

Nghiên cứu biến đổi một số chỉ tiêu sinh học về di truyền, miễn dịch, sinh hoá, huyết học ở bệnh nhân có nguy cơ phơi nhiễm với dioxin

Nguyễn Văn Tường, Phan Thị Phi Phi, Nguyễn Văn Nguyên, Trịnh Văn Bảo, Văn Đình Hoa, Nguyễn Thị Hà, Đỗ Trung Phán, Nông Văn Hải, Bạch Khánh Hoà và Cộng sự.

1. Đặt vấn đề

Trong cuộc chiến tranh ở Việt Nam, Mỹ đã rải xuống miền Nam Việt Nam hơn 70 triệu lít chất da cam/Dioxin tương đương khoảng 600kg chất 2,3,7,8 -TCDD, gây hậu quả rất nghiêm trọng cho con người và môi trường. Các nhà khoa học Việt Nam đã quan tâm nghiên cứu về tác hại của Dioxin từ rất sớm. Nhiều công trình khoa học liên quan đến tác động của Dioxin với sức khoẻ con người và môi trường của các nhà khoa học Việt Nam cũng như các nhà khoa học trên thế giới đã được nghiên cứu và công bố. Trong những năm gần đây hàng năm đều có các hội nghị, hội thảo về Dioxin được tổ chức nhằm công bố các kết quả nghiên cứu đã được hoàn thành.

Ủy ban 10-80 cũng đã chủ trì nhiều hội thảo quốc tế tại Việt Nam về Dioxin vào các năm 1983, 1993. Năm 2002, được phép của chính phủ Việt Nam hội nghị quốc tế về chất độc Da cam/Dioxin đã được tổ chức tại Hà Nội với đồng tổ chức là Việt Nam và Mỹ.

Ủy ban nghiên cứu ảnh hưởng trên sức khoẻ của cựu chiến binh Mỹ tham chiến ở Việt Nam có tiếp xúc với chất diệt cỏ của Viện y học thuộc Viện Hàn Lâm khoa học Mỹ đã xem xét tất cả các nghiên cứu (khoảng 700 công trình) từ đầu những năm 1980 đến những công trình nghiên cứu vào các năm cuối 1999. Trên cơ sở các khảo sát này Viện Hàn lâm y học Mỹ đã công nhận một số bệnh có chứng cứ chắc chắn có liên quan với Dioxin, một số bệnh có liên quan hạn chế và một số khác thì chưa đủ chứng cứ liên quan.

Dioxin là một chất siêu độc, cơ chế tác động lên cơ thể sống rất phức tạp và hậu quả gây ra đối với sức khoẻ con người là rất nghiêm trọng, rất đa dạng, phụ thuộc vào sự đáp ứng của từng cá thể. Nghiên cứu về Dioxin vừa là vấn đề khó do tính chất tác động phức tạp của nó và còn nhiều vấn đề chưa được làm sáng tỏ.

Chúng tôi tiến hành nghiên cứu đề tài: “Nghiên cứu các biến đổi về di truyền, miễn dịch, sinh hoá, huyết học trên các đối tượng có nguy cơ phơi nhiễm Dioxin” nhằm mục tiêu: ***“Phân tích một số biến đổi cơ bản về di truyền miễn dịch, sinh hoá, huyết học ở những nhóm đối tượng có nguy cơ phơi nhiễm Dioxin.”***

2. Đối tượng và phương pháp nghiên cứu

2.1. Đối tượng nghiên cứu

Nghiên cứu đã được tiến hành tại các địa bàn của thành phố Biên Hoà tỉnh Đồng Nai, quận Thanh Khê của thành phố Đà Nẵng, huyện Nam Đông thuộc tỉnh Thừa Thiên Huế, quận Cầu Giấy thành phố Hà Nội, quận Ngô Quyền và huyện An Hải nay là quận Hải An thành phố Hải Phòng. Nghiên cứu về gen còn được tiến hành ở một số phả hệ của tỉnh Thái Bình và tỉnh Hà Tây.

Đối tượng nghiên cứu được chia ra làm hai nhóm chính là :

- + Nhóm có nguy cơ phơi nhiễm với chất Da cam/Dioxin
- + Nhóm chứng

Nhóm có nguy cơ phơi nhiễm với chất Da cam/Dioxin còn được gọi là nhóm phơi nhiễm hoặc nhóm nguy cơ phơi nhiễm Dioxin và được viết tắt là NCPN. Có 2 nhóm nguy cơ phơi nhiễm: mức độ 1 (NCPN 1) và mức độ 2 (NCPN 2).

Nhóm chứng là nhóm đối tượng sống ở miền Bắc và hoàn toàn không có tiếp xúc với chất Da cam/Dioxin trong và sau chiến tranh. Nhóm chứng được viết tắt là CG (Control Group).

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Phương pháp xác định từng chỉ tiêu cụ thể được thực hiện tại labo trung tâm của Trường Đại học Y Hà Nội, Viện huyết học Hà Nội, Bệnh viện Chợ Rẫy Thành phố Hồ Chí Minh, Viện Công nghệ sinh học thuộc viện khoa học và công nghệ Quốc gia theo các phương pháp đã được qui chuẩn đảm bảo độ chính xác và độ tin cậy.

Các chỉ tiêu nghiên cứu được phân theo các nhóm chỉ tiêu sau đây:

Nhóm các chỉ tiêu về di truyền và gen

Nhóm các chỉ tiêu về sinh hoá

Nhóm các chỉ tiêu về miễn dịch

Nhóm các chỉ tiêu về huyết học

Phân tích hàm lượng Dioxin trong các mẫu sinh học của người như trong mẫu máu, mẫu sữa và trong các mẫu của môi trường như bùn, đất, cá

Dioxin và các chất đồng phân được phân tích và xác định tại hai nơi:

Tại Việt Nam: được phân tích tại Trung tâm dịch vụ phân tích và thí nghiệm số 2 Nguyễn Văn Thủ, Quận 1 Thành phố Hồ Chí Minh.

Tại Nhật Bản: được phân tích tại phòng thí nghiệm của viện khoa học sức khoẻ và môi trường Fukuoka-Fukuoka *Institute of Health and Environmental Sciences* 39 Mukazaro, Dazaifu, Fukuoka 818-0135, Japan.

Để xác định mang tính sàng lọc sơ bộ mức độ nguy cơ phơi nhiễm chúng tôi đã phối hợp với điều tra dịch tễ học ở Biên Hoà, Nam Đông, Đà Nẵng và Hải Phòng đồng thời sử dụng bảng kiểm để sơ bộ đánh giá mức độ của nguy cơ phơi nhiễm

Số liệu được xử lý theo phương pháp thống kê y sinh học, sử dụng chương trình phần mềm Epi Info 2002 và chương trình SPSS.

3. Một số kết quả chủ yếu

Trên cơ sở sàng lọc bằng điều tra dịch tễ học kết hợp với sử dụng bảng kiểm nghiên cứu đã tiến hành lấy mẫu để làm các nhóm xét nghiệm và phân tích Dioxin với tổng số là 1.584 đối tượng, trong đó có 31 trẻ em ở Đà Nẵng và 27 trẻ em ở Hải Phòng có độ tuổi từ 8-15 tuổi, số còn lại là người lớn từ 16 tuổi trở lên. Số lượng các mẫu xét nghiệm đã được phân tích là 3262 mẫu xét nghiệm, bao gồm các xét nghiệm về di truyền, miễn dịch, sinh hoá, huyết học, các xét nghiệm về gen, các mẫu xét nghiệm

phân tích Dioxin ở mẫu máu trộn, mẫu máu cá thể, mẫu sữa và một số mẫu về môi trường như mẫu bùn, đất và cá.

3.1. Các biến đổi về di truyền và biến đổi gen

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi trên quần thể nghiên cứu đã chỉ ra rằng không thấy có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tần suất xuất hiện các rối loạn về số lượng và cấu trúc NST và trao đổi nhiễm sắc tử chị em giữa các nhóm NCPN 1 và NCPN 2 cũng như so với nhóm chứng. Tuy nhiên nghiên cứu sâu ở một số cá thể có nguy cơ phơi nhiễm chúng tôi thấy tần số đột biến NST ở mức cao hơn bình thường, các dạng đột biến gặp ở những người này là đa bội và đứt NSTừ.

Phân tích gen của 5 phá hệ có nguy cơ phơi nhiễm cao đã phát hiện thấy sự thay đổi ở các gen P53, gen Cyp 1A1 và gen AhR, đặc biệt có những thay đổi Aminoacid có liên quan đến một số bệnh ung thư. Đã phát hiện 21 đột biến ở gen P53, 9 đột biến ở gen Cyp 1A1, 27 đột biến ở gen AhR. Trong số các đột biến này có 9 đột biến của gen P53, 8 đột biến của gen Cyp 1A1 và 25 đột biến của gen AhR là những đột biến gen mới được phát hiện. Những đột biến này xảy ra ở nhóm phơi nhiễm với chất Da cam/Dioxin chúng tôi có sự liên quan đến phơi nhiễm Dioxin và liên quan đến một số bệnh ung thư do Dioxin gây ra và đã được công nhận bởi các nhà khoa học thế giới.

3.2. Các biến đổi về miễn dịch

Kết quả nghiên cứu về biến đổi miễn dịch cho thấy có biểu hiện giảm về số lượng các tế bào CD3, CD4, CD8, CD19 ở nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao so với nhóm có nguy cơ phơi nhiễm thấp (NCPN 2 với NCPN 1) và so với nhóm chứng nhưng sự giảm này chưa có ý nghĩa thống kê.

Khả năng đáp ứng tạo kháng thể mức độ tốt ở nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao (NCPN 2) cho kết quả thấp hơn so với nhóm chứng và nhóm nguy cơ phơi nhiễm thấp (NCPN 1) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$.

3.3. Một số biến đổi về sinh hoá

Hoạt độ các enzyme chống oxy hoá ở nhóm nguy cơ phơi nhiễm cao (NCPN 2) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chứng với $p < 0,05$. Cụ thể:

- SOD tăng
- Hoạt độ GR giảm
- Trạng thái chống oxy hoá toàn phần (TAS) trong huyết thanh của nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao (NCPN 2) giảm rõ rệt so với nhóm nguy cơ phơi nhiễm thấp (NCPN 1) và nhóm chứng với $p < 0,05$ ở nhóm có nguy cơ phơi nhiễm (NCPN) (bao gồm cả NCPN 1 và NCPN 2) trong huyết thanh FT₄ thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng với $p < 0,05$. Số lượng cá thể có FT₄, T₃, TSH trong huyết thanh giảm chiếm tỷ lệ cao hơn so với nhóm chứng. Một số hormone sinh dục như LH, FSH chưa thấy sự biến đổi đáng kể giữa các nhóm.

3.4. Một số biến đổi về huyết học

Chúng tôi không thấy có sự biến đổi có ý nghĩa thống kê về số lượng các tế bào máu ngoại vi như hồng cầu, bạch cầu, tiểu cầu, nhưng về cấu trúc chúng tôi thấy tỷ lệ rối loạn hình thái bạch cầu trong nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao (NCPN 2) ở Biên Hoà và Nam Đông cao hơn gấp nhiều lần so với Hải Phòng (59% tại Biên Hoà, 24,7% tại Nam Đông và chỉ có 2,4% ở Hải Phòng).

Ở các bệnh nhân bị bệnh máu, ở nhóm bệnh nhân có nguy cơ phơi nhiễm cao tỷ lệ tổn thương NST và SCE cao hơn rõ rệt so với nhóm bệnh nhân không có tiền sử phơi nhiễm.

3.5. Phân tích sự tồn lưu Dioxin ở nhóm đối tượng bị phơi nhiễm có nguy cơ cao

Phân tích sự tồn lưu Dioxin ở nhóm đối tượng bị phơi nhiễm có nguy cơ cao đã cho thấy, cho đến nay sau 30 năm kết thúc chiến tranh, ở nhóm đối tượng bị phơi nhiễm trong chiến tranh và nhóm có nguy cơ phơi nhiễm cao, hàm lượng Dioxin trong các mẫu máu trộn và mẫu cá thể vẫn còn tồn lưu một lượng chất 2,3,7,8-TCDD đáng kể và có một số nhóm đối tượng sống cạnh vùng nóng của sân bay Biên Hoà và Đà Nẵng đã và đang có hiện tượng phơi nhiễm mới. Đặc biệt trong mẫu máu cá thể của trẻ em ở Đà Nẵng có 01 cháu có hàm lượng Dioxin trong máu lên tới 352,99 pg/g lipid.

3.6. Nghiên cứu sự liên quan giữa yếu tố phơi nhiễm Dioxin với các biến đổi về di truyền, miễn dịch, sinh hoá, huyết học ở nhóm đối tượng phơi nhiễm nguy cơ cao

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy:

- Không có sự biến đổi tương đồng giữa hàm lượng Dioxin trong mẫu máu trộn và mẫu máu cá thể với sự biến đổi các chỉ tiêu di truyền, miễn dịch, sinh hoá, huyết học của các nhóm đối tượng này
- Có sự liên quan giữa phơi nhiễm Dioxin với sự biến đổi của một số chỉ tiêu sinh học như đã phát hiện nhiều đột biến của gen P53, gen Cyp 1A1, gen AhR có liên quan đến phơi nhiễm Dioxin, biến đổi một số chỉ tiêu về di truyền như tỷ lệ rối loạn NST và nhiễm sắc tử SCE ở những bệnh nhân bị bệnh máu có tiền sử phơi nhiễm Dioxin, giảm khả năng đáp ứng tạo kháng thể, làm giảm khả năng chống oxy hóa đối với một số enzyme, tăng tỷ lệ rối loạn hình thái bạch cầu. Nhóm có nguy cơ phơi nhiễm Dioxin (bao gồm cả NCPN 1 và NCPN 2) có FT₄ thấp hơn có ý nghĩa thống kê so với nhóm chúng.

4. Kết luận

Kết quả nghiên cứu của chúng tôi có thể rút ra một số nhận xét sau đây:

- Chúng tôi không tìm thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về tỷ lệ tần suất xuất hiện các rối loạn số lượng và cấu trúc NST và trao đổi nhiễm sắc tử chị em giữa các nhóm NCPN 1 và NCPN 2 cũng như so với nhóm chúng, sự giảm số lượng các tế bào CD₃, CD₄, CD₈, CD₁₉, sự biến đổi của các Hormon sinh dục LH và FSH, sự biến đổi về số lượng của các loại tế bào máu ngoại vi.
- Phân tích gen của 5 phá hệ có tiền sử phơi nhiễm nguy cơ cao và có Dioxin trong mẫu máu cá thể của đối tượng bị phơi nhiễm trong chiến tranh đã phát hiện thấy có sự thay đổi ở các gen P53, gen Cyp 1A1 và gen AhR, đặc biệt có những thay đổi amino acid có liên quan đến một số bệnh ung thư.
- Khả năng đáp ứng tạo kháng thể mức độ tốt ở nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao (NCPN 2) cho kết quả thấp hơn so với nhóm chúng và nhóm nguy cơ phơi nhiễm thấp (NCPN 1) có ý nghĩa thống kê với P<0,05
- Hoạt độ các enzyme chống oxy hoá ở nhóm nguy cơ phơi nhiễm cao (NCPN 2) có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với nhóm chúng với p < 0,05. Cụ thể:
 - SOD tăng
 - Hoạt độ GR giảm

- Trạng thái chống oxy hoá toàn phần (TAS) trong huyết thanh) của nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao (NCPN 2) giảm rõ rệt so với nhóm nguy cơ phơi nhiễm thấp (NCPN 1) và nhóm chứng với $p < 0,05$
- ở nhóm có nguy cơ phơi nhiễm (NCPN) (bao gồm cả NCPN 1 và NCPN 2) trong huyết thanh FT₄ thấp hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng với $p < 0,05$.
- Chúng tôi thấy tỷ lệ rối loạn hình thái bạch cầu trong nhóm phơi nhiễm nguy cơ cao (NCPN 2) ở Biên Hoà và Nam Đông cao hơn gấp nhiều lần so với Hải Phòng (59% tại Biên Hoà, 24,7% tại Nam Đông và chỉ có 2,4% ở Hải Phòng).
- Khi nghiên cứu sự liên quan giữa yếu tố phơi nhiễm Dioxin với các biến đổi về di truyền miễn dịch, sinh hoá, huyết học ở nhóm đối tượng phơi nhiễm nguy cơ cao, chúng tôi không thấy có sự biến đổi tương đồng giữa hàm lượng Dioxin trong mẫu máu trộn và mẫu máu cá thể với sự biến đổi các chỉ tiêu di truyền, miễn dịch, sinh hoá, huyết học của các nhóm đối tượng này.