

# NGHIÊN CỨU SIÊU CẤU TRÚC GAN CỦA BỆNH NHÂN PHƠI NHIỄM DIOXIN SỬ DỤNG KÍNH HIỂN VI ĐIỆN TỬ TRUYỀN QUA

Lê Tài Thế<sup>1</sup>, Đặng Thành Chung<sup>2</sup>,  
Tưởng Phi Vương<sup>1</sup>, Trần Ngọc Dũng<sup>2</sup>

## TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Sử dụng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) để xem xét siêu cấu trúc gan của các bệnh nhân phơi nhiễm dioxin mạn tính. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu sử dụng mẫu sinh thiết gan của 33 bệnh nhân bị phơi nhiễm dioxin ở Việt Nam, loại trừ các bệnh nhân có ung thư gan hoặc nhiễm virus viêm gan. Phương pháp nghiên cứu sử dụng phương pháp mô tả và cắt ngang, với việc sử dụng TEM để thực hiện phân tích siêu cấu trúc gan của bệnh nhân. **Kết quả:** Kết quả cho thấy siêu cấu trúc gan của 33 mẫu sinh thiết gan của bệnh nhân phơi nhiễm với dioxin có các tổn thương đồng nhất của các tế bào nhu mô gan, đặc biệt là trong các mitochondria. Các tổn thương bao gồm sự biến dạng của màng mitochondria, xuất hiện đường tinh thể dạng myelin trong mitochondria, sự giãn rộng của lưới nội bào không hạt và lưới nội bào hạt bao quanh mitochondria, cùng với sự xuất hiện của các mào mitochondria dọc theo trục dọc của chúng. Các kết quả cho thấy tác động lâu dài của dioxin và các sản phẩm chuyển hóa của nó đối với khả năng giải độc của tế bào gan. **Kết luận:** Kết quả cho thấy rằng, các tổn thương trong các mitochondria là rõ rệt nhất quan sát thấy trong tế bào gan, và tác động lâu dài của dioxin có ảnh hưởng đến khả năng giải độc của tế bào gan. **Từ khóa:** Kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM); Siêu cấu trúc gan; Dioxin.

## SUMMARY

### STUDY OF THE LIVER ULTRASTRUCTURE IN PATIENTS EXPOSED TO DIOXIN USING TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPY

**Objective:** To use transmission electron microscopy (TEM) to examine the liver ultrastructure of patients with chronic dioxin exposure. **Subjects and methods:** The study used liver biopsy samples from 33 patients exposed to dioxin in Vietnam, excluding patients with liver cancer or hepatitis virus infection. The study employed a descriptive and cross-sectional method, using TEM to analyze the liver ultrastructure of the patients. **Results:** The results showed that the liver ultrastructure of the 33 biopsy samples from patients exposed to dioxin had consistent damage to the liver tissue cells, especially in the mitochondria. The damage included

mitochondrial membrane deformation, the appearance of myelin-like crystalline structures within the mitochondria, dilation of the non-granular and granular endoplasmic reticulum surrounding the mitochondria, and the appearance of mitochondrial buds along their longitudinal axis. The results indicate the long-term effects of dioxin and its metabolites on the detoxification ability of liver cells. **Conclusion:** The results demonstrate that mitochondrial damage is the most prominent observation in liver cells, and long-term exposure to dioxin affects the detoxification ability of liver cells.

**Keywords:** Transmission electron microscopy (TEM); Liver ultrastructure; Dioxin.

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chất hoá học 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) là một chất cực độc được tạo ra như một sản phẩm phụ không mong muốn trong quá trình tổng hợp công nghiệp 2,4,5-trichlorophenol, một chất trung gian trong sản xuất thuốc diệt cỏ Axit 2,4,5-trichlorophenoxyacetic (2,4,5-T) [1]. Do tính ổn định hóa học và bản chất ưa béo của nó, nên có khả năng TCDD thải ra môi trường có thể tích tụ trong chuỗi thức ăn lâu dài [1, 2]. Nó có thể được truyền qua ăn, uống và chạm vào các chất bị ô nhiễm, sau đó được hấp thụ và chuyển hóa bởi các mô sinh học, dẫn đến rối loạn chức năng chuyển hóa, nội tiết và hệ miễn dịch của hệ thống (Mori và Todaka, 2017) [3].

Hiện nay, nhiều vùng, miền của Việt Nam vẫn còn tiếp tục bị ô nhiễm bởi chất độc màu da cam do tính chất tồn lưu lâu dài của dioxin trong tự nhiên. Các kết quả nghiên cứu ở Việt Nam và thế giới cho thấy, chất độc da cam/dioxin có khả năng gây tổn thương đa dạng và phức tạp trên tất cả các bộ máy sinh lý của cơ thể, như tổn thương da, ung thư da, tổn thương gan, hệ thống miễn dịch, hô hấp, tuần hoàn, tiêu hóa, nội tiết, thần kinh; gây đột biến gen và nhiễm sắc thể, từ đó gây nên các dị tật bẩm sinh, các tai biến sinh sản, từ đó dẫn đến các hậu quả của các thế hệ về sau của những người bị nhiễm [4-6]. Đã có các báo cáo về tổn thương gan trên các thương binh Việt Nam phơi nhiễm với chất diệt cỏ phenoxy (chủ yếu là 2,4-D và 2,4,5-T) và phơi nhiễm chất độc da cam (AO) khi phục vụ tại Việt Nam từ 1962 đến 1971 [7].

Tiếp xúc với các TCDD đã được báo cáo là

<sup>1</sup>Viện 69, Bộ Tư lệnh Bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh

<sup>2</sup>Bệnh viện Quân y 103

Chịu trách nhiệm chính: Trần Ngọc Dũng

Email: tranngocdung\_gpb@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 11.5.2023

Ngày phản biện khoa học: 21.6.2023

Ngày duyệt bài: 12.7.2023

làm tăng nguy cơ xơ hóa gan. Các bằng chứng đáng chú ý đã chỉ ra rằng TCDD có thể gây độc cho gan và tổn thương DNA bằng cách kích hoạt enzym chuyển hóa chính là cytochrom P450/AHR (thụ thể aryl hydrocarbon) trong gan. Tuy nhiên, cơ chế điều chỉnh chính của nhiễm độc gan và xơ gan do TCDD gây ra vẫn chưa được biết rõ [3], và nó được cho là do thúc đẩy quá trình chết theo chương trình của tế bào gan thông qua việc điều chỉnh tăng biểu hiện Cideb[3].

Có thể nói gan là một trong những cơ quan chính chịu tác động của 2,3,7,8- TCDD. Vì thế, xuất phát từ lý do nêu trên, nghiên cứu của chúng tôi nhằm mục tiêu xác định các đặc điểm tổn thương siêu cấu trúc của tế bào gan được sinh thiết từ các bệnh nhân được chẩn đoán có phơi nhiễm với dioxin..

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu:** Chúng tôi lựa chọn 33 bệnh nhân bị phơi nhiễm dioxin sống tại các khu vực ô nhiễm trong chiến tranh Việt Nam ở khu vực Sân bay Đà Nẵng và Sân bay Biên Hòa, trong thời gian từ năm 2009 đến nay. Những bệnh nhân bị ung thư gan, nhiễm virus viêm gan hoặc không hợp tác sẽ bị loại trừ. Tất cả bệnh nhân đều được thân nhân và người nhà đồng ý tham gia vào nghiên cứu.

**2.2. Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu được thực hiện bằng phương pháp mô tả và cắt ngang.

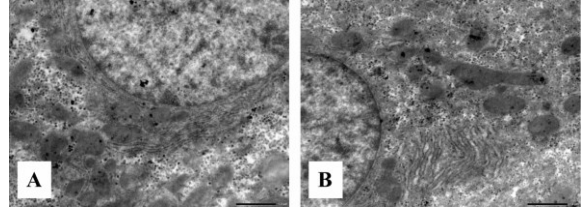
Nghiên cứu siêu cấu trúc bằng kính hiển vi điện tử truyền qua (TEM) JEM 1400, JEOL, Nhật Bản tại Khoa Hình thái, Viện 69, Bộ tư lệnh bảo vệ Lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh. Phương pháp làm tiêu bản siêu cấu trúc bao gồm: cố định mẫu bằng glutaraldehyde 2% với đệm cacodylate pH 7,3 (1/10), rửa bằng đệm cacodylate pH 7,3 và dung dịch acid osmic 1% đệm cacodylate pH 7,3, khử nước bằng chuyển liên tục qua các dung dịch cồn, chuyển mẫu qua dung dịch cồn propylene + ethylene và propylene, chuyển mẫu qua hỗn hợp propylene + epon 812 và hỗn hợp propylene + epon 812, đúc block và lưu hóa, polyme hóa, gọt mẫu, cắt bán mỏng, nhuộm bằng xanh toluidine, định hướng vị trí nghiên cứu và cắt bằng máy siêu cắt LBK (Đức) độ dày lát cắt 50nm. Cuối cùng, mẫu được vớt lát cắt lên lưới đồng 200 lỗ, nhuộm uranyl acetate 2% và chì citrate 5% trước khi được soi kết quả trên kính hiển vi điện tử truyền qua JEM 1400, JEOL, Nhật Bản.

## III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Dưới kính hiển vi điện tử truyền qua, siêu

cấu trúc của các tế bào gan cho thấy những tổn thương đồng nhất của các bào quan tế bào nhu mô gan với biểu hiện chung của chúng bao gồm những điểm sau:

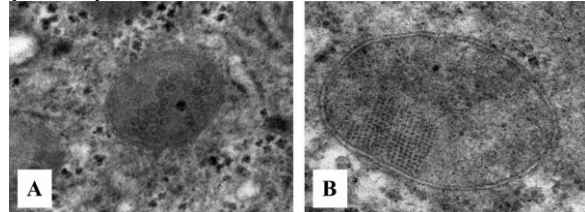
Các tế bào gan chứa nhiều hạt glycogen hình hoa đào, phân bố đều trên bào tương. Tất cả các mẫu (33/33) đều thấy các mitochondria với cấu trúc màng kép rõ và có các thay đổi về màng, đồng thời xuất hiện các mitochondria thể kính (Hình 1).



**Hình 1. Hình ảnh siêu cấu trúc tế bào gan**

(A) Các hạt glycogen phân bố khắp bào tương, lưới nội bào hạt tập trung quanh nhân hoặc xen kẽ với các đám mitochondria; (B) Các mitochondria kích thước không đều, cấu trúc đa hình với nhiều hình dạng khác nhau; TEM x 1.0µm.

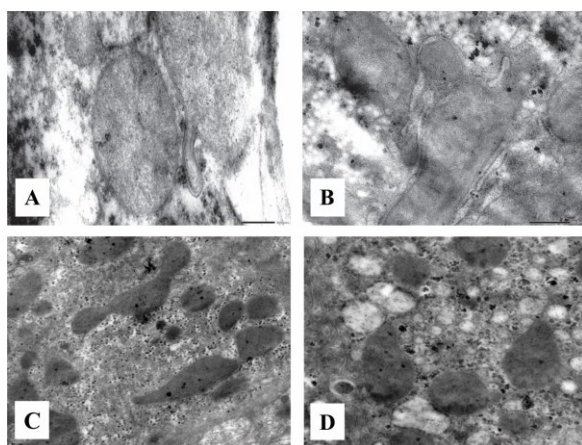
Các tế bào gan bên trong có 1-3 hạt hình cầu đậm độ điện tử cao, trong đó 30/33 trường hợp có các đường tinh thể và 33/33 trường hợp có nhiều hình dạng khác nhau (elip, dài, có nhánh, quả tạ...). Tất cả các mẫu đều có 1 đến 3 mào nằm dọc theo trục dọc của mitochondria, kích thước không đồng đều, phân bố quanh nhân hoặc dọc theo màng và tạo thành đám. (Hình 2).



**Hình 2. Hình ảnh siêu cấu trúc tế bào gan**

(A) Hình ảnh mitochondria tập trung từng đám, có cấu trúc tăng đậm độ điện tử; (B) Hình ảnh mitochondria giảm số lượng mào, chứa đường tinh thể trong bào quan; TEM x 200 nm.

Lưới nội bào không hạt 33/33 trường hợp giãn rộng, lưới nội bào hạt bao quanh, đôi khi nằm sát mitochondria dẫn nhẹ, thấy các giọt mỡ to nhỏ không đều và vài tế bào có các giọt mỡ lớn hơn. Nhân có cấu trúc màng kép rõ, phân bố không đều, tập trung thành đám sát màng trong, có 1 hoặc 2 hạt nhân. Các vi quản mật có cấu trúc bình thường và thấy rõ các vi nhung mao. Các lipolysosome đường kính 1-2 µm xuất hiện ở hầu như tất cả các thể bào (Hình 3).



**Hình 3. Hình ảnh siêu cấu trúc tế bào gan**

(A) Các mitochondria dị dạng, có nhánh, TEM x 200 nm; (B) Các mitochondria kéo dài, biến dạng, có đường tinh thể không điển hình nằm song song, TEM x 500nm; (C) Các mitochondria có hình dạng khác nhau với 1-2 hạt tăng đậm độ điện tử tập trung ở phía ngoại vi, gần màng tế bào, TEM x 1μm; (D) Hình ảnh lưới nội bào không hạt giãn rộng, TEM x 500nm.

#### IV. BÀN LUẬN

Các kết quả nghiên cứu siêu cấu trúc của 33 mẫu sinh thiết gan từ các bệnh nhân được xác nhận phơi nhiễm mạn tính với dioxin cho thấy những tổn thương đồng nhất của các bào quan tế bào nhu mô gan.

Tổn thương rõ rệt nhất quan sát thấy trong tế bào gan là sự biến đổi của các mitochondria, có thể làm mất hoàn toàn chức năng hô hấp tế bào và sinh năng lượng. Ở tất cả các bệnh nhân, các mitochondria đều bị biến dạng về màng, có thể tạo nếp hoặc đứt gãy, đây là một trong các tổn thương nhiễm độc do phơi nhiễm với dioxin. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy rằng 33/33 bệnh nhân đều có các thay đổi về màng mitochondria và các rối loạn quá trình chuyển hóa trong mitochondria. Các thể kính của mitochondria cũng được quan sát thấy ở tất cả các bệnh nhân và là kết quả của quá trình rối loạn chuyển hóa hoàn toàn trong các mitochondria, khiến chúng mất hoàn toàn chức năng hô hấp tế bào và sinh năng lượng. Cấu trúc siêu vi của các mitochondria chỉ có thể được quan sát thấy bằng TEM. 91% (30/33) trường hợp quan sát cho thấy đường tinh thể dạng myelin xuất hiện trong mitochondria. Đây là một đặc điểm đã được các tác giả trước đây nhận ra khi nghiên cứu tổn thương tế bào gan người phơi nhiễm mạn tính với dioxin. Sự xuất hiện của đường tinh thể này chứng tỏ tác động lâu dài

của dioxin và các sản phẩm chuyển hóa của nó đối với khả năng giải độc của tế bào gan. Trong 100% (33/33) trường hợp quan sát, chúng tôi cũng quan sát thấy sự thay đổi về hình thái siêu cấu trúc của tế bào gan, đặc biệt là các mitochondria. Các thay đổi bao gồm sự giãn rộng của lưới nội bào không hạt và lưới nội bào hạt bao quanh mitochondria, cùng với sự xuất hiện của các mào mitochondria dọc theo trục dọc của chúng. Các thay đổi này được coi là triệu chứng rõ ràng của sự nhiễm độc và liên quan đến quá trình khử độc các chất sinh học ngoại lai.

Nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Masahiro Nishizumi (2013) trên đối tượng chuột và khi nhiễm độc với Chlorobiphenyl. Nghiên cứu của Masahiro Nishizumi chỉ ra rằng các thay đổi vi cấu trúc trong tế bào gan bao gồm sự gia tăng rõ rệt của lưới nội bào không hạt, giảm lưới nội bào có hạt, hình thành cấu trúc "dạng myelin" trong tế bào chất và gia tăng của các tiểu thể microbodies và thể lysosome cùng với gia tăng rõ rệt của các giọt lipid. Trong nghiên cứu tổn thương ở gan khỉ, chúng tôi quan sát thấy sự gia tăng mạng lưới nội chất trong tế bào gan và sự sưng phồng của các tế bào Kupffer, với sự gia tăng số lượng lysosome và các không bào. Có sự gia tăng nhẹ của các giọt lipid trong tế bào chất và các mitochondria có kích thước khác nhau với dạng hình cầu đến hình elip [8]. Các kết quả này cũng tương đồng với nghiên cứu của Renate D.K và cộng sự (2013)[9] và phù hợp với nghiên cứu của Fenton Schaffner, M.D (1970) [10] và Barry J.C (1999). Harris và Bradshaw đã báo cáo sự sưng phồng của lưới nội bào hạt và các mitochondria ngưng tụ với mào phân bố không điển hình trong tế bào gan; mitochondria cho thấy những thay đổi rõ rệt bao gồm các hình dạng đa hình, khổng lồ và dày đặc các hạt nổi bật.

Như vậy, nghiên cứu siêu cấu trúc phát hiện những thay đổi rõ ràng và ổn định của các bào quan tế bào nhu mô gan. Các thay đổi rõ ràng nhất về siêu cấu trúc quan sát thấy trên các tế bào gan của các bệnh nhân phơi nhiễm mạn tính với dioxin là sự gia tăng nhanh, thay đổi cấu trúc và sự phân bố không đều của hầu hết hệ thống bào quan của tế bào, cũng như sự giảm sút mạnh số lượng glycogen, kết quả cuối cùng là làm mất hoàn toàn tính đồng nhất của tế bào.

#### V. KẾT LUẬN

Nghiên cứu siêu cấu trúc gan của 33 mẫu sinh thiết gan từ các bệnh nhân phơi nhiễm mạn tính với dioxin cho thấy các tổn thương đồng

nhất của các bào quan tế bào nhu mô gan. Kết quả cho thấy tổn thương rõ rệt nhất quan sát thấy trong tế bào gan là sự biến đổi của các mitochondria, có thể làm mất hoàn toàn chức năng hô hấp tế bào và sinh năng lượng. Trong tất cả các bệnh nhân, các mitochondria đều bị biến dạng về màng, có thể tạo nếp hoặc đứt gãy, đây là một trong các tổn thương nhiễm độc do phơi nhiễm với dioxin. Sự xuất hiện của đường tinh thể dạng myelin trong mitochondria chứng tỏ tác động lâu dài của dioxin và các sản phẩm chuyển hóa của nó đối với khả năng giải độc của tế bào gan. Các thay đổi bao gồm sự giãn rộng của lưới nội bào không hạt và lưới nội bào hạt bao quanh mitochondria, cùng với sự xuất hiện của các mào mitochondria dọc theo trục dọc của chúng.

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Robert, B.**, An Analytical Method for Detecting TCDD-Dioxin. Environmental Health Perspective, 1973.
2. **Tùng, Đ.V.**, Nghiên cứu sự thay đổi nồng độ hormon steroid trong nước bọt, sữa và huyết thanh trên những người sống tại vùng phơi nhiễm chất Da cam/dioxin ở Việt Nam., in sdh.hmu.edu.vn. Đại học Y Hà Nội: Hà Nội.
3. **Li, C., et al.**, TCDD promotes liver fibrosis through disordering systemic and hepatic iron homeostasis. J Hazard Mater, 2020. 395: p. 122588.
4. **institute, T.a.**, Tác hại của Chất độc Da cam và Dioxin tới sức khỏe con người. US-Vietnam Dialogue group on Agent Orange/Dioxin, 2016.
5. **WHO,**, Dioxins and their effects on human health. World Health Organization, 2016.
6. **Thanh, K.**, Đánh giá tác hại của chất độc da cam/dioxin do Mỹ sử dụng trong chiến tranh ở Việt Nam. Báo điện tử Đảng cộng sản Việt Nam, 2016.
7. **H, T.C.**, Chronic Liver Injury in Phenoxo Herbicide-Exposed. Environmental research, 1992. 59: p. 14.
8. **Nishizumi, M.**, Light and electron microscope study of chlorobiphenyl poisoning. In mouse and monkey liver. Arch Environ Health, 1970. 21(5): p. 620-32.
9. **Kimbrough, R.D., R.E. Linder, and T.B.** Gaines, Morphological changes in livers of rats fed polychlorinated biphenyls: light microscopy and ultrastructure. Arch Environ Health, 1972. 25(5): p. 354-64.
10. **Fenton, S.**, The Structural Basis of Altered Hepatic Function in Viral Hepatitis. The American Journal of Medicine, 1970. 49.

## MỘT SỐ CHỈ SỐ SINH HÓA, HUYẾT HỌC VÀ KẾT QUẢ ĐIỀU TRỊ BỆNH NHÂN VIÊM TỤY CẤP DO TĂNG TRIGLYCERID

Lê Quốc Tuấn<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

**Mục tiêu:** Mô tả một số chỉ số sinh hóa, huyết học và đánh giá kết quả điều trị bệnh nhân viêm tụy cấp do tăng triglycerid. **Đối tượng và phương pháp:** Gồm 56 bệnh nhân VTC do tăng TG điều trị tại Khoa Tiêu hóa tại Bệnh viện Đa khoa tỉnh Phú Thọ từ tháng 1/2019 đến tháng 02 năm 2023. Nghiên cứu mô tả, tiến cứu. **Kết quả:** Tuổi trung bình  $43,86 \pm 8,62$ . Nam giới chiếm 80,4%. Nồng độ TG máu trung bình là  $37,05 \pm 20,04$  mmol/l. Bệnh nhân điều trị thành công chiếm tỷ lệ 98,2%. Tai biến điều trị là hạ kali máu (8,9%). Thời gian dùng insulin nhiều nhất là 7 ngày. Thời gian TG giảm còn ở ngưỡng 5,5mmol/L trung bình là 4 ngày. Số ngày điều trị tại viện trung bình là 8 ngày. **Từ khóa:** Viêm tụy cấp, tăng triglycerid, lâm sàng, cận lâm sàng.

### SUMMARY

#### SOME BIOCHEMICAL, HEMATOLOGICAL

<sup>1</sup>Trung tâm Y tế huyện Thanh Ba

Chịu trách nhiệm chính: Lê Quốc Tuấn

Email: tuanpk103ck@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.5.2023

Ngày phản biện khoa học: 21.6.2023

Ngày duyệt bài: 13.7.2023

### INDICATORS AND THE RESULTS OF TREATMENT OF HYPERTRIGLYCERIDEMIA-INDUCED ACUTE PANCREATITIS

**Objectives:** "Describe some biochemical and hematological indicators and evaluate the results of treatment in patients with hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis". **Subjects and methods:** Including 56 patients with hypertriglyceridemia-induced acute pancreatitis at the Department of Gastroenterology at Phu Tho General Hospital from January 2019 to February 2023. Descriptive, prospective study. **Results:** Mean age  $43.86 \pm 8.62$ . Men account for 80.4%. The mean TG concentration was  $37.05 \pm 20.04$  mmol/l. Patients successfully treated accounted for 98.2%. The complication of treatment was hypokalemia (8.9%). The maximum duration of insulin administration is 7 days. The time TG decreased to 5.5mmol/L on average was 4 days. The average number of days in hospital was 8 days.

**Keywords:** Acute pancreatitis, hypertriglyceridemia, clinical, subclinical.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Viêm tụy cấp (VTC) do tăng triglyceride (TG) máu chiếm 1-35% các trường hợp VTC. Nguy cơ VTC tăng dần khi nồng độ TG huyết thanh trên