

KHẢO SÁT QUẦN THỂ TẾ BÀO B CD19+ TRONG MÁU NGOẠI VI BỆNH NHÂN PEMPHIGUS THÔNG THƯỜNG

Quách Thị Hà Giang^{1,2,✉}, Trần Thị Huyền^{1,2}, Đỗ Thị Vinh An³
Lê Lan Anh³, Phạm Thị Lan^{1,2}

¹Trường Đại học Y Hà Nội

²Bệnh viện Da liễu Trung ương

³Bệnh viện Bạch Mai

Tế bào B có vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh bệnh pemphigus thông thường, một bệnh da bong nước tự miễn. Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 50 bệnh nhân pemphigus thông thường nhằm xác định số lượng, tần suất quần thể tế bào B CD19+ trong máu ngoại vi bằng phương pháp đếm tế bào dòng chảy và đánh giá mối liên quan của các chỉ số này với yếu tố tuổi, giới, thang điểm PDAI và nồng độ tự kháng thể kháng desmoglein 1 và 3 trong huyết thanh. Kết quả cho thấy, trong máu ngoại vi, số lượng tế bào B CD19+ theo trung vị (khoảng tứ phân vị) là 213 (166) tế bào/ μ L, tỉ lệ tế bào B/tế bào lympho là 11,14 (7,35). Không có sự khác biệt về số lượng, tần suất của tế bào B theo giới tính, nhóm tuổi, mức độ nặng của bệnh theo thang điểm PDAI và nồng độ tự kháng thể kháng desmoglein trong huyết thanh ($p > 0,05$). Đặc điểm của quần thể tế bào B có thể là một công cụ dự đoán diễn biến bệnh, hiệu quả điều trị nhắm đích tế bào B ở bệnh nhân pemphigus thông thường.

Từ khóa: Đếm tế bào dòng chảy, pemphigus thông thường, tế bào B.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Pemphigus thông thường (PV) là thể hay gặp nhất của bệnh pemphigus, bệnh da bong nước tự miễn biểu hiện với bong nước, vết trợt ở da và hoặc niêm mạc.¹ Các tự kháng thể kháng desmoglein 1 và desmoglein 3 được sản xuất bởi các tế bào B tự hoạt hóa tế bào, sẽ gắn với desmosom trên bề mặt tế bào sừng, làm sự mất kết dính giữa các tế bào sừng, dẫn đến hiện tượng 'ly gai', hình thành bong nước ở da và niêm mạc. Do có khả năng sản xuất kháng thể, các tế bào B đóng vai trò chính trong sự xuất hiện và tiến triển của các bệnh liên quan đến miễn dịch trong đó có pemphigus. Bên cạnh vai trò sản xuất các kháng thể, các tế bào B còn tiết các cytokin

gây viêm và kháng viêm, kích thích hoặc gây giảm đáp ứng miễn dịch.² Tỷ lệ tế bào B CD19+ tại thương tổn da PV cao hơn đáng kể so với vùng da bình thường. Hơn nữa, tế bào B từ các thương tổn da PV tạo ra tự kháng thể kháng Dsg1 (anti-Dsg1 Ab) và kháng Dsg3 (anti-Dsg3 Ab).³ Nghiên cứu của Zhiciu Liu và cộng sự cho thấy có tế bào B biểu lộ CD19 cao (B CD19^{hi}) trong máu ngoại vi của bệnh nhân (BN) PV. Tế bào B CD19^{hi} có khả năng sản xuất immunoglobulin (Ig) gồm IgG, IgM cao với sự trợ giúp của tế bào TCD4⁺. Tần suất của tế bào B CD19^{hi} ngoại vi có liên quan tới nồng độ IgG và IgM huyết thanh song không liên quan tới nồng độ anti-Dsg1 Ab và anti-Dsg3 Ab.⁴

Vai trò của tế bào B trong cơ chế bệnh sinh cũng được thể hiện bởi hiệu quả điều trị bệnh bằng liệu pháp tác động đích vào tế bào B: rituximab, kháng thể kháng CD20. Sự gắn kết của rituximab với CD20 trên bề mặt tế bào B gây chết tế bào, dẫn đến sự cải thiện lâm sàng

Tác giả liên hệ: Quách Thị Hà Giang

Trường Đại học Y Hà Nội

Email: drhagiang@gmail.com

Ngày nhận: 17/05/2024

Ngày được chấp nhận: 06/06/2024

nhanh chóng ở phần lớn bệnh nhân PV, đồng thời giảm rõ rệt nồng độ tự kháng thể kháng Dsg3 và số lượng tế bào B trong máu ngoại vi. Ở nhiều bệnh nhân, tế bào B không được phát hiện trong máu ngoại vi trong hơn một năm sau khi dùng thuốc.⁵ Phần lớn bệnh nhân PV cải thiện lâm sàng với rituximab, nhưng có sự tái phát lâm sàng trong quá trình theo dõi lâu dài ở một số bệnh nhân. Sự tái phát này thường trùng hợp với sự xuất hiện trở lại của tế bào B và tự kháng thể kháng Dsg3 trong máu ngoại vi. Quan sát này gợi ý về sự xuất hiện trở lại của các tế bào B có khả năng tạo tiền đề cho bệnh tái phát. Tuy cơ chế bệnh sinh chưa rõ, những bất thường về tần suất và hoạt động của tế bào B góp phần quan trọng trong sự xuất hiện và tiến triển của bệnh.⁶ Phân tích đặc điểm, sự hoạt hóa tế bào B có thể giúp xác định các phương pháp điều trị đích.⁴ Các thông tin từ các nghiên cứu trước đây về tế bào B trong máu ngoại vi còn ít, chưa đánh giá được mối liên quan về số lượng, tần suất tế bào B với đặc điểm lâm sàng, miễn dịch ở PV. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm xác định số lượng và tần suất quần thể tế bào B trong máu ngoại vi ở bệnh nhân PV và phân tích mối tương quan với một số yếu tố lâm sàng, miễn dịch.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP

1. Đối tượng

Tiêu chuẩn lựa chọn

Lựa chọn 50 bệnh nhân pemphigus thông thường điều trị nội trú và ngoại trú tại Bệnh viện Da liễu Trung ương. Chẩn đoán xác định theo tiêu chuẩn của hội Da liễu châu Âu(2020) dựa vào lâm sàng, mô bệnh học, miễn dịch huỳnh quang trực tiếp, gián tiếp, ELISA xác định nồng độ anti-Dsg1 Ab, anti-Dsg3 Ab trong huyết

thanh.⁷ Có 26 bệnh nhân mới, chưa sử dụng các thuốc ức chế miễn dịch và 24 bệnh nhân cũ đã dùng các thuốc ức chế miễn dịch đường toàn thân ít nhất 1 tháng trước khi vào nghiên cứu.

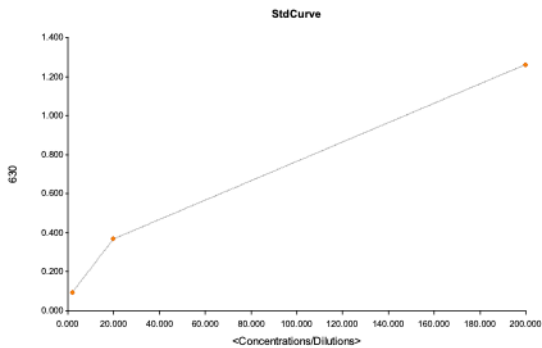
Tiêu chuẩn loại trừ

Bệnh nhân có bệnh lý ác tính, nhiễm trùng, bệnh tự miễn, suy giảm miễn dịch.

2. Phương pháp

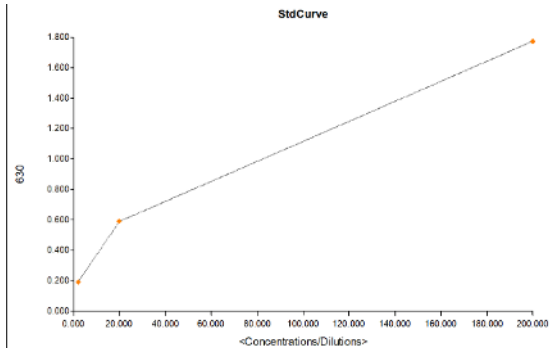
Đây là một nghiên cứu mô tả cắt ngang được thực hiện tại Bệnh viện Da liễu Trung ương và Trung tâm Huyết học và Truyền máu - Bệnh viện Bạch Mai trong thời gian từ tháng 04/2024 tới tháng 12/2024. bệnh nhân được hỏi bệnh và khám bệnh theo mẫu bệnh án nghiên cứu. Đánh giá mức độ nặng của bệnh theo thang điểm PDAI (pemphigus disease area index), phân loại mức độ nhẹ (0 - 8 điểm), trung bình (9 - 24 điểm) và nặng (≥ 25 điểm).⁸ Tính điểm gồm PDAI chung, PDAI da, PDAI niêm mạc, trong đó PDAI chung = PDAI da + PDAI niêm mạc.⁹

- Định lượng nồng độ anti-Dsg1 Ab và anti-Dsg3 Ab huyết thanh bằng bộ xét nghiệm ELISA Euroimmun anti-desmoglein1 và anti-desmoglein3 (Euroimmun Medizinische Labordiagnostika, Lübeck, Đức). Mỗi bệnh nhân lấy 2ml máu không có chất chống đông, sau đó đem ly tâm tách huyết thanh, bảo quản huyết thanh ở tủ -80°C . Huyết thanh được pha loãng theo tỷ lệ 1:100 trong dung dịch đệm mẫu. Kết quả đo bằng đơn vị tương đối, relative unit (RU): < 20 RU/ml-âm tính; > 20 RU/ml-dương tính. Nếu giá trị đo của mẫu huyết thanh nằm trên giá trị của chất hiệu chuẩn 1 (200 RU/ml), kết quả sẽ được đưa ra là " > 200 RU/ml". Kiểm tra lại mẫu ở độ pha loãng 1:400, 1:800, 1:160 lấy kết quả RU/ml được đọc từ đường chuẩn mẫu này nhân với hệ số 4, 8, 16.

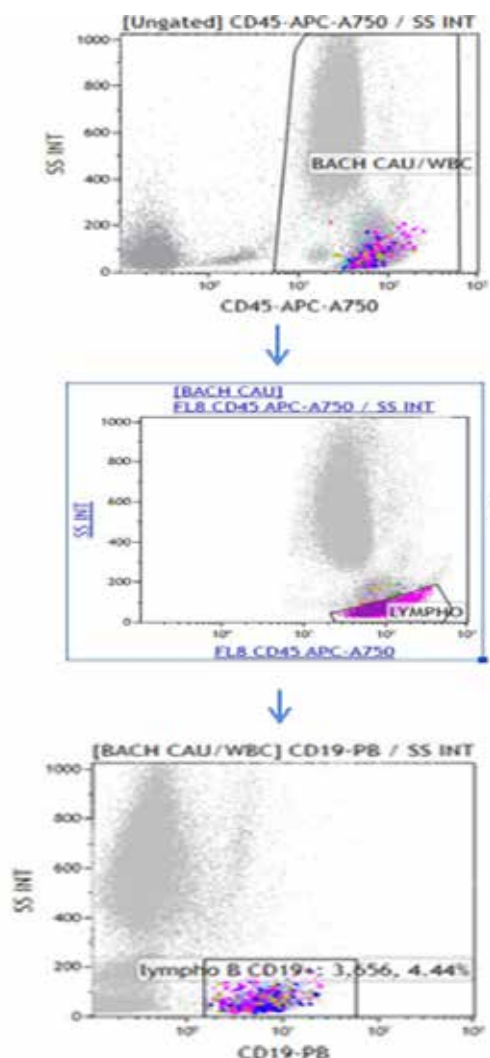


Biểu đồ 1. Đường chuẩn để định lượng nồng độ anti desmoglein 3

- Đếm tế bào dòng chảy xác định quần thể tế bào B dựa trên nguyên lý là khả năng liên kết của các kháng thể đơn dòng cụ thể với các yếu tố quyết định kháng nguyên trên tế bào lympho. Bệnh nhân được lấy 2ml máu ngoại vi vào ống chống đông, để ở nhiệt độ phòng, phân tích trong 4 giờ. Thực hiện quy trình đếm tế bào dòng chảy để xác định quần thể tế bào B CD19⁺. Dấu ấn bề mặt được dùng để phân tích quần thể tế bào B là anti CD45-APC750 (allophycocyanin-Alexa Flour 750) và anti CD19-PB (Pacific Blue). Phân tích được thực hiện trên phần mềm Kaluza C 1, dùng máy 10 kênh màu/3 laser Navios EX Flow Cytometer của hãng Beckman Coulter, serial BA46090. Khoanh vùng quần thể bạch cầu (CD45⁺) và lympho B (CD45⁺CD19⁺). Tiến hành ghi nhận số lượng bạch cầu, bạch cầu lympho, tế bào B (cell/ μ L) và tính tỷ lệ % của quần thể tế bào B/ bạch cầu, tỉ lệ tế bào B/lympho.



Biểu đồ 2. Đường chuẩn để định lượng nồng độ anti desmoglein 1



Hình 1. Panel phân tích quần thể tế bào B CD19⁺ trong máu ngoại vi

Trên biểu đồ SS và CD45 khoanh vùng quần thể bạch cầu dương tính với CD45, trong cửa sổ bạch cầu khoanh vùng quần thể lympho (SS thấp, CD45 dương tính mạnh), khoanh vùng quần thể lympho B (CD45⁺CD19⁺), tiến hành ghi nhận lại số lượng tế bào (tế bào/ μ L) và tỷ lệ % tế bào lympho B.

Xử lý số liệu

Phân tích thống kê được thực hiện bằng phần mềm SPSS 23.0. Các biến liên tục được mô tả bởi giá trị trung bình và độ lệch chuẩn nếu có phân phối chuẩn; và trung vị (khoảng tứ phân vị) nếu không có phân phối chuẩn, sử dụng Shapiro-wilk để kiểm định biến chuẩn với

cỡ mẫu nhỏ hơn 50. Các biến định tính được mô tả bởi tần suất và phần trăm. Sự khác biệt về số lượng và tỷ lệ tế bào B CD19⁺ được kiểm định bằng Mann-Whitney U test (đối với hai nhóm) và Kruskal-Wallis test (đối với nhiều hơn hai nhóm). Test Spearman được dùng để đánh giá mối liên quan giữa hai biến định lượng phân bố không chuẩn. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi p-value < 0,05.

3. Đạo đức nghiên cứu

Nghiên cứu được phê duyệt bởi Hội đồng đạo đức trong nghiên cứu Y sinh Trường Đại học Y Hà Nội theo quyết định số 838/GCN-HĐĐĐNCYSH-ĐHYHN, ngày 27 tháng 3 năm 2023.

III. KẾT QUẢ

Bảng 1. Đặc điểm chung của các bệnh nhân PV và thông số về tế bào B CD19⁺

Đặc điểm		
Tuổi, mean \pm SD (năm)		56,15 \pm 15,15
Giới tính, n (%)	Nam	19 (38,0)
	Nữ	31 (62,0)
Thời gian khởi phát, median (IQR) (tháng)	5,5	34
Tuổi khởi phát, mean (SD) (năm)		53,74
	Da	20 (40,0)
	Niêm mạc	4 (8,0)
Vị trí thương tổn, n (%)	Da và niêm mạc	26 (52,0)
Bọng nước, n (%)	29	58,00
Dịch bọng nước trong, n (%)	29	58,00
Dịch mũ, n (%)	5	10,00
Dịch xuất huyết, n (%)	2	4,00
Bọng nước nền da lành, n (%)	25	50,00
Bọng nước nền da đỏ, n (%)	14	28,00
Vết trợt, n (%)	46	92,00
Vảy tiết, n (%)	45	90,00

Đặc điểm		
Sùi, n (%)	0	0
Dấu hiệu Nikolsky dương tính, n (%)	30	60,00
PDAI chung, median (IQR)	22	18
PDAI da, median (IQR)	18	22
PDAI niêm mạc, median (IQR)	2	7
Mức độ nặng n (%)	Nhẹ	14 (22,0)
	Trung bình	18 (34,0)
	Nặng	16 (44,0)
Nồng độ anti-Dsg1 Ab, median (IQR), RU/ml	224	421,74
Nồng độ anti-Dsg3 Ab, median (IQR), RU/ml	65,75	240,45
Số lượng bạch cầu, median (IQR), (tế bào/ μ L)	9360	4640
Số lượng bạch cầu lympho, median (IQR), (tế bào/ μ L)	2155	1132
Số lượng tế bào B CD19 ⁺ , median (IQR), (tế bào/ μ L)	213	166
Tỷ lệ tế bào B CD19 ⁺ / bạch cầu (%)	2,325	2,17
Tỷ lệ tế bào B CD19 ⁺ /tế bào lympho (%)	11,14	7,35

Có 50 bệnh nhân tham gia nghiên cứu, trong đó có 19 (38,0%) bệnh nhân nam, 31 (62,0%) bệnh nhân nữ, tuổi trung bình là 56,15 \pm 15,15. Có 40,0% bệnh nhân có thương tổn ở da, 52,0% bệnh nhân có thương tổn ở cả da và niêm mạc, có 8,0% bệnh nhân chỉ có thương tổn ở niêm mạc. Phân loại theo thang

điểm PDAI có 14 (29,2%) bệnh nhân mức độ nhẹ, 18 (37,5%) bệnh nhân mức độ trung bình và 16 (33,3%) bệnh nhân mức độ bệnh nặng. Số lượng tế bào B theo median (IQR) là 213 (166) (tế bào/ μ L), tỉ lệ tế bào B/tế bào lympho là 11,14 (7,35)% (Bảng 1).

Bảng 2. Số lượng và tỷ lệ tế bào B trong máu ngoại vi theo giới tính

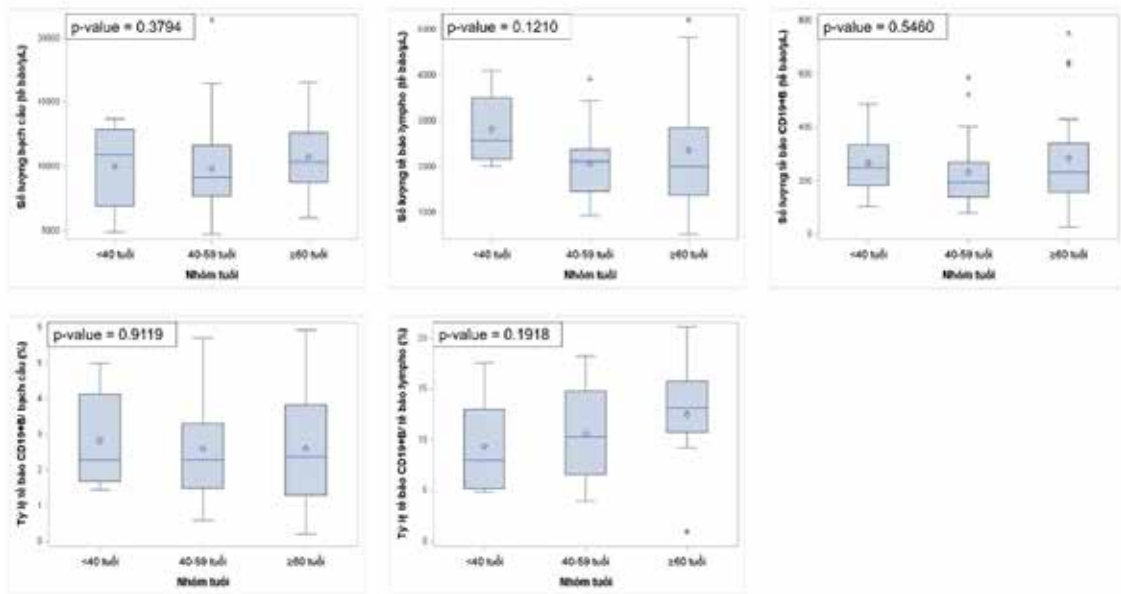
Chỉ số	Nam (n = 19)		Nữ (n = 31)		p-value ¹
	Median	IQR	Median	IQR	
Số lượng bạch cầu (tế bào/ μ L)	10440	4420	9220	4090	0,4182
Số lượng bạch cầu lympho (tế bào/ μ L)	1900	1100	2220	980	0,097
Số lượng tế bào BCD19 ⁺ (tế bào/ μ L)	209	161	221	202	0,5421

Chỉ số	Nam (n = 19)		Nữ (n = 31)		p-value ¹
	Median	IQR	Median	IQR	
Tỷ lệ tế bào B/bạch cầu (%)	2,37	2,07	2,28	2,66	0,3631
Tỷ lệ tế bào B/tế bào lympho (%)	11,09	5,09	11,19	8,65	0,7115

¹Mann-Whitney U test, p-value < 0,05 cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

Số lượng tế bào B median (IQR) ở nam là 209 (161) (tế bào/ μ L), ở nữ là 221 (202) (tế bào/ μ L), không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê

($p > 0,05$). Đồng thời không có sự khác biệt về tỷ lệ tế bào B/tế bào lympho ở nam và nữ ($p > 0,05$) (Bảng 2).

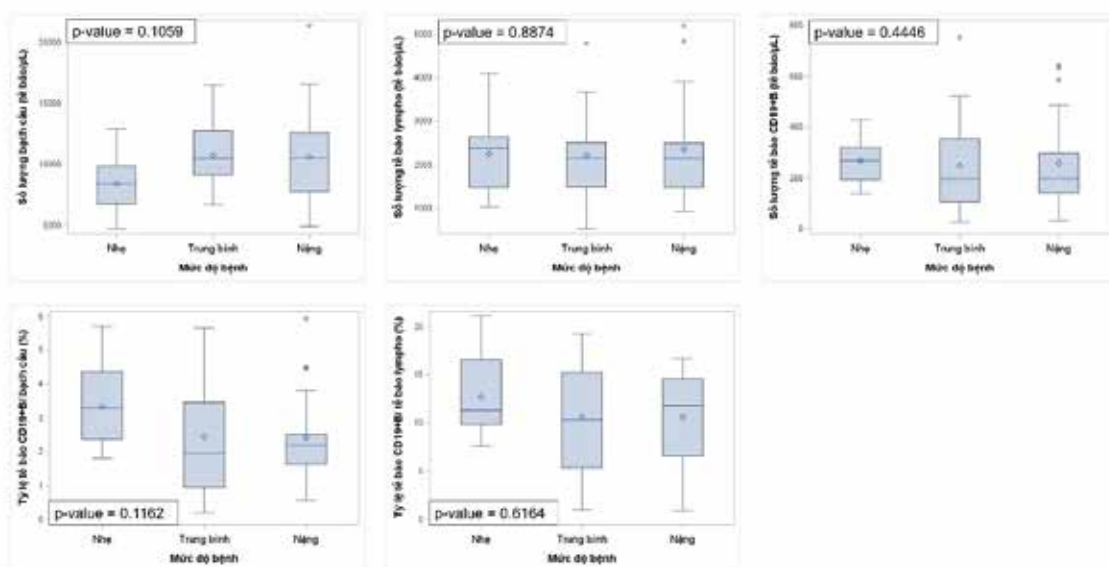


¹Kruskal-Wallis test, p-value < 0,05 cho thấy sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Biểu đồ 3. So sánh số lượng và tần suất tế bào B CD19⁺ trong máu ngoại vi PV theo nhóm tuổi (Kruskal-Wallis test)

Trong nghiên cứu, tuổi của các bệnh nhân từ 24 - 88 tuổi, trung bình là $56,15 \pm 15,15$, được phân loại 50 bệnh nhân theo 3 nhóm tuổi (dưới 40 tuổi, từ 40 - 59 và trên 60 tuổi). Không

có sự khác biệt về số lượng và tần suất tế bào B CD19⁺ trong máu ngoại vi theo nhóm tuổi ($p > 0,05$).



Biểu đồ 4. So sánh số lượng và tần suất tế bào B CD19⁺ trong máu ngoại vi BN PV theo mức độ hoạt động bệnh (Kruskal-Wallis test)

Số lượng tế bào B, median (IQR) phân theo mức độ hoạt động của bệnh nhẹ, vừa, nặng theo thang điểm PDAI lần lượt là 268 (127), 197 (246) và 197,5 (158) (tế bào/ μ L), tỉ lệ tế bào B/lympho theo mức độ nhẹ, trung bình,

nặng lần lượt là 11,33 (6,67), 10,33 (9,85), và 11,78 (7,99). Không có sự khác biệt về số lượng tế bào B và tỉ lệ tế bào B/lympho trong máu ngoại vi theo mức độ hoạt động của bệnh ($p > 0,05$).

Bảng 3. Mối tương quan giữa số lượng, tỷ lệ tế bào B trong máu ngoại vi và điểm PDAI, nồng độ huyết thanh anti-Dsg1 Ab và anti-Dsg3 Ab

Chỉ số		PDAI	Anti-Dsg1 Ab (RU/ml)	Anti-Dsg3 Ab (RU/ml)
Số lượng tế bào B CD19 ⁺ B (tế bào/ μ L)	r^1	-0,1445	-0,1057	-0,0596
	p^2	0,3167	0,4648	0,6808
Tỷ lệ tế bào B CD19 ⁺ bạch cầu (%)	r	-0,1966	-0,0663	-0,1090
	p	0,1711	0,6471	0,4512
Tỷ lệ tế bào B CD19 ⁺ /lympho (%)	r	-0,0947	0,0497	0,0100
	p	0,5130	0,7318	0,9449

¹Hệ số tương quan Spearman; ² p -value < 0,05 cho thấy mối tương quan có ý nghĩa thống kê.

Không có mối liên quan giữa số lượng tế bào B, tỉ lệ tế bào B/bạch cầu, tỉ lệ tế bào B CD19⁺ lympho trong máu ngoại vi với điểm

PDAI và nồng độ anti-Dsg1 Ab và anti-Dsg3 Ab trong huyết thanh ($p > 0,05$).

IV. BÀN LUẬN

Tế bào B đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh, biểu hiện lâm sàng và miễn dịch của PV. Sự hoạt hóa tế bào B bất thường liên quan tới sự sản xuất tự kháng thể liên tục là một trong những đặc điểm nổi bật trong PV.⁴ Nghiên cứu của chúng tôi được thực hiện nhằm xác định số lượng, tần suất của tế bào CD19⁺B trong máu ngoại vi bằng phương pháp tế bào dòng chảy. Đây là công cụ quan trọng, cho phép định lượng và mô tả đặc tính của tế bào B về kiểu hình và chức năng. Sự biệt hóa tế bào B là một quá trình từng bước được xác định bởi sự biểu hiện của các yếu tố phiên mã cụ thể, Ig và các dấu hiệu trên bề mặt tế bào. Sự biểu hiện đồng thời của CD19 và CD20 phần lớn chồng chéo và xác định cả hai dấu ấn này thường không cần thiết. CD19 là dấu hiệu đáng tin cậy nhất để xác định các tế bào B, bộc lộ trong suốt quá trình phát triển tế bào B, ngoại trừ trong các tương bào trưởng thành.¹⁰ Do đó, nghiên cứu này sử dụng anti-CD45 để xác định quần thể bạch cầu chung, từ cửa sổ này khoanh vùng quần thể tế bào dương tính với CD19 để xác định quần thể tế bào B (BCD45⁺CD19⁺). Đây là nghiên cứu đầu tiên thực hiện tại Việt nam xác định số lượng và tần suất quần thể tế bào B trong máu ngoại vi bệnh nhân PV.

Trong nghiên cứu này, số lượng và tần suất tế bào B tương tự với chỉ số tham chiếu về tế bào B ở người khỏe mạnh ở các nghiên cứu khác. Ở quần thể người trưởng thành, tỉ lệ tế bào B chiếm khoảng 10% trên tổng số tế bào lympho.¹¹ Nghiên cứu ở Mexico trên 21 người trưởng thành (13 nữ, 8 nam) cho thấy số lượng tế bào B/mm³ là 240 (126-534), tỉ lệ % tế bào B là 10 (6 - 22).¹² Nghiên cứu Feng trên 114 người Trung Quốc khỏe mạnh từ trẻ đến lớn (50 nam và 64 nữ) cho thấy số lượng tế bào B là 280,04 ± 148,64 tế bào/μl, tỉ lệ tế bào B là 12,61 ± 4,45%.¹³ Nghiên cứu trên bệnh nhân

viêm mạch liên quan tới kháng thể kháng bào tương của bạch cầu trung tính (antineutrophil cytoplasmic antibody-ANCA) tỉ lệ tế bào B/lympho là 5,13 (315 - 8,98%), thấp hơn ở nhóm chứng khỏe mạnh là 8,33 (5,98 - 11,6%) với $p < 0,0001$. Nghiên cứu của Liu cho thấy quần thể tế bào CD19^{hi}B ở lupus ban đỏ hệ thống và pemphigus đều cao hơn nhiều so với nhóm chứng ($p < 0,001$). Điều này gợi ý sự phân bố bất thường của tế bào ở cả hai bệnh này.⁴

Chúng tôi cho rằng các kết quả không giống nhau có thể liên quan tới mẫu nghiên cứu gồm yếu tố chủng tộc, mức độ bệnh, thuốc điều trị. Trong nghiên cứu, tất cả các bệnh nhân đã từng điều trị đều dùng corticoid đường toàn thân. Đây là phương pháp điều trị phổ biến ở Việt Nam do tính sẵn có và chi phí thấp. Chỉ có duy nhất một bệnh nhân đã dùng rituximab. Đây là một trong các yếu tố gây ảnh hưởng tới tần suất các loại tế bào B, song mức độ thay đổi tùy thuộc vào đích tác động của liệu pháp ức chế miễn dịch.

Bên cạnh đó, khi thực hiện so sánh về số lượng và tần suất tế bào B trong máu ngoại vi theo giới tính, nhóm tuổi và mức độ nặng của bệnh theo thang điểm PDAI và nồng độ anti-Dsg1 Ab, anti-Dsg3 Ab trong huyết thanh cho thấy không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Nghiên cứu của Feng (2022) cho thấy không có sự khác biệt về tỉ lệ tế bào B theo giới tính và nhóm tuổi (0 - 20, 21 - 40, 41 - 60, 61 - 80 và trên 80 tuổi) ở người khỏe mạnh song có sự thay đổi theo giới và nhóm tuổi ở một số dưới nhóm tế bào B.¹³ Trong nghiên cứu của Liu, tần số tế bào B CD19^{hi} ngoại vi của bệnh nhân pemphigus có tương quan với tổng IgG trong huyết thanh, nhưng không tương quan với tự kháng thể đặc hiệu và mức độ nặng của bệnh.⁴

Phân tích tế bào B trong máu ngoại vi có những hạn chế trong việc giải thích mối liên

quan giữa tỉ lệ tế bào B với khả năng sản xuất kháng thể và mức độ nặng trên lâm sàng do các tự kháng thể còn có thể được sản xuất bởi nguyên tương bào trong các mô bạch huyết, tủy xương, và tại thương tổn da. Yuan (2017) cho thấy có sự tăng các tương bào có khả năng sản xuất các tự kháng thể đặc hiệu tại thương tổn da của bệnh nhân PV.³ Ở một số bệnh tự miễn, tủy xương giàu các tương bào non hoạt hóa.¹⁴

Sự tái phát lâm sàng trong quá trình điều trị bằng rituximab thường trùng hợp với sự xuất hiện trở lại của tế bào B và kháng thể kháng Dsg3 Ab trong máu ngoại vi, gợi ý về sự xuất hiện trở lại của các tế bào B-Dsg3 có khả năng tạo tiền đề cho bệnh tái phát. Tuy nhiên, cơ chế chính xác gây ra các đợt tái phát bệnh trên lâm sàng vẫn chưa rõ, có thể do liệu pháp điều trị không loại bỏ được hoàn toàn các tế bào B đặc hiệu Dsg3 hay do việc tạo ra các tế bào B tự hoạt hóa.¹⁵ Ở những bệnh nhân pemphigus, quần thể tế bào B được chứng minh là bao gồm các tế bào lympho B tự hoạt hóa tạo ra tự kháng thể kháng desmoglein, chịu trách nhiệm trực tiếp về hoạt động của bệnh và các tế bào lympho B điều hòa (B-reg).^{16,17} Nghiên cứu của Pollman (2019) sử dụng protein Dsg3 tái tổ hợp đánh dấu huỳnh quang ở người để phát hiện dòng tế bào B đặc hiệu sản xuất Dsg3 trên 14 bệnh nhân PV. Kết quả có thể phát hiện tế bào B-Dsg3 với tần suất thấp, chiếm 0,11 - 0,53% trong số tế bào B CD19⁺ trong máu ngoại vi bệnh nhân PV và tỉ lệ này cao hơn nhóm 14 người khỏe mạnh (0,09 - 0,22%).⁶

Tế bào B được cho là có vai trò then chốt trong cơ chế bệnh sinh của pemphigus thông thường. Bên cạnh việc sản xuất tự kháng thể, tế bào B còn sản xuất nhiều cytokin và các chất có khả năng tiền viêm hoặc kháng viêm, có thể kích thích hoặc điều hòa ngược đáp ứng miễn dịch.¹⁸ Những tiến bộ gần đây trong việc kích hoạt và biệt hóa tế bào B đã vẽ ra một bức

tranh khá phức tạp với nhiều bước trong việc tạo ra các tế bào có khả năng tiết kháng thể như tương bào, tương bào non và tế bào B nhớ trong máu ngoại vi. Tuy nhiên, mức độ phức tạp của tế bào B có liên quan như thế nào đến việc tạo ra kháng thể trong các bệnh tự miễn dịch vẫn chưa rõ ràng và pemphigus cũng không nằm ngoài bức tranh này. Bên cạnh đó, ngoài vai trò của tế bào B, các nghiên cứu cũng đề cập tới một số kháng nguyên khác không thuộc họ desmoglein và vai trò hiệp đồng của các yếu tố ngoài kháng thể.^{19,20}

Vai trò của tế bào B ngày càng được nghiên cứu nhiều hơn trong bệnh da tự miễn và pemphigus. Tuy nhiên, kiểu hình, vai trò cụ thể của tế bào B và các dưới nhóm tế bào B trong pemphigus vẫn chưa rõ. Các nghiên cứu đang và sẽ thực hiện về hoạt động của tế bào B, các quần thể dưới nhóm tế bào B có thể cung cấp những hiểu biết về vai trò của các tế bào B trong cơ chế bệnh sinh và hiệu quả điều trị với đích tác động vào dưới nhóm tế bào B.

Nghiên cứu này có hạn chế khi chưa thực hiện đánh giá trên nhóm đối chứng là người khỏe mạnh nên kết quả mới chỉ dừng ở mức ghi nhận, chưa đủ cơ sở khoa học để đưa ra khuyến cáo. Bên cạnh đó, nghiên cứu thực hiện trên cả bệnh nhân PV mới được chẩn đoán và bệnh nhân cũ đã từng dùng thuốc ức chế miễn dịch, có thể ảnh hưởng đến số lượng và tần suất tế bào B trong máu ngoại vi. Ngoài ra, nghiên cứu thực hiện trên máu ngoại vi về quần thể tế bào B chung, không thực hiện tại mô lympho, thương tổn da nên chưa đánh giá tổng thể về tế bào B và các dưới nhóm tế bào B ở bệnh nhân pemphigus thông thường.

V. KẾT LUẬN

Trong máu ngoại vi, số lượng tế bào B CD19⁺ có trung vị (IQR) là 213 (166) tế bào/ μ L, tỉ lệ tế bào B/tế bào lympho là 11,14 (7,35%).

Không có sự khác biệt về số lượng, tần suất của tế bào B theo giới, nhóm tuổi, điểm PDAI và nồng độ kháng thể kháng desmoglein trong huyết thanh.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ellebrecht CT, Maseda D, Payne AS. Pemphigus and Pemphigoid: From Disease Mechanisms to Druggable Pathways. *J Invest Dermatol.* 2022; 142(3): 907-914. doi:10.1016/j.jid.2021.04.040.
2. Wang et al. - 2020 - Role of B cells in immune-mediated dermatoses.pdf.
3. Yuan H, Zhou S, Liu Z, et al. Pivotal Role of Lesional and Perilesional T/B Lymphocytes in Pemphigus Pathogenesis. *J Invest Dermatol.* 2017; 137(11): 2362-2370. doi:10.1016/j.jid.2017.05.032.
4. Liu Z, Zeng W, Huang X, et al. Peripheral CD19hi B cells exhibit activated phenotype and functionality in promoting IgG and IgM production in human autoimmune diseases. *Sci Rep.* 2017; 7(1): 13921. doi:10.1038/s41598-017-14089-2.
5. Yamagami J. B-cell targeted therapy of pemphigus. *J Dermatol.* 2023 ;50(2): 124-131. doi:10.1111/1346-8138.16653.
6. Pollmann R, Walter E, Schmidt T, et al. Identification of Autoreactive B Cell Subpopulations in Peripheral Blood of Autoimmune Patients With Pemphigus Vulgaris. *Front Immunol.* 2019; 10: 1375. doi:10.3389/fimmu.2019.01375.
7. Joly P, Horvath B, Patsatsi A, et al. Updated S2K guidelines on the management of pemphigus vulgaris and foliaceus initiated by the european academy of dermatology and venereology (EADV). *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2020; 34(9): 1900-1913. doi:10.1111/jdv.16752.
8. Shimizu T, Takebayashi T, Sato Y, et al. Grading criteria for disease severity by pemphigus disease area index. *J Dermatol.* 2014; 41(11): 969-973. doi:10.1111/1346-8138.12649.
9. Mohebi F, Tavakolpour S, Teimourpour A, Toosi R, Mahmoudi H, Balighi K, Ghandi N, Ghiasi M, Nourmohammadpour P, Lajevardi V, Abedini R, Azizpour A, Nasimi M, Daneshpazhooh M. Estimated cut-off values for pemphigus severity classification according to pemphigus disease area index (PDAI), autoimmune bullous skin disorder intensity score (ABSIS), and anti-desmoglein 1 autoantibodies. *BMC Dermatol.* 2020 Oct 31; 20(1): 13. doi: 10.1186/s12895-020-00105-y.
10. Sanz I, Wei C, Jenks SA, Cashman KS, Tipton C, Woodruff MC, Hom J and Lee FE-H (2019) Challenges and Opportunities for Consistent Classification of Human B Cell and Plasma Cell Populations. *Front. Immunol.* 10: 2458. doi: 10.3389/fimmu.2019.02458.
11. Carsetti R, Terreri S, Conti MG, et al. Comprehensive phenotyping of human peripheral blood B lymphocytes in healthy conditions. *Cytometry A.* 2022; 101(2): 131-139. doi:10.1002/cyto.a.24507.
12. Berrón-Ruiz L, López-Herrera G, Ávalos-Martínez CE, et al. Variations of B cell subpopulations in peripheral blood of healthy Mexican population according to age: Relevance for diagnosis of primary immunodeficiencies. *Allergol Immunopathol (Madr).* 2016; 44(6): 571-579. doi:10.1016/j.aller.2016.05.003.
13. Feng R, Zhao J, Sun F, et al. Comparison of the deep immune profiling of B cell subsets between healthy adults and Sjögren's syndrome. *Ann Med.* 2022; 54(1): 472-483. doi :10.1080/07853890.2022.2031272.
14. Mei H.E., Wirries I., Frölich D., Brisslert

- M., Giesecke C., Grün J.R., Alexander T., Schmidt S., Luda K., Kühl A.A., et al. A Unique Population of IgG-Expressing Plasma Cells Lacking CD19 Is Enriched in Human Bone Marrow. *Blood*. 2015;125:1739–1748. doi: 10.1182/blood-2014-02-555169. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar].
15. Pollmann R, Walter E, Schmidt T, et al. Identification of Autoreactive B Cell Subpopulations in Peripheral Blood of Autoimmune Patients With Pemphigus Vulgaris. *Front Immunol*. 2019; 10:1375. doi:10.3389/fimmu.2019.01375.
16. Hammers CM, Chen J, Lin C, Kacir S, Siegel DL, Payne AS, et al. Persistence of anti-desmoglein 3 IgG(+) B-cell clones in pemphigus patients over years. *J Invest Dermatol*. (2015) 135: 742–9. doi: 10.1038/jid.2014.291.
17. Chen J, Zheng Q, Hammers CM, Ellebrecht CT, Mukherjee EM, Tang H-Y, et al. Proteomic analysis of pemphigus autoantibodies indicates a larger, more diverse, and more dynamic repertoire than determined by B cell genetics. *Cell Rep*. (2017) 18: 237–47. doi: 10.1016/j.celrep.2016.12.013.
18. Wang WM, Guo L, Jin HZ. Role of B cells in immune-mediated dermatoses. *Mol Immunol*. 2020; 126: 95-100. doi:10.1016/j.molimm.2020.07.016.
19. Pollmann R, Schmidt T, Eming R, Hertl M. Pemphigus: a Comprehensive Review on Pathogenesis, Clinical Presentation and Novel Therapeutic Approaches. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2018; 54(1): 1-25. doi:10.1007/s12016-017-8662-z.
20. Lim YL, Bohelay G, Hanakawa S, Musette P, Janela B, Yen Loo Lim, Gerome Bohelay, Sho Hanakawa, Autoimmune Pemphigus: Latest Advances and Emerging Therapies, *Front.Mol. Biosci*. 8:808536. *Front Mol Biosci*. 2022; 8:26.

Summary

SURVEY OF BCD19+ CELL POPULATION IN PERIPHERAL BLOOD OF PATIENTS WITH PEMPHIGUS VULGARIS

B cells play a crucial role in the pathogenesis of pemphigus vulgaris, an autoimmune bullous skin disease. This is a cross-sectional descriptive study on 50 patients with pemphigus vulgaris to determine the quantity and frequency of BCD19+ cell populations in peripheral blood and to evaluate the relationship of these indicators with age, gender, PDAI score and anti-desmoglein 1 and 3 autoantibody serum levels. Results obtained from flow cytometry showed that, in peripheral blood, the median number of CD19+B cells (interquartile range) was 213 (166) cells/ μ L, and the ratio of B cells/lymphocytes was 11.14 (7.35) %. There was no difference in the number and frequency of B cells according to gender, age group, PDAI, and anti-desmoglein autoantibody serum titer ($p > 0.05$). Characteristics of B cell populations can be a tool to predict disease progression and the effectiveness of B cell-targeted therapy in patients with pemphigus vulgaris.

Keywords: B cells, flow cytometry, pemphigus vulgaris.