

NGHIÊN CỨU MỘT ĐÁP ỨNG DỊCH THỂ ĐẶC HIỆU Ở CỰU CHIẾN BINH CÓ TIẾP XÚC VỚI DIOXIN MÀN HÌNH.

Phan thị Phi Phi(1), Trần thị Chính(1)

Hoàng đình Cầu(2), Lê cao Đài(2), Lê Bích Thủy(2)

23/9/95
KHO LƯU THƯ
CÔNG TRƯỜNG NHIỆM VỤ
29/12/95

Giới thiệu

Trong rất nhiều năm các nhà nghiên cứu Mỹ, Nhật, Đức cộng tác với các nhà nghiên cứu Việt nam đã chứng minh rằng dù đã 18-20 năm sau chiến tranh thì hàm lượng TCDD và TEQD đương lượng(TEQ) trong các mẫu máu và mẫu mỡ lấy ở người Miền Nam Việt nam(MNVN) có tiếp xúc nhiều năm với dioxin cao hơn một cách đáng kể so với người dân Hà nội là vùng không bị rải chất độc màu da cam. Hàm lượng trong máu, mỡ của người Hà nội là 2,2 ppt TCDD và TEQ là 8,8 ppt, người thành phố Hồ chí Minh: TCDD là 7,7 ppt, TEQ là 18,5 ppt, người tỉnh Sông Bé có TCDD là 17ppt và TEQ là 51,7ppt(Lê cao Đài và cs 1993, Schecter A. và cs 1992, Phạm hoàng Thiết và cs 1993, Lê Bích Thủy và cs 1993).

Hàm lượng các chất nói trên trong sữa mẹ ở MNVN tuy giảm dần theo thời gian nhưng vẫn còn cao hơn một cách có ý nghĩa so với sữa mẹ ở Miền Bắc và cao hơn từ 3-8 lần hàm lượng dioxin trung bình trong sữa mẹ ở các nước công nghiệp phát triển như Anh, Mỹ, Nhật, Canada, Cộng hòa Liên Bang Đức(Lê cao Đài, Đinh quang Minh và cs 1993, Schecter A. và cs.1992, Lê cao Đài, Hoàng trọng Quỳnh và cs 1990).

Bằng mô hình toán, Lê Bích Thủy và cs (1993) đã chứng minh mối tương quan có ý nghĩa thống kê giữa nồng độ dioxin trong cơ thể và chỉ số nhiễm độc da cam tính.

Mới đây, Schecter A.J.(1994) đã định lượng máu trộn (pooled blood) của cựu chiến binh chiến trường Tây nguyên cũ trở về sinh sống ở Miền Bắc nhiều năm(18-20 năm) thấy nồng độ TCDD và TEQ vẫn cao hơn đáng kể so với cựu chiến binh của chiến trường Miền Bắc VN(MBVN): Tây nguyên là 6,1ppt TCDD và 40,3 TEQ, MBVN có TCDD 1,2ppt và TEQ 12,0.

Các nhà Miễn dịch học VN đã chứng minh rằng trên các cựu chiến binh có tiếp xúc nhiều năm với TCDD và TEQ thì số lượng và chức năng tế bào lymphô T giảm rõ rệt, trong lúc số lượng tế bào B bình thường hay tăng cao, nồng độ các globulin miễn dịch(Ig) huyết thanh và hoạt tính C' toàn phần đều bình thường(Vũ triệu An và cs 1993).

Với các nhóm nghiên cứu năm 1993-1994 đã được Schecter A. định lượng TCDD và TEQ, Phan thị Phi Phi và cs đã chứng minh rằng tuy tổng số bạch cầu trên đơn vị thể tích máu vẫn bình thường nhưng khi phân tích chi tiết thấy số lượng tế bào lymphô T giảm nặng chủ yếu do Thelper giảm nặng, Ts bình thường hay tăng cao làm tỉ lệ Th/Ts giảm rõ rệt(xác định bằng kháng thể đơn clôn của hãng Boehringer Mannheim

Các tế bào mono cũng giảm có ý nghĩa trong lúc số lượng tế bào B

và tế bào diệt tự nhiên(NK-natural killer)tăng cao, bù lại sự giảm đồng T làm cho tổng số bạch cầu chung không giảm(Phan thị Phi Phi và cs 1994). Sự chế tiết một limphokin của Th như TNF-beta giảm khi kích thích với kháng nguyên trong lúc sự chế tiết IFNgamma của nhiều tế bào miễn dịch(T, đại thực bào, NK) không giảm mà có khi tăng (Phan thị Phi Phi và cs 1994). Sự suy giảm chức năng tế bào T cũng như Th còn được nhiều tác giả khác chứng minh(trên người và thực nghiệm(Funseth E. và cs 1991, M.Koseto và cs 1993, Smoggers và cs 1993). Riêng chức năng tế bào B thì đa số các tác giả thấy rằng dioxin là vô hại(Vũ triệu An và cs 1993, Lundberg K. và cs 1991).

Công trình này nhằm khảo sát chức năng tế bào B đặc hiệu với 1 vắc xin viêm gan tái tổ hợp ADN(vắc xin Engerix B có chứa HBsAg) là vắc xin phòng viêm gan B, xơ gan, ung thư gan.

Đối tượng và phương pháp

Đối tượng nghiên cứu: Do kinh phí quá hạn chế, chỉ tiến hành được với 6 người có tiếp xúc mãn tính với dioxin(chưa xác định được hàm lượng TCDD và TEQ trong máu hay mỡ) và 2 người chứng xấp xỉ cùng tuổi với các đối tượng nghiên cứu.

Danh sách và 1 vài thông tin về nhóm nghiên cứu và chứng

TT	Họ tên	Tuổi	Đơn vị công tác ở chiến trường khu 5	Thời gian ở chiến trường
1	Huỳnh Hương Liên	52	Trung tâm VSIĐ khu 5	1966-1971
2	Phan thị Phi Phi	58	Bệnh viện 1 khu 5	1966-1972
3	Lê thị Toán	48	Trung tâm Sốt rét, KST và Côn Côn trùng	1968-1975
4	Nguyễn thị Minh Tân	48	nt	nt
5	Lương xuân Dũng	48	nt	nt
6	Nguyễn Thụy Hùng	48	nt	nt
7	Trần thị Chính	50	Trường Đại học YK Hà nội	không
8	Trương mộng Trang	49	nt	không

-Vắc xin Engerix(r-DNA hepatitis vaccine) của hãng Smithkline Beecham, liều dùng 20mcg cho 1 lần mỗi năm, được tiêm bắp thịt.

-Quy trình miễn cảm: Các đối tượng nghiên cứu được giả thiết là có thể có suy giảm chức năng tế bào B(bên cạnh Th giảm) nên đã sử dụng quy trình miễn cảm vào các tháng 0,1,2 và 12. Đến tháng 11/1995 mới dùng được 3 mũi tiêm miễn cảm 0,1,2, chưa dùng liều tiêm nhắc lại ở tháng thứ 12. Máu được lấy để định giá đáp ứng của tế bào B đặc hiệu HBsAg vào các thời điểm trước miễn cảm, sau mỗi lần miễn cảm đầu tiên

2,5 tháng, 4-4,5 tháng và 6-6,5 tháng.

Xác định các dấu ấn sau đây trong máu: HBsAg bằng kỹ thuật ELISA (chế phẩm hãng Boehringer Mannheim) và anti-HBsAg bằng kỹ thuật ngưng kết hồng cầu thụ động -PHA (passive hemagglutination assay) với kit của hãng Korea Green Cross corporation).

Các phản ứng phụ do tiêm vắc xin cũng được theo dõi như đau tại chỗ tiêm, sốt, mệt mỏi...

Kết quả nghiên cứu và bàn luận

Kết quả nghiên cứu được trình bày trong bảng 1 và minh họa trong biểu đồ 1.

Bảng 1. Đáp ứng sinh kháng thể anti-HBsAg ở các đối tượng nghiên cứu và chứng:

TT	Tên họ	HBsAg h. thanh trước n.đ (ng/ml)	Đông độ anti-HBsAg mIU/ml			
			Trước mc	Sau mc lần 1 (tbg)	2,5	4-4,5
1	Trần thị Chính	(-)	50	1250	1250	1250
2	Trương mộng Trang	(-)	50	1250	1250	1250
3	Huyñh phương Liên	(-)	2500	2500	2500	2500
4	Phan thị Phi Phi	(-)	50	1250	1250	1250
5	Lê thị Toán	(-)	(-)	50	312	312
6	Nguyễn thị Minh Tân	(-)	1250	2500	2500	2500
7	Lương xuân Dũng	(-)	(-)	5	(-)	(-)
8	Nguyễn Thụy Hùng	(-)	100	1250	1250	1250

Trên bảng 1 chúng ta có các nhận xét:

-4/6 người đáp ứng bình thường như hai người dùng làm chứng hay thậm chí cao hơn.

-1/6 người hoàn toàn không đáp ứng sau 3 liều miễn cảm

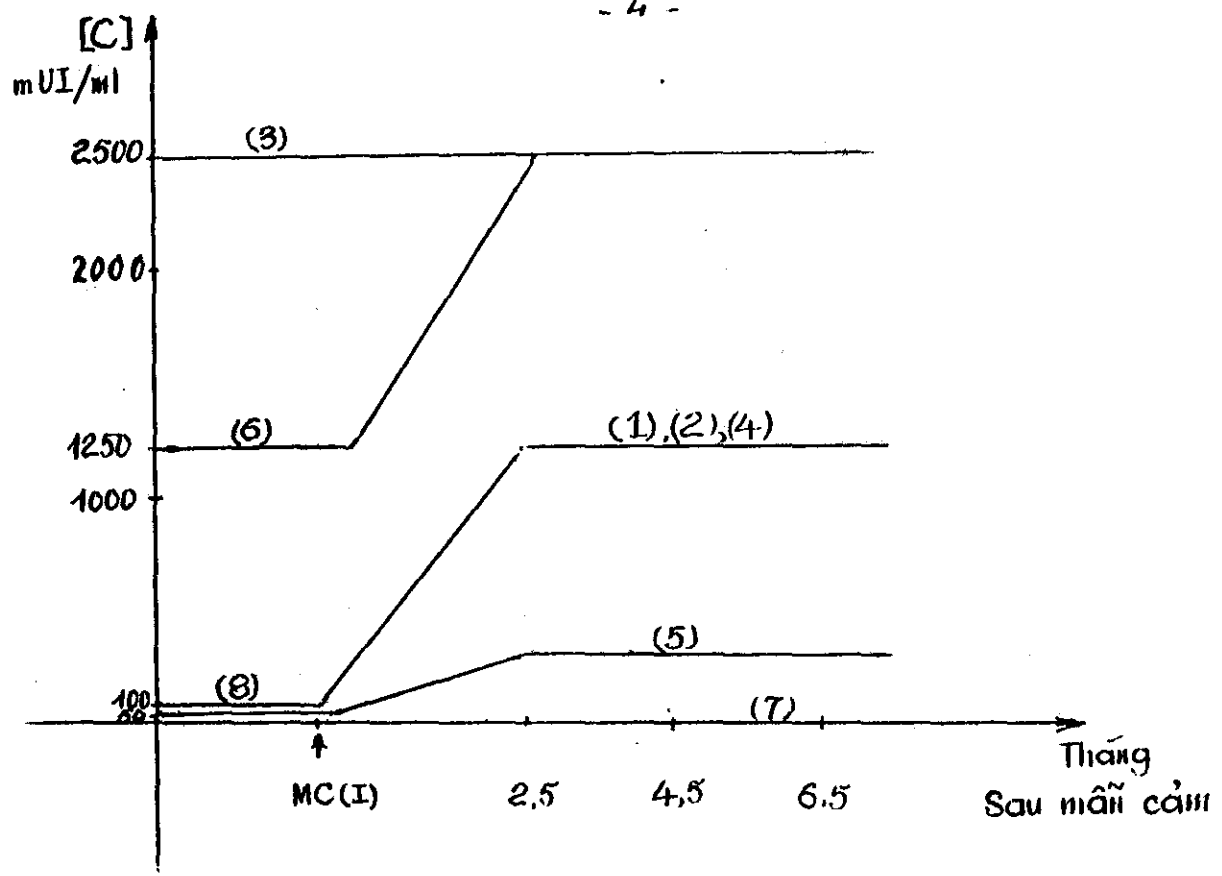
-1/6 người đáp ứng yếu so với chứng và so với các cụ chiến binh khác. (Xem biểu đồ 1).

Không có 1 người nào có phản ứng phụ sau tiêm vắc xin.

Nguyễn Thu Vân và cs(1995) dùng Engerix B với qui trình miễn cảm 0,1 và 6 tháng ở người lớn thì ở tháng thứ 2 đáp ứng là 78 o/o và tháng thứ 4 là 82o/o. Sau mũi nhắc lại ở tháng thứ 6 thì 87-95o/o có đáp ứng.

Các tác giả của Viện Pasteur Paris nghiên cứu ở Dakar thấy khi dùng vắc xin sản xuất từ huyết tương người có chứa HBsAg cao (Hevac B) hay vắc xin tái tổ hợp ADN trên tế bào trứng chuột Gắt vàng Trung quốc (Genhevac B) thấy đều có tỉ lệ đáp ứng là 100o/o với GMT là

3864 và 2845 mIU/ml (Theo Nguyễn Thu Vân, 1995)



Biểu đồ 1: Đáp ứng sinh anti. HBsAg ở các nhóm nghiên cứu và chứng

Một vắc xin tái tổ hợp khác do Mỹ sản xuất cũng trên tế bào trứng chu chuột đất vàng Trung quốc có chứa 3 loại protein bề mặt S, pre-S2 và pre-S1 được nghiên cứu ở người lớn tại Singapore, cũng cho kết quả đáp ứng ở 100o/o số người được tiêm chủng.

Sau 3 mũi tiêm Genhevac B cho trẻ em Pháp thấy 100o/o trẻ có anti-HBs và kháng thể chống pre-S2, hơn 90o/o trẻ em có hiệu giá cao hơn 1000 mLu/ml (Theo Nguyễn Thu Vân và cs 1995).

Như thế có thể xem như tỉ lệ đáp ứng của số người có tiếp xúc dioxin mãn tính của chúng tôi nghiên cứu là thấp hơn so với thông báo của các tác giả khác khi nghiên cứu các quần thể dân cư bình thường khác nhau và so với hai người chứng của chúng tôi, tuy đã dùng qui trình miễn cảm tối đa (3 mũi). GMT anti-HBsAg của các tác giả khác khi xử dụng Genhevac B, ENGERIX B thường cao hơn của chúng tôi (tháng thứ hai là 120mIU/ml, tháng thứ 3: 135mIU/ml, tháng thứ 4: 1141 mIU/ml, tháng thứ 5: 9872mIU/ml và tháng thứ 6: 1960mIU/ml - Theo Nguyễn Thu Vân và cs 1995). Cần chú ý là các kết quả của chúng tôi phù hợp hoàn toàn với thông báo của Harper N., M. Steiberg, K. Connor và S. Safe trong hội nghị quốc tế về dioxin 1994 tại Nhật bản về sự suy giảm chức năng đặc hiệu của tế bào B. Mặc dù các tác giả này tiến hành nghiên cứu chức năng tế bào B đặc hiệu TNP-LPS trên chuột nhất (với số lượng nghiên cứu là 03 chuột) B6C3F1). Các tác giả đã chứng minh rằng khả năng chuột tạo quầng dung huyết (PFC) đặc hiệu và sản xuất kháng thể đặc hiệu anti-TNP-LPS giảm sút còn 50-56o/o trị số của chuột bình thường dùng làm chứng khi cho chuột tiếp xúc với 2,3,7,8-TCDD và giảm còn 45o/o khi chuột tiếp xúc với 3,3',4,4',5-penta CB.

Các tác giả còn chứng minh thêm 1 điều vô cùng thú vị là khi cùng xử lý đồng thời TCDD với 2,2',4,4',5,5'-hexa CB hay penta-CB với hexaCB thì đã làm tăng các đáp ứng dịch thể đặc hiệu nói trên đến mức bình thường hay gần bình thường (73o/o trị số chứng). Họ đã lưu ý cho các nhà nghiên cứu rằng có thể có các tương tác đối kháng xuất hiện khi nhiễm dioxin đồng thời với nhiễm các hóa chất liên quan làm khó khăn cho nhận xét về tác dụng độc trên hệ miễn dịch của TCDD đơn thuần. Lễ tế cũng có tác giả có nhận xét về tác dụng độc của dioxin với tế bào B (Luster M.I. và cs 1991).

Tuy rằng nồng độ tối thiểu của kháng thể anti-HBsAg có tác dụng bảo vệ là //10mIU/ml, nhưng 2/6 người tiếp xúc với dioxin (chỉ chiếm 33,5o/o) là âm tính trước miễn cảm và dù đã miễn cảm 3 liều 20mcg vẫn có một người không đáp ứng và một người đáp ứng rất yếu sau miễn cảm 2,5 tháng, 4,5 tháng và 6,5 tháng. Nguy cơ nhiễm bệnh của các cá thể này chắc chắn là cao hơn so với các cá thể có đáp ứng bình thường. Vì hàm lượng anti-HBsAg trong máu giảm dần

theo thời gian nên việc tiêm nhắc lại đặc biệt cho các cá thể có đáp ứng yếu là cần thiết.

Kết luận

Nghiên cứu trên 6 người có tiền sử tiếp xúc mãn tính với dioxin cách đây 18-20 năm chúng tôi có các nhận xét sau đây:

1. Trước mãn cảm tất cả 6/6 người tiếp xúc dioxin đều có HBsAg âm tính trong máu. 2/6 người đó không có anti-HBsAg. Hai người bình thường dùng làm chứng trước mãn cảm đều có HBsAg âm tính và anti-HBs dương tính.

2. 1/6 người tiếp xúc dioxin không có đáp ứng với vắc xin ENGERIX B.

3. 1/6 người tiếp xúc dioxin có đáp ứng rất yếu với vắc xin ENGERIX B so với 2 người chứng tiện hành mãn cảm đồng thời và so với kết quả của người bình thường đã thông báo trong y văn.

4. 4/6 người có tiếp xúc với dioxin (66,50/o) đáp ứng bình thường với vắc xin ENGERIX B.

6. Hiệu giá tối đa (pic) của anti-HBsAg đạt sau mũi mãn cảm thứ nhất 2 tháng rưỡi tức là 15 ngày sau mũi mãn cảm thứ 3 và hiệu giá này chưa giảm sau mũi thứ 3 từ 4 đến 4 tháng rưỡi.

Tài liệu tham khảo

1. Hoàng đình Cầu và cs. Hàm lượng PCDD, PCDF và các chất clo hữu cơ, PCB trong thực phẩm ở VN. Hội thảo dioxin 1993, Hà nội VN, tr. 13-18.

2. Lê cao Đài và cs. Kết quả phân tích Dioxin và dibenzofuran tồn lưu trong các chất diệt cỏ trong sữa mẹ phụ nữ VN. Tổng kết chương trình NC quốc gia 64A-1990

3. Lê cao Đài và cs. Phân tích tình hình nhiên dioxin trong sữa mẹ ở phụ nữ VN. Hội thảo Dioxin 1993, Hà nội VN, tr. 5-8

4. Lê cao Đài và cs. Phân bố dioxin ở các địa phương MN. Hội thảo Dioxin 1993, Hà nội VN, tr. 1-4.

5. Lê Bích Thủy và cs. Mối liên quan giữa nồng độ dioxin trong mô mỡ và sự nhiễm chất màu da cam ở người dân MNVN. Hội thảo dioxin 1993, Hà nội, VN tr. 23-26.

6. Nguyễn Thu Vân và cs. Công nghệ sản xuất và hiệu quả của bộ sinh phẩm chẩn đoán HBsAg MicroELISA và vắc xin viêm gan B. Công trình nghiệm thu quốc gia đề tài KY.01.05, 1995.

7. Phạm hoàng Phiệt và cs. Định lượng Dioxin trong mô mỡ của 93 bệnh nhân sống ở MNVN. Hội thảo dioxin 1993, Hà nội, tr. 11-12

8. Phan thị Phi Phi và cs. Late effects on cell-mediated immunity in dioxin-exposed veterans, 14th int. symposium on chlorinated dioxin PCB and related compounds. 1994, Nov, 21-25, Kyoto, v. 21, pp. 265-271

9. Vũ triệu An và cs. Góp phần nghiên cứu thay đổi tình trạng MD ở những cựu chiến binh bị nhiễm dioxin tại MNVN. Hội thảo Dioxin 1993,

Hà nội, tr.213-215.

10.Funseth E. và cs.Effects of 2,3,7,8-TCDD on blood and spleen NK cell activity in the mouse.11th int. symposium on dioxin and related compounds 1991,13,223

11.Harper N.,M.Steinberg et al.Antagonism of 2,3,7,8-TCDD and 3,3',4,4',5-pentaCB induced immunotoxicity by 2,2',4,4',5,5'-hexaCB in B6C3F1 mice.Dioxin 1994,14th int.symposium on chlorinated Dioxin-PCB and related compounds.Kyoto,Nov.21-25,1994

12.Koseto M.et al.Làm teo tuyền ước bằng TCDD.Dioxin 1993,Hà nội tr.266-270

13.Lundberg K. et al.TCDD effects on B cell development chick embryos and on specific immune response in mice.11th int.symposium on dioxins and related compounds.1991,s.40

14.Luster M.I. et al.Inhibition of B lymphocyte and thymocyte maturation in mice by TCDD.11th int.symposium on dioxins and related compounds 1991,s.41

15.Schechter A. et al.Dioxin and dibenzofuran levels in blood and adipose tissue of Vietnamese from various locations in Vietnam in proximity to agent orange spraying.Chemosphere vol.5,Nov.7-10,pp. 1123-1128,1992

16.Smoggers G.H.Tiếp xúc với 2,3,7,8-TCDD trong buồng tử cung và sau khi sinh tại bờ biển Times, Missouri.1.Các hiệu ứng miễn dịch :tần xuất ngoại hình của tế bào limphô.Dioxin 1993,Hà nội,phụ bản.