KẾT QUẢ ỨNG DỤNG CÁC STR TRONG THEO DÕI MỌC MẢNH GHÉP TRÊN NGƯỜI BỆNH GHÉP TẾ BÀO GỐC TẠO MÁU ĐỒNG LOÀI TẠI VIỆN HUYẾT HỌC – TRUYỀN MÁU TW GIAI ĐOẠN 2018 – 6/2022

Nguyễn Thùy Trang[1], Nguyễn Thanh Ngọc Bình[1], Bùi Thuý Hường[1], Ngô Thu Hằng[1], Vũ Thị Bích Hường[1], Võ Thị Thanh Bình[1], Dương Quốc Chính[1]

TÓM TẮT

Trong ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài, theo dõi mọc mảnh ghép là xác định tỷ lệ phần trăm tế bào máu của người cho trong cơ thể người nhận. Kỹ thuật phân tích đoạn ADN kết hợp với PCR sử dụng các STR là kỹ thuật được sử dụng phổ biến nhất trong hai thập kỷ qua. Kỹ thuật này đã được ứng dụng tại Khoa Di truyền - Sinh học phân tử, Viện HH – TM TW để theo dõi mọc mảnh ghép cho người bệnh tại Viện. **Mục tiêu nghiên cứu:** đánh giá các giá trị thông tin của STR và ứng dụng của STR trong theo dõi mọc mảnh ghép ở người bệnh ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài. **Đối tượng nghiên cứu:** 87 người bệnh ghép tế bào gốc tạo máu tại Khoa Ghép tế bào gốc, Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương giai đoạn 2018 - 6/2022. **Phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu hồi cứu, mô tả loạt ca bệnh, chọn mẫu thuận tiện. Mẫu theo dõi mọc mảnh ghép được tách ADN, sau đó thực hiện PCR khuếch đại 24 STR trong bộ kit Globalfiler và điện di mao quản để phân tích chimerism. **Kết quả:** Trong 24 STR sử dụng, STR có số lượng alen biểu hiện ít nhất là 5 alen và cao nhất là 25 alen. Các STR có tần suất sử dụng cao (> 70%) gồm: D2S1338, SE33, D18S51, D12S391, D1S1656, D10S1248. STR có tần suất sử dụng thấp nhất là TPOX (31%). Mỗi cặp ghép đều có ít nhất 6 STR có giá trị thông tin để theo dõi mọc mảnh ghép. 24 STR được ứng dụng hiệu quả trong theo dõi mọc mảnh ghép trên dòng tế bào lympho T và tế bào dòng tuỷ.

[1]*Viện Huyết học – Truyền máu TW*
Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Thùy Trang
SĐT: 0983.442.185
Email: thuytrang.nihbt@gmail.com
Ngày nhận bài: 31/8/2022
Ngày phản biện khoa học: 31/8/2022
Ngày duyệt bài: 05/10/2022

SUMMARY

RESULTS OF APPLICATION STR IN MONITORING OF CHIMERISM FOR ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION PATIENTS AT THE NATIONAL INSTITUTE OF HEMATOLOGY AND BLOOD TRANSFUSION FROM 2018 TO 6/2022

In allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, monitoring of chimerism is the determination of the percentage of blood donor's cells in the blood recipient's cells. The technique of DNA fragment analysis combined with PCR using STRs has been the most used technique in the past two decades. This technique has been applied at the Department of Cytogenetics and Molecular Biology, National Institute of Hematology and Blood transfusion (NIHBT) to monitor chimerism for patients. **Research objective:** to evaluate the informational value of STR and its application in monitoring chimerism

in allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients. **Research subjects**: 87 hematopoietic stem cell transplant patients at the Department of Stem Cell Transplantation, NIHBT for the period 2018 – 6/2022. **Research methods:** retrospective study, case series description, convenience sampling. The samples were isolated DNA, then performed PCR amplification of 24 STR in the Globalfiler kit and capillary electrophoresis for chimerism analysis. **Results:** Of the 24 STRs used, the STR had at least 5 alleles and the highest was 25 alleles. The STRs with high frequency of use (>70%) include: D2S1338, SE33, D18S51, D12S391, D1S1656, D10S1248. The STR with the lowest frequency of use was TPOX (31%). Each recipient/donor couple has at least 6 valuable STRs to analysis chimerism. 24 STR has been applied effectively in the monitoring of chimerism on T-lymphocytes and myeloid cells.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài (GTBGTMĐL) đã mở ra một cơ hội điều trị khỏi bệnh đối với người bệnh bị mắc bệnh máu. Phương pháp chữa bệnh này đã được thực hiện thường quy tại Việt Nam và Viện HH – TM TW hiện đang dẫn đầu cả nước về số ca ghép thực hiện. Sự thành công của mỗi ca ghép được đánh giá thông qua nhiều chỉ số. Trong đó, tỷ lệ mọc mảnh ghép (chimerism) hay tỷ lệ tế bào người cho trong cơ thể người nhận là một chỉ số quan trọng, đánh giá mức độ thành công của ca ghép, hỗ trợ chẩn đoán sớm thải ghép và biến chứng. Tỷ lệ mọc mảnh ghép được xác định thông qua việc phát hiện và định lượng tỷ lệ các tế bào tạo máu có nguồn gốc từ người cho so với các tế bào tạo máu có nguồn gốc từ người nhận trong máu ngoại vi hoặc tuỷ xương (1). Mảnh ghép có thể được theo dõi bằng kỹ thuật có độ nhạy trung bình như phân tích tế bào sử dụng các kháng nguyên bề mặt tới các kỹ thuật có độ nhạy cao hơn như lai huỳnh quang tại chỗ nhiễm sắc thể giới FISH (FISH: Fluorescent In Situ Hybridization) X/Y hoặc phân tích chuyên sâu sử dụng kỹ thuật sinh học phân tử.

Với độ nhạy được báo cáo là 1 - 5%, kỹ thuật phân tích đoạn ADN trên điện di mao quản sử dụng các chỉ thị phân tử STR đã trở thành phương pháp được sử dụng phổ biến nhất trong hai thập kỷ qua và là lựa chọn của nhiều phòng xét nghiệm trên thế giới (2). Hiện nay, có nhiều bộ STR thương mại được sử dụng trong phân tích chimerism như Powerplex 16 kit, AmpFISTR Profiler SGM kit, Triplex AFS kit, Global filer kit… Các bộ xét nghiệm này thường chứa các locus đặc trưng thường dùng trong pháp y để phân biệt cá thể và được thiết kế phù hợp với tính đa dạng của các quần thể dân cư trên thế giới. Do đó, nhiều locus có ít thông tin hơn để phân tích chimerism trong một số quần thể nhất định (3).

Tại Khoa Di truyền – Sinh học phân tử (DT – SHPT) thuộc Viện HH – TM TW, chúng tôi sử dụng bộ Global filer. Bộ xét nghiệm này chứa 24 locus gồm các locus cố định dùng trong định danh cá thể và một số locus được khuyến nghị thêm như Yindel, TPOX, vWA…. Trong phân tích chimerism, thông tin các locus có giá trị theo dõi mang tính cá nhân hoá cho từng cặp ghép dựa trên các locus khác biệt giữa người hiến và người nhận tế bào gốc. Do đó, trong tất cả các trường hợp, việc lựa chọn các chỉ thị STR hay các locus có giá trị thông tin đối với từng cặp ghép rất quan trọng để đảm bảo kết quả chính xác và tin cậy. Vì vậy, chúng tôi thực hiện đề tài nghiên cứu **"Kết quả ứng dụng**

các STR trong theo dõi mọc mảnh ghép trên bệnh nhân ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài tại Viện HH – TM TW giai đoạn 2018 – 6/2022" với mục tiêu đánh giá các giá trị thông tin của các STR sử dụng và ứng dụng của STR trong theo dõi mọc mảnh ghép ở người bệnh GTBGTMĐL.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu: 87 người bệnh đã thực hiện ghép TBGTMĐL tại Khoa Ghép tế bào gốc, Viện HH – TM TW giai đoạn 2018 – 6/2022.

2.2. Phương pháp nghiên cứu: nghiên cứu hồi cứu, mô tả loạt ca bệnh và chọn mẫu thuận tiện. Mẫu máu toàn phần chống đông EDTA của người cho/người nhận trước ghép (mẫu D0) hoặc bệnh nhân sau ghép (mẫu D+) được tách bạch cầu bằng dung dịch ly giải hồng cầu, tách dòng tế bào lympho T sử dụng CD3 Microbead và tách dòng tế bào tuỷ sử dụng CD33 Microbead. Sau đó, mẫu được tách ADN tổng số bằng kit E.Z.N.A Blood DNA (Omega). Phản ứng PCR khuếch đại các STR sử dụng kit GlobalFiler (Thermo Fisher). Sản phẩm PCR được điện di mao quản trên hệ thống ABI3500 với bộ mao quản 8 kênh, 36 cm và POP-4 (Thermo Fisher). Thang chuẩn là GeneScan – 600 LIZ size standard 2.0 (Thermo Fisher). Kết quả điện di mao quản được phân tích bằng phần mềm ABI3500 và ChimerMarker. Số liệu nghiên cứu được thống kê và xử lý bằng phần mềm MS Excel và SPSS 16.0.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Thông tin chung của đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Đặc điểm về thể bệnh, giới, tuổi

Người bệnh nam nhiều hơn nữ với tỷ lệ lần lượt là 62,1% và 37,9%. Người bệnh GTGTMĐL gặp ở tất cả các lứa tuổi, trong đó tuổi lớn nhất là 62 tuổi, nhỏ nhất là 5 tuổi và tuổi trung bình là 30,40 ± 13,71. Độ tuổi trung bình của nam là 31,33 ± 13,82 và độ tuổi trung bình của nữ là 28,88 ± 13,59. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.1.

Bảng 3.1. Đặc điểm tuổi, giới tính của đối tượng nghiên cứu

Nhóm	Chung	Nam	Nữ
n	87	54	33
Tỷ lệ %	100	62,1	37,9
Tuổi trung bình (X ± SD)	30,40 ± 13,71	31,33 ± 13,82	28,88 ± 13,59

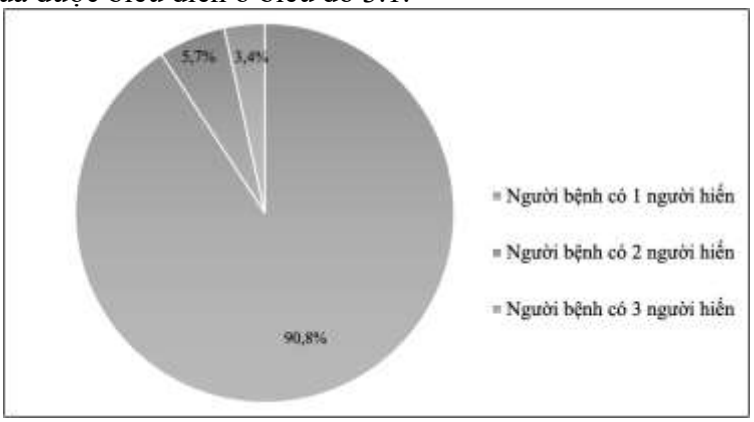
Phân bố thể bệnh gồm 67 người GTBTMĐL thuộc nhóm bệnh máu ác tính và 20 người GTBTMĐL thuộc nhóm bệnh máu lành tính. Trong nhóm bệnh máu ác tính: bệnh lơ xê mi cấp dòng tủy có 30 người chiếm tỷ lệ cao nhất (36,8%); bệnh Lơ xê mi cấp lai tủy - lympho có 1 người chiếm tỷ lệ thấp nhất (1,1%). Nhóm bệnh máu lành tính có tỷ lệ GTBGĐL cho người bệnh suy tủy xương cao hơn người bệnh tan máu bẩm sinh, lần lượt là 18,4% và 4,6%. Kết qủa cụ thể được trình bày tại bảng 3.2.

Bảng 3.2. Phân bố thể bệnh của đối tượng nghiên cứu

Thể bệnh		Số lượng (n = 87)	Tỷ lệ %
Bệnh máu ác tính	Lơ xê mi cấp dòng tuỷ	32	36,8%
	Lơ xê mi cấp dòng lympho	17	19,5%
	Lơ xê mi lai tuỷ - lympho	1	1,1%
	Hội chứng rối loạn sinh tuỷ	12	13,8%
	Hội chứng tăng sinh tuỷ	2	2,3%
	U lympho	3	3,4%
Bệnh máu lành tính	Tan máu bẩm sinh	4	4,6%
	Suy tuỷ xương	16	18,4%

3.1.2. Đặc điểm các cặp ghép

Tỷ lệ người bệnh có 1 người hiến TBGTMĐL chiếm 90,8%. Người bệnh có nhiều hơn 1 người hiến là 9,2% gồm 5,7% là người bệnh có 2 người hiến và 3,4% là người bệnh có 3 người hiến. Kết quả được biểu diễn ở biểu đồ 3.1.



Biểu đồ 3.1. Số lượng người hiến TBGTMĐL trên 1 người bệnh

Tổng số có 98 người hiến TBGTMĐL. Trong đó, 87 người là người hiến lần 1 cho người bệnh, 5 người là người hiến lần 2 và 3 người là người hiến lần 3. Nguồn hiến TBGTMĐL bao gồm 87,8% là người có quan hệ huyết thống với người bệnh, 12,2% là máu dây rốn. Kết quả được thể hiện chi tiết ở bảng 3.3.

Bảng 3.3. Nguồn hiến tế bào gốc tạo máu đồng loài

Nguồn hiến tế bào gốc tạo máu đồng loài	Người hiến có quan hệ huyết thống	Máu dây rốn
Số lượng	86	12
Tỷ lệ % (n = 98)	87,8%	12,2%

3.2. Đánh giá các STR sử dụng

3.2.1. Số lượng các alen xuất hiện trong mỗi locus STR

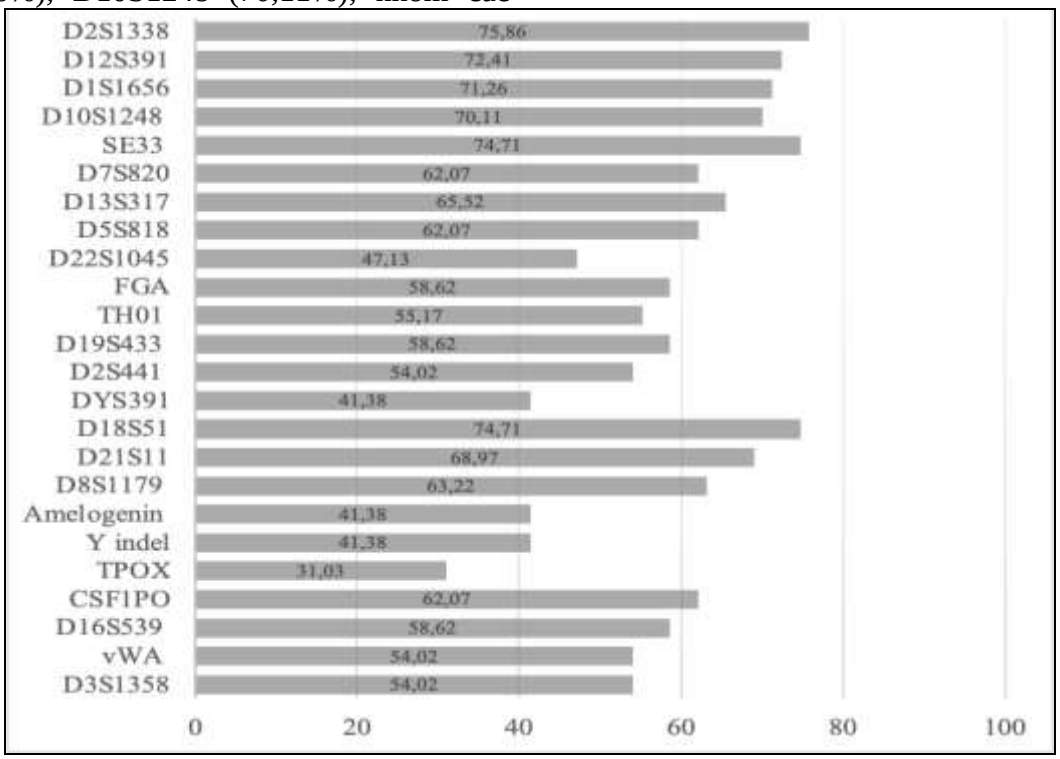
Ngoại trừ các locus xác định giới tính gồm Y indel, Amelogenin và DYS391 thì locus SE33 có số lượng alen phát hiện nhiều nhất với 25 alen, kế tiếp là D18S51 và D12S391 với 12 alen; D1S1656 có 11 alen; D21S11, FGA và D2S1338 có 10 alen; ít nhất là D3S1358 với 5 alen. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.4.

Bảng 3.4. Số lượng alen trong mỗi locus STR

TT	Locus	Số lượng alen	TT	Locus	Số lượng alen	TT	Locus	Số lượng alen
1	D3S1358	5	9	D2S441	7	17	SE33	25
2	vWA	8	10	D19S433	10	18	D10S1248	6
3	D16S539	7	11	TH01	6	19	D1S1656	11
4	CSF1PO	9	12	FGA	10	20	D12S391	12
5	TPOX	6	13	D22S1045	8	21	D2S1338	10
6	D8S1179	9	14	D5S818	7	22	Y indel	Không tính locus xác định giới tính
7	D21S11	10	15	D13S317	7	23	Amelogenin	

3.2.2. Tần suất các STR có giá trị

Trong 87 người bệnh GTBGTMĐL, các STR có giá trị dùng trong theo dõi mọc mảnh ghép có sự khác nhau về tần suất. Nhóm các locus STR có tần suất cao (>70%) gồm D2S1338 (75,86%), SE33 (74,71%), D18S51 (74,71%), D12S391 (72,41%), D1S1656 (71,26%), D10S1248 (70,11%); nhóm các locus STR có tần suất thấp (<50%) gồm TPOX (31,03%), Y indel (41,38%), Amelogenin (41,38%), DYS391 (41,38%) và D22S1045 (47,13%). Những locus STR còn lại có tần suất nằm trong khoảng từ 50% - 70%. Kết quả được biểu diễn chi tiết ở biểu đồ 3.2.



Biểu đồ 3.2. Tần suất các STR có giá trị trong phân tích chimerism

3.2.3. Số lượng các STR có giá trị

Tất cả các cặp ghép TBGTMĐL đều có ít nhất 6 STR có giá trị trong phân tích theo dõi mọc mảnh ghép. Trong đó, phần lớn các cặp ghép có từ 11 – 15 STR có giá trị thông tin (56,3%); chỉ có 6,9 % các cặp ghép TBGTMĐL có số lượng STR có giá trị phân tích theo dõi mọc mảnh ghép là từ 21 – 24. Kết quả được thể hiện ở bảng 3.5.

Bảng 3.5. Số lượng các STR có giá trị trong phân tích chimerism

Số lượng các STR có giá trị	Số cặp ghép (n = 87)	Tỷ lệ %
1 – 5	0	0,0
6 – 10	12	13,8
11 – 15	49	56,3
16 – 20	20	23,0
21 – 24	6	6,9

3.3. Đánh giá ứng dụng của các STR trong theo dõi mảnh ghép

3.3.1. Đánh giá các ca ghép TBGTMĐL

14 trường hợp người bệnh tái phát hoặc tử vong sau GTGTMĐL, gồm 5,7% bị tái phát sau ghép đang điều trị và 10,3% đã tử vong. Tuy nhiên, tỷ lệ người bệnh đang theo dõi sau ghép 1 năm vẫn chiếm tỷ lệ cao nhất là 40%. Số người bệnh còn lại đang trong giai đoạn theo dõi từ 6 tháng – 1 năm sau ghép (37,9%). Kết quả thể hiện chi tiết ở bảng 3.6.

Bảng 3.6. Kết quả các ca ghép tế bào gốc tạo máu đồng loài

	Đang theo dõi từ 6 tháng - 1 năm sau GTGTMĐL	Đang theo dõi trên 1 năm sau GTGTMĐL	Tái phát	Tử vong
Số lượng người bệnh	33	40	5	9
Tỷ lệ % (n = 87)	37,9%	46,0%	5,7%	10,3%

3.3.2. Kết quả mọc mảnh ghép của người bệnh tại các thời điểm

Trong nghiên cứu này, người bệnh được theo dõi mảnh ghép TBGTMĐL từ thời điểm 1 tháng sau GTBGTMĐL và lâu nhất là tới 36 tháng. Hầu hết người bệnh đều có kết quả mảnh ghép mọc một phần cao hoặc mọc hoàn toàn từ thời điểm 1 tháng sau ghép. Kết quả được thực hiện trên mẫu dòng tế bào lympho T và tế bào dòng tuỷ. Những trường hợp có kết quả mọc mảnh ghép mọc một phần thấp hoặc không mọc đều có hiện tượng thải ghép hoặc tái phát hoặc bị ghép chống chủ. Kết quả ứng dụng STR để theo dõi mọc mảnh ghép của người bệnh từ giai đoạn 1 tháng – 36 tháng sau GTBGTMĐL được thể hiện chi tiết tại bảng 3.7 và bảng 3.8.

Bảng 3.7. Kết quả mọc mảnh ghép qua mẫu tế bào Lympho T của những người bệnh khảo sát tại các thời điểm xét nghiệm

Thời điểm xét nghiệm sau ghép TBGTMĐL	Người bệnh có mảnh ghép mọc hoàn toàn (> 95%)		Người bệnh có mảnh ghép mọc một phần cao (từ 50 – 95%)		Người bệnh có mảnh ghép mọc một phần thấp (từ 5 – 50%)		Người bệnh có mảnh ghép không mọc (< 5%)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 tháng	56	64,37	27	31,03	2	2,30	2	2,30
3 tháng	65	80,25	12	14,81	3	3,70	1	1,23
6 tháng	75	87,21	11	12,79	0	0	0	0
9 tháng	57	87,69	8	12,31	0	0	0	0
12 tháng	54	93,10	4	6,90	0	0	0	0
18 tháng	36	90,00	4	10,00	0	0	0	0
24 tháng	21	87,50	3	12,50	0	0	0	0
30 tháng	8	88,89	1	11,11	0	0	0	0
36 tháng	11	84,62	2	15,38	0	0	0	0

Bảng 3.8. Kết quả mọc mảnh ghép qua mẫu tế bào tuỷ của những người bệnh khảo sát tại các thời điểm xét nghiệm

Thời điểm xét nghiệm sau ghép TBGTMĐL	Người bệnh có mảnh ghép mọc hoàn toàn (> 95%)		Người bệnh có mảnh ghép mọc một phần cao (từ 50 – 95%)		Người bệnh có mảnh ghép mọc một phần thấp (từ 5 – 50%)		Người bệnh có mảnh ghép không mọc (< 5%)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
1 tháng	78	90,70	6	6,98	1	1,18	1	1,16
3 tháng	75	91,46	6	7,32	1	1,23	0	0
6 tháng	76	91,57	6	7,23	1	1,22	0	0
9 tháng	55	88,71	6	9,68	1	1,64	0	0
12 tháng	53	92,98	4	7,02	0	0	0	0
18 tháng	34	87,18	5	12,82	0	0	0	0
24 tháng	23	95,83	1	4,17	0	0	0	0
30 tháng	8	88,89	1	11,11	0	0	0	0
36 tháng	12	92,31	1	7,69	0	0	0	0

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi, độ tuổi trung bình của người bệnh là 30,40 ± 13,71. Tuổi của người bệnh có liên quan tới thành công của GTBGTMĐL. Độ tuổi người bệnh càng trẻ thì hiệu quả ghép càng cao, ngược lại tuổi càng cao nguy cơ ghép chống chủ càng lớn, dẫn đến giảm khả năng sống sót (4). Nhóm bệnh được chỉ định GTBGTMĐL khá đa dạng gồm cả thể bệnh máu ác tính và thể bệnh máu lành tính. Bệnh sẽ diễn tiến nặng theo thời gian và dẫn tới tử vong nếu người bệnh không được ghép sớm. Chính vì vậy, ngoài nguồn hiến là người cùng huyết

thống gồm người hiến hoà hợp HLA và ghép nửa hoà hợp, Viện HH – TM TW còn thực hiện GTBGTMĐL trên máu dây rốn để tăng cơ hội ghép cho người bệnh.

Những năm gần đây, phương pháp kết hợp kỹ thuật PCR để khuếch đại các STR với phân tích đoạn ADN để sử dụng trong phân tích chimerism đã được ứng dụng rộng rãi và có nhiều nghiên cứu đã được báo cáo trên toàn thế giới. Nghiên cứu của chúng tôi sử dụng bộ xét nghiệm Global filer gồm 24 locus STR. Bộ xét nghiệm đã được cải tiến giúp giảm tỷ lệ nhiễu của tín hiệu, cho phép khuếch đại đồng thời và phân tách hiệu quả tất cả 24 locus trong quá trình phân tích đoạn ADN tự động. Trong 24 locus sử dụng, ngoại trừ các locus xác định giới tính, tần suất sử dụng locus TPOX là thấp nhất (31,03%). Đặc biệt, nhóm STR gồm D2S1338, SE33, D18S51, D12S391, D1S1656, D10S1248 đều có tần suất trên 70%. Đây đều là những STR có giá trị phân biệt cao và đã được công bố trong nhiều báo cáo trong nước và trên thế giới (5)(6)(7)(8)(9)(10). Các giá trị tần suất, số lượng alen trong nghiên cứu quần thể được sử dụng cho các tính toán liên quan tới chỉ số nhận dạng cá thể và chỉ số quan hệ huyết thống. Do vậy, mặc dù nghiên cứu của chúng tôi chỉ thực hiện trên những người bệnh GTBGTMĐL nhưng kết quả của nghiên cứu cũng góp phần cung cấp thêm cơ sở dữ liệu về đặc tính di truyền quần thể người Việt Nam với những đặc trưng riêng.

Các STR có giá trị dùng để theo dõi mọc mảnh ghép là những STR khác biệt giữa người cho và người nhận. Số lượng các STR có giá trị trong phân tích mảnh ghép đối với mỗi cặp người cho/ người nhận càng cao thì giá trị thông tin càng chính xác và có độ tin cậy cao. Nghiên cứu của chúng tôi thực hiện với 24 locus STR. Trong 24 locus sử dụng có 3 STR dùng để xác định giới tính là Y indel, Amelogenin và DYS391 nên các cặp ghép khác giới luôn có lợi thế hơn các cặp ghép đồng giới về các STR khác biệt là 3 STR. Kết quả của chúng tôi cho thấy không có cặp ghép nào có dưới 6 STR khác biệt. Kết quả này cao hơn nghiên cứu của Nguyễn Trần Nam An và cộng sự khi trong nghiên cứu có những cặp ghép chỉ có 1 STR khác biệt khi sử dụng 18 STR để sàng lọc (bộ xét nghiệm Power Plex 18D System) (11). Kết quả của chúng tôi cũng tương tự với Ariffin H. (2007) và Thiede C. (2004) (12)(13). Có thể nói, số lượng STR có giá trị thông tin có ý nghĩa rất lớn trong theo dõi mọc mảnh ghép TBGTMĐL. Việc sử dụng bộ xét nghiệm có 24 locus STR đã giúp tăng số lượng STR có giá trị trong theo dõi mọc mảnh ghép làm tăng tính chính xác của kết quả.

Dựa vào các STR khác biệt giữa người cho/ người nhận, mảnh ghép có thể phân tích theo hai chiều. Nếu tính theo các STR khác biệt của người cho thì kết quả chimerism sẽ phản ánh tình trạng mọc của mảnh ghép. Ngược lại, nếu phân tích theo các STR của người nhận thì kết quả sẽ cho thấy tình trạng thải ghép. Ngoài ra, trong trường hợp người bệnh có nhiều người hiến hoặc ghép phối hợp máu dây rốn và nửa hoà hợp thì kỹ thuật phân tích đoạn ADN sử dụng chính các STR khác biệt của cặp ghép sẽ cho biết chính xác mảnh ghép đang mọc là tế bào của người hiến nào. Đây chính là những ưu điểm để kỹ thuật này trở nên phổ biến trên toàn thế giới.

Mảnh ghép có thể được theo dõi trên dòng tế bào lympho T và dòng tế bào tuỷ từ giai đoạn rất sớm. Trong nghiên cứu của chúng tôi, mảnh ghép được phân tích lần đầu tại thời điểm sau ghép 1 tháng. Mảnh ghép TBGTMĐL không mọc là một trong những nguyên nhân chính của thất bại ghép. Trong

vòng 100 ngày đầu sau ghép, mảnh ghép của người bệnh được theo dõi liên tục vì giai đoạn này người bệnh dễ xảy ra biến chứng như thất bại mọc mảnh ghép, ghép chống chủ, tái phát sau ghép và virus CMV tái hoạt động. Do đó, tỷ lệ phần trăm mọc mảnh ghép trên dòng tế bào T và dòng tuỷ sẽ là một thông tin quan trọng cho bác sỹ điều chỉnh thuốc. Trong giai đoạn 3 tháng sau GTBGTMĐL, nghiên cứu của chúng tôi cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ mọc mảnh ghép hoàn toàn (chimerism >95%) giữa dòng tế bào lympho T và dòng tế bào tuỷ. Mảnh ghép theo dõi trên dòng tế bào T có sự phát triển chậm hơn so với trên dòng tuỷ có thể do tế bào lympho T đã bị suy giảm sau phác đồ điều kiện hoá nên cần thời gian hơn so với dòng tuỷ để hồi phục.

Xét nghiệm theo dõi mọc mảnh ghép bằng kỹ thuật phân tích đoạn ADN sử dụng các STR tại Khoa DT – SHPT đã được kiểm định ngoại kiểm ngay từ khi áp dụng thường quy. Kết quả này đảm bảo tính chính xác, độ tin cậy của xét nghiệm khi được sử dụng để theo dõi mọc mảnh ghép phục vụ cho người bệnh GTBGTMĐL tại Viện.

V. KẾT LUẬN

24 STR sử dụng đều có giá trị thông tin và đủ điều kiện để theo dõi mọc mảnh ghép: Về mức độ biểu hiện: Mỗi locus biểu hiện ít nhất là 5 alen (D3S1358) và cao nhất là 25 alen (SE33); Về tần suất: Các locus có tần suất xuất hiện thấp nhất là 31% (TPOX), trong đó nhóm có tần suất cao (>70%) gồm: D2S1338, SE33, D18S51, D12S391, D1S1656, D10S1248; Mỗi cặp ghép đều có ít nhất 6 STR có giá trị thông tin, thể hiện tính ưu việt của bộ xét nghiệm 24 STR trong việc để theo dõi mọc mảnh ghép TBGTMĐL. Các STR trong nghiên cứu được ứng dụng hiệu quả để theo dõi mọc mảnh ghép trên dòng tế bào lympho T và tế bào tuỷ

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Lejman M, Zaucha-Prażmo A, Zawitkowska J, Mroczkowska A, Grabowski D, Kowalczyk JR, et al.** Impact of early chimerism status on clinical outcome in children with acute lymphoblastic leukaemia after haematopoietic stem cell transplantation. BMC Cancer. 2019;19(1):4–11.
2. **Kristt D, Israeli M, Narinski R, Or H, Yaniv I, Stein J, et al.** Hematopoietic chimerism monitoring based on STRs: Quantitative platform performance on sequential samples. J Biomol Tech. 2005;16(4):378–89.
3. **Chia WC, Khoo TS, Abdul Wahid SFS, Razak NFA, Alauddin H, Raja Sabudin RZA, et al.** Multiplex STR panel for assessment of chimerism following hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). Ann Hematol. 2019;98(5):1279–91.
4. **Bình, Võ Thị Thanh; Anh, Nguyễn Vũ Bảo; Nhung, Nguyễn Thị; Khanh, Nguyễn Bá; Linh, Nguyễn Mạnh; Phương, Nguyễn Lan; Hương, Tống Thị; Thảo, Nguyễn Thị; Chiến, Nguyễn Hữu; Khánh, Bạch Quốc; Trí NA.** Kết quả ghép tế bào gốc tạo máu tại Viện Huyết học - Truyền máu Trung Ương trong 10 năm (2006-2016). Tạp chí Y học Việt Nam. 2017;453:60–9.
5. **Rodriguez JJRB, Salvador JM, Calacal GC, Laude RP, De Ungria MCA.** Allele frequencies of 23 autosomal short tandem repeat loci in the Philippine population. Leg Med [Internet]. 2015;17(4):295–7. Available

from: http://dx.doi.org/10.1016/j.legalmed.2015.02.005

6. **Nakamura Y, Samejima M, Minaguchi K, Nambiar P.** Population Genetics of Identifiler System in Malaysia. Bull Tokyo Dent Coll. 2016;57(4):233–9.
7. **Rerkamnuaychoke B, Rinthachai T, Shotivaranon J, Jomsawat U, Siriboonpiputtana T, Chaiatchanarat K, et al.** Thai population data on 15 tetrameric STR loci - D8S1179, D21S11, D7S820, CSF1PO, D3S1358, TH01, D13S317, D16S539, D2S1338, D19S433, vWA, TPOX, D18S51, D5S818 and FGA. Forensic Sci Int. 2006;158(2–3):234–7.
8. **Than KZ, Muisuk K, Woravatin W, Suwannapoom C, Srikummool M, Srithawong S, et al.** Genetic Structure and Forensic Utility of 23 Autosomal STRs of the Ethnic Lao Groups From Laos and Thailand. Front Genet. 2022;13(July):1–14.
9. **Mai, Đỗ Thị Xao; Hiệp TT.** Nghiên cứu tần suất alen 21 locus đa hình STR ở quần thể người Kinh Việt Nam. Tạp chí Y học quân sự [Internet]. 2020;1–13. Available from: http://yhqs.vn/nghien-cuu-tan-suat-alen-21-locus-da-hinh-str-o-quan-the-nguoi-kinh-viet-nam/
10. **Vu TTH, Do TTM, Nguyen TH, Luyen QH.** Allele frequencies of 23 short tandem repeat loci in the Vietnamese Kinh population. Forensic Sci Int Reports [Internet]. 2021;3(xxxx):100210. Available from: https://doi.org/10.1016/j.fsir.2021.100210
11. **An NTN.** Khảo sát các dấu ấn STR sử dụng cho phân tích chimerism trên bệnh nhân dị ghép tế bào gốc tạo máu. Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh. 2015;19(4):497–502.
12. **Ariffin H, Daud SS, Mohamed Z, Ibrahim K, Lee TF, Chong LA.** Evaluation of two short tandem repeat multiplex systems for posthaematopoietic stem cell transplantation chimerism analysis. Singapore Med J. 2007;48(4):333–7.
13. **Thiede C, Bornhäuser M, Ehninger G.** Evaluation of STR informativity for chimerism testing - Comparative analysis of 27 STR system in 203 matched related donor recipient pairs. Leukemia. 2004;18(2):248–54.