LIỄU TRUNG ƯƠNG**

**XÁC NHẬN CỦA
THẦY HƯỚNG DẪN**