

NGHIÊN CỨU HOẠT TÍNH CHẾ TIẾT MỘT SỐ CYTOKINE QUAN TRỌNG CỦA TẾ BÀO GIẾT TỰ NHIÊN CÓ NGUỒN GỐC TỪ BỆNH NHÂN UNG THƯ TUYẾN TIỀN LIỆT

Nguyễn Ngọc Tuấn¹, Nguyễn Hoàng Phương¹, Nguyễn Trọng Phúc²,
Phùng Thế Hải¹, Hoàng Trung Kiên¹, Nguyễn Đặng Dũng¹, Đỗ Khắc Đại¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu nhằm khảo sát đặc điểm chế tiết một số cytokine quan trọng của tế bào NK có nguồn gốc từ bệnh nhân Ung thư tuyến tiền liệt (UTTTL) trong nuôi cấy và đánh giá đặc điểm chế tiết cytokine của tế bào NK khi đồng nuôi cấy với tế bào dòng UTTTL. **Phương pháp nghiên cứu:** tế bào NK được phân lập từ máu ngoại vi của các bệnh nhân có chẩn đoán UTTTL. Tế bào NK sau đó được nuôi cấy tăng sinh, dịch nổi môi trường nuôi cấy được thu hoạch để đánh giá khả năng chế tiết của tế bào. Tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh cũng được đồng nuôi cấy với tế bào dòng UTTTL (PC3) và thu hoạch dịch nổi môi trường tại các thời điểm để đánh giá hoạt tính chế tiết của tế bào. **Kết quả:** Nồng độ các cytokine IFN- γ , TNF- α và GM-CSF có hệ số tăng trung bình lần lượt là 1,9 lần, 2,7 lần và 4,5 lần. Khi đồng nuôi cấy với tế bào PC3, định lượng nồng độ cytokine có trong dịch nổi môi trường cho thấy có sự thay đổi có ý nghĩa tại thời điểm 24 giờ so với 6 giờ và 0 giờ. **Kết luận:** Có sự tăng chế tiết cytokine của tế bào NK trong nuôi cấy và khi đồng nuôi cấy với tế bào dòng UTTTL.

Từ khóa: Tế bào NK; ung thư tuyến tiền liệt; nuôi cấy NK; hoạt tính chế tiết.

SUMMARY

RESEARCH ON THE SECRETORY ACTIVITY OF KEY CYTOKINES IN NATURAL KILLER CELLS FROM PROSTATE CANCER PATIENTS

Objectives: The study aimed to investigate the key cytokines secretion characteristics of natural killer (NK) cells from prostate cancer (PCa) patients using in vitro culture and to assess these characteristics when NK cells are co-cultured with PCa cell lines. **Methods:** NK cells were isolated from the peripheral blood of PCa patients. These cells were cultured and expanded, and the culture supernatant was collected to evaluate cytokine secretion capabilities. Expanded NK cells were then co-cultured with the PCa cell line (PC3), and the supernatant was harvested at various time points to assess cytokine secretion activity. **Results:** The concentrations of the cytokines IFN- γ , TNF- α , and GM-CSF exhibited average fold increases of 1.9, 2.7, and 4.5, respectively. The cytokine concentrations in the co-culture supernatant showed significant changes at

24 hours compared to 6 hours and 0 hours. **Conclusion:** NK cell cytokine levels significantly increased during the expansion process and when NK cells were co-cultured with a prostate cancer cell line.

Keywords: NK cells; Prostate cancer; NK cell culture; Secretion activity.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Liệu pháp miễn dịch tế bào NK tự thân điều trị ung thư cho đến nay đã có rất nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng như tại Việt Nam [1,2,3,4]. Liệu pháp được thực hiện bằng việc nuôi cấy tăng sinh và hoạt hoá tế bào NK phân lập từ máu ngoại vi của bệnh nhân ung thư, sau đó có thể được truyền lại cho chính bệnh nhân đó để điều trị ung thư. Có rất nhiều phương pháp nuôi cấy tăng sinh và hoạt hoá tế bào NK, mỗi phương pháp sử dụng một quy trình và bộ kit nuôi cấy tăng sinh chuyên biệt [1,2,3,4,5]. Để kiểm định kết quả nuôi cấy, các trung tâm thường công bố hoạt tính của tế bào NK sau nuôi cấy gián tiếp thông qua hiệu lực gây độc trực tiếp tế bào dòng ung thư nào đó. Trong khi đó về mặt kinh điển, tế bào NK có hai chức năng chính trong cơ thể người là chức năng gây độc và chức năng chế tiết cytokine. Vậy câu hỏi được đặt ra là trong quá trình nuôi cấy, tế bào NK chế tiết những cytokine quan trọng nào (những cytokine có vai trò chính trong tiêu diệt tế bào ung thư như IFN- γ , TNF- α , GM-CSF) vào môi trường nuôi cấy (MTNC) và nếu tế bào NK ở dạng sản phẩm cuối của quá trình nuôi cấy tăng sinh, chúng có tiếp tục chế tiết những cytokine đó không và mức độ chế tiết ra sao khi tiếp xúc với tế bào đích là tế bào ung thư? Trên thế giới cũng như tại Việt Nam có rất ít các báo cáo khoa học nào giải đáp đầy đủ về đặc điểm chế tiết cytokine của tế bào NK trong quá trình nuôi cấy tăng sinh, cũng như trong quá trình đồng nuôi cấy với tế bào ung thư. Xuất phát từ cơ sở lý luận và thực tiễn trên, chúng tôi tiến hành đề tài nhằm mục tiêu:

- Khảo sát đặc điểm chế tiết một số cytokine quan trọng của tế bào NK ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt

- Đánh giá đặc điểm chế tiết một số cytokine quan trọng của tế bào NK khi đồng nuôi cấy với tế bào dòng ung thư tuyến tiền liệt

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Phụ sản Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Khắc Đại

Email: dokhacdai@vmmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 9.8.2024

Ngày phản biện khoa học: 17.9.2024

Ngày duyệt bài: 14.10.2024

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

1. Đối tượng nghiên cứu

*Đối tượng nghiên cứu: 10 mẫu máu của bệnh nhân có chẩn đoán xác định là UTTTL (khoa Ngoại tiết niệu, Bệnh viện K – cơ sở Tân Triều). Bệnh nhân không mắc các bệnh ung thư khác đi kèm, không điều trị hoá xạ trị trong vòng 3 tháng và không có bằng chứng nhiễm trùng được lựa chọn nghiên cứu, bệnh nhân được giải thích về lợi ích cũng như rủi ro có thể có trong quá trình thực hiện và đồng ý tự nguyện tham gia nghiên cứu.

* Địa điểm và thời gian nghiên cứu: Bộ môn Miễn dịch – Học viện Quân y, từ tháng 12/2023 đến tháng 6/2024

2. Phương pháp nghiên cứu

* Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm trên mẫu tế bào NK của bệnh nhân UTTTL đã được chẩn đoán xác định bằng lâm sàng và cận lâm sàng, chưa qua bất kỳ phương pháp điều trị nào. Đánh giá đặc điểm chế tiết cytokine của tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh và đồng nuôi cấy với tế bào dòng UTTTL PC3.

* Cỡ mẫu và chọn mẫu:

- Nghiên cứu không tính toán cỡ mẫu, mẫu được thu thập tối đa trong thời gian nghiên cứu; trong đó, mẫu đạt tiêu chuẩn về lựa chọn bệnh nhân (có chẩn đoán xác định UTTTL về mặt giải phẫu bệnh) được thu thập để phân tích.

- Thu thập mẫu: 6ml máu tĩnh mạch, chống đông EDTA, bảo quản nhiệt độ phòng, chuyển về labo nuôi cấy trước 3 giờ.

* Các bước tiến hành:

- Phân lập tế bào NK từ máu ngoại vi của bệnh nhân UTTTL: tách quần thể bạch cầu đơn nhân thông qua phương pháp tách theo gradient tỷ trọng sử dụng Ficoll. Quần thể tế bào NK sẽ được tách từ quần thể PBMCs kể trên bằng bộ kit tách tế bào NK sử dụng hạt từ tính (bead) có gắn kháng thể của hãng Miltenyi Biotec.

- Nuôi cấy tăng sinh và hoạt hoá tế bào NK: sử dụng bộ kit KBM của hãng Kohjin Bio. Các thời điểm thu hoạch tế bào kiểm tra độ tinh sạch và tỷ lệ tế bào sống là D4 (ngày thứ 4, là thời điểm tế bào được tách khỏi MTNC sơ cấp, được rửa và chuyển vào MTNC thứ cấp) và D14 (ngày thứ 14, là thời điểm kết thúc quy trình nuôi cấy). Thời điểm thu hoạch dịch nổi định lượng cytokine là D5 (ngày thứ 5) và D14. Trước khi thu hoạch dịch nổi, tế bào pha được pha loãng bằng MTNC thứ cấp đến nồng độ $1,0 \times 10^6$ tế bào/ml.

- Đồng nuôi cấy NK với tế bào dòng ung thư: Tế bào đích/Tế bào dòng UTTTL PC3 được nuôi cấy trong môi trường DMEM (Gibco Life

Technologies), bổ sung 10% huyết thanh bào thai bò (FBS, Londa). Thu hoạch tế bào bằng cách sử dụng dung dịch tách tế bào khỏi đáy chai nuôi cấy (Accutase) sau đó rửa tế bào bằng dung dịch RPMI + 10% FBS bằng ly tâm ở tốc độ 300g trong 5 phút. Tế bào được đếm bằng cách sử dụng loại thuốc nhuộm xanh trypan, đếm trên máy đếm tế bào (tỷ lệ sống sót đạt > 95% được sử dụng làm tế bào đích). Tế bào NK sau chu kỳ nuôi cấy trưởng diễn được thu hoạch, hoàn nguyên trong môi trường RPMI, được đếm và được pha loãng đến nồng độ $1,0 \times 10^6$ tế bào/ml. Tỷ lệ đồng nuôi cấy NK với tế bào PC3 là 5:1. Các thời điểm thu hoạch dịch nổi đồng nuôi cấy là 0 giờ, 6 giờ và 24 giờ.

- Phương pháp xét nghiệm và kiểm tra: để khảo sát số lượng tế bào NK, tỷ lệ sống và độ tinh sạch (trước và sau nuôi cấy tăng sinh), chúng tôi thực hiện một số phương pháp như quan sát qua kính hiển vi điện tử, máy đếm tế bào hoặc phương pháp đếm tế bào dòng chảy với yếu tố (marker) định danh NK là CD45+CD3-CD56+. Để đánh giá đặc điểm chế tiết của tế bào NK (trước và sau nuôi cấy tăng sinh, khi đồng nuôi cấy) chúng tôi sử dụng phương pháp xét nghiệm định lượng cytokine bằng máy Luminex với bộ kit Cytokine 20-Plex Human Panel.

***Phân tích dữ liệu:** Các số liệu được nhập và xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel 2021, thống kê phân tích sử dụng Paired T-test để so sánh giá trị trung bình.

3. Đạo đức nghiên cứu. Nghiên cứu sử dụng mẫu thuộc đề tài "Nghiên cứu kiểu hình miễn dịch và hiệu quả tăng sinh tế bào NK ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt có hoạt tính NK thấp" đã được Hội đồng Đạo đức. Học viện Quân y chấp thuận ngày 04/10/2022; số: 02/2022/CNChT-HĐĐĐ. Chúng tôi cam kết không có xung đột lợi ích trong nghiên cứu.

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN

1. Đặc điểm tăng sinh của tế bào NK ở bệnh nhân ung thư tuyến tiền liệt trước và sau nuôi cấy. Xuất phát từ cơ sở lý luận tế bào NK khi được nuôi cấy tăng sinh độc lập trong MTNC ưu thế sẽ tăng trưởng và phát triển mạnh mẽ tạo ra quần thể tế bào NK được tăng cường cả số lượng và chức năng. Để khảo sát số lượng tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh, chúng tôi tiến hành kiểm định độ tinh sạch, tỷ lệ sống và số lượng tế bào tại hai thời điểm D4 và D14.

Bảng 1. So sánh số lượng tế bào D4 và D14

Chỉ số	Thời điểm		Hệ số tăng/giảm	p
	D4	D14		
Số	$2,0 \times 10^6$	$2,5 \times 10^8 \pm$	$125,5 \pm$	<0,001

lượng	$\pm 0,0$	$1,4 \times 10^8$	53,8	
Độ tinh sạch	$88,5 \pm 8,0$	$85,3 \pm 7,4$	0,9	$> 0,05$
Tỉ lệ sống	$99 \pm 0,0$	$95,5 \pm 0,5$	0,9	$> 0,05$

Dữ liệu tại Bảng 1 cho thấy mẫu tế bào NK đã phân lập được của các bệnh nhân UTTTL có số lượng tế bào ở D14 trung bình là $2,5 \times 10^8 \pm 1,4 \times 10^8$, hệ số tăng sinh quần thể tế bào trung bình là $125,5 \pm 53,8$ lần, trong khi đó độ tinh sạch và tỉ lệ tế bào sống gần như không có sự thay đổi giữa D14 so với D4. Số lượng tế bào đếm được sau khi phân lập tại thời điểm D14 của quá trình nuôi cấy khi so với thời điểm D4 có sự gia tăng mạnh, sự khác biệt này mang ý nghĩa thống kê $p < 0,001$. Trong khi đó độ tinh sạch và tỉ lệ tế bào sống tại thời điểm D14 so với D4 lại không có sự thay đổi với $p > 0,05$.

So sánh với một số mô hình nuôi cấy tăng sinh tế bào NK của các tác giả khác [1, 2, 3, 4, 5], chúng tôi nhận thấy có một số điểm khác biệt như số lượng tế bào sau nuôi theo phương pháp mà chúng tôi áp dụng, khi kết thúc quá trình nuôi cấy có hệ số tăng sinh tế bào thấp hơn so với một số quy trình khác nhưng lại có độ tinh sạch cao tương đương với các phương pháp nuôi cấy sử dụng tế bào NK đơn thuần. Điều này có thể giải thích thông qua một số giả thiết như sau.

Thứ nhất, quy trình nuôi cấy chúng tôi thực hiện diễn ra trong 14 ngày, đa số các quy trình nuôi cấy đều có thời gian dài hơn, từ 15 – 21 ngày. Thứ hai, số lượng tế bào sử dụng để nuôi cấy được quy chuẩn với số lượng là 2×10^6 tế bào, trong khi một số tác giả khác sử dụng số lượng tế bào để nuôi cấy với thông số khác nhau. Thứ ba, một số tác giả sử dụng các tế bào trung chuyển (feeder cell) như tế bào PBMCs chiếu xạ, tế bào k562, ... là những tế bào có tác dụng đồng kích thích tế bào NK tăng sinh mạnh mẽ hơn so với các phương pháp truyền thống dùng cytokine hoặc không có tế bào trung chuyển [4, 7]. Tuy nhiên phương pháp này có nhược điểm là trong MTNC tồn tại các tế bào trung chuyển vốn là các tế bào bị biến đổi gen – các tế bào ung thư, tuy có vai trò rất lớn trong kích thích tăng sinh quần thể tế bào NK nhưng thiếu an toàn khi ứng dụng trên lâm sàng do chưa có phương pháp loại bỏ hoàn toàn các tế bào này khi kết thúc quy trình nuôi cấy, dẫn tới nguy cơ truyền những tế bào này vào trong cơ thể bệnh nhân. Thứ tư, một số tác giả sử dụng trực tiếp PBMCs, bao gồm cả quần thể tế bào NK và quần thể tế bào Lympho T, NKT [2, 5, 7]. Các quần thể tế bào này có nhiều đặc điểm chung nên khi được nuôi trong MTNC, số lượng tế bào

Lympho T và NKT cũng được tăng sinh.

Ưu điểm trong phương pháp nghiên cứu của chúng tôi là sử dụng mô hình nuôi cấy truyền thống nhưng vẫn đạt độ tinh sạch tế bào cao, đạt số lượng tế bào đầu vào tốt với tỉ lệ sống là 99% cùng với số lượng tế bào tăng sinh dồi dào (trung bình đạt $2,5 \times 10^8 \pm 1,4 \times 10^8$ tế bào, hệ số tăng sinh trung bình đạt $125,5 \pm 53,8$ lần) trong thời gian ngắn (14 ngày), phù hợp sử dụng nghiên cứu và ứng dụng trên lâm sàng.

2. Đặc điểm chế tiết một số cytokine quan trọng của tế bào NK trước - sau nuôi cấy và mối tương quan của hệ số tăng sinh tế bào với sự tăng chế tiết cytokine. Qua quá trình xử lý và phân tích mẫu, chúng tôi nhận thấy có sự thay đổi nồng độ một số cytokine quan trọng của tế bào NK là IFN- γ , TNF- α , GM-CSF [6] trong MTNC (dữ liệu được thể hiện tại Bảng 2). Cụ thể nồng độ các cytokine IFN- γ , TNF- α , GM-CSF đều tăng lên có ý nghĩa ($p < 0,05$). Như vậy có thể thấy xu hướng tăng lên của các cytokine điển hình do tế bào NK chế tiết như IFN- γ , TNF- α và GM-CSF trong MTNC tại thời điểm D14 khi so với thời điểm D5 trong quá trình nuôi cấy độc lập. Chúng tôi tế bào NK của bệnh nhân UTTTL khi được nuôi cấy tăng sinh trong điều kiện thích hợp có thể tăng sinh về cả số lượng và chức năng (bảng 1, 2), cụ thể khả năng chế tiết của chúng được cải thiện và tăng cường.

Bảng 2. Giá trị trung bình nồng độ các cytokine IFN- γ , TNF- α , GM-CSF trong MTNC tại thời điểm D5 và D14 của tế bào NK các bệnh nhân UTTTL (đơn vị: pg/ml)

Cytokine	D5	D14	Hệ số tăng	p
IFN-γ	$1973,1 \pm 1381,7$	$3800,9 \pm 4038,2$	1,93	$< 0,05$
TNF-α	$42,7 \pm 17,7$	$113,4 \pm 56,8$	2,66	$< 0,05$
GM-CSF	$339,9 \pm 250,3$	$1526,4 \pm 911,3$	4,49	$< 0,05$

Chúng tôi đã tiến hành tham khảo mô hình nghiên cứu nuôi cấy tăng sinh tế bào NK của các tác giả khác tại Việt Nam cũng như trên thế giới [1, 2, 3, 4], nhận thấy rằng phần lớn các mô hình nghiên cứu đều tập trung vào đánh giá các đặc điểm của tế bào NK sau khi được nuôi cấy độc lập như hệ số tăng sinh của tế bào, số lượng tế bào sau nuôi cấy hoặc tỷ lệ tinh sạch của tế bào. Trong khi đó không có nhiều kết quả về nghiên cứu đặc điểm chế tiết của tế bào NK sau nuôi cấy cùng với đó là hoạt tính chế tiết của các tế bào này khi được đồng nuôi cấy với tế bào ung thư. Các nghiên cứu này cũng tập trung vào đánh giá tế bào NK được nuôi cấy tăng sinh độc

lập trên cả đối tượng là người khỏe mạnh hoặc đối tượng là các bệnh nhân ung thư nhưng chưa thể hiện năng lực của tế bào NK khi được đồng nuôi cấy với tế bào ung thư. Chỉ có duy nhất nghiên cứu của Evren Alici có khảo sát khả năng chế tiết cytokine TNF- α sau nuôi cấy [5]. Vì vậy nghiên cứu này vẫn cần thêm những công trình nghiên cứu tương tự khác đối chứng và kết quả của chúng tôi có giá trị tham khảo cho các nghiên cứu khoa học về khả năng chế tiết của tế bào NK sau nuôi cấy tăng sinh.

Trong nghiên cứu này, cytokine TNF- α có nồng độ trong MTNC tăng lên từ $42,7 \pm 17,7$ pg/ml tại thời điểm D5 đến $113,4 \pm 56,8$ pg/ml tại thời điểm D14. So sánh với nghiên cứu của Evren Alici, mô hình nghiên cứu này sử dụng trực tiếp PBMCs làm tế bào nuôi cấy với quy trình là 20 ngày nuôi cấy. Kết quả là hệ số tăng sinh của quần thể tế bào NK trong nghiên cứu này đạt tới 1625 lần, tuy nhiên độ tinh sạch tế bào chỉ đạt 65%. Một trong những cytokine để khảo sát hoạt tính tế bào NK là TNF- α cũng được tác giả Evren Alici định lượng được thông qua bộ kit ELISA, nồng độ cytokine TNF- α trong MTNC trên 7 bệnh nhân: tại ngày nuôi cấy 0 có giá trị trung bình là 2,1 pg/ml (0,9 – 4,8 pg/ml) và tại ngày nuôi cấy thứ 20 có giá trị trung bình là 18,2 pg/ml (4,2 – 40,6 pg/ml). Nghiên cứu của chúng tôi thể hiện một số ưu điểm khi chúng tôi sử dụng tế bào NK CD56⁺CD3⁻ cho nghiên cứu giúp cho tăng độ tinh sạch của tế bào và định lượng cytokine trong MTNC cho kết quả khách quan hơn. Ngoài ra với thời gian nuôi cấy ngắn hơn, hệ số tăng sinh thấp hơn nhưng nồng độ cytokine TNF- α định lượng được cao hơn, điều này chứng minh rằng quy trình có những điểm cải tiến phù hợp giúp cho tối ưu hóa khả năng nuôi cấy tăng sinh tế bào và tăng cường khả năng chế tiết của tế bào NK.

3. Đánh giá hoạt tính chế tiết một số cytokine quan trọng của tế bào NK trong đồng nuôi cấy với tế bào dòng UTTTL PC3.

Trên thực tế để có thể đánh giá năng lực tế bào NK của bệnh nhân UTTTL sau nuôi cấy tăng sinh cần phải sử dụng một dòng tế bào UTTTL để kiểm chứng. Ở đây chúng tôi sử dụng tế bào PC3 cho mô hình nghiên cứu này. Chúng tôi tiến hành đánh giá kết quả đồng nuôi cấy tại 3 thời điểm khác nhau là thời điểm đồng nuôi cấy 0 giờ, 6 giờ và 24 giờ. Các thời điểm này có ý nghĩa trong khảo sát hoạt tính chế tiết cytokine của tế bào NK khi chúng được hoạt hóa bởi các tế bào PC3 và làm cơ sở dữ liệu để xác định khoảng thời gian cần thiết cho khảo sát chức năng chế tiết của tế bào NK.

Bảng 3. Định lượng nồng độ các cytokine IFN- γ , TNF- α , GM-CSF trong môi trường đồng nuôi cấy NK với PC3 tại các thời điểm khác nhau (đơn vị: pg/ml)

Cytokine	Nồng độ	0 giờ	6 giờ	24 giờ
TNF- α	0 giờ	$25,7 \pm 11,0$		< 0,05
	6 giờ	$59,1 \pm 37,3$	< 0,05	
	24 giờ	$60,5 \pm 21,8$	> 0,05	
IFN- γ	0 giờ	$222,3 \pm 158,9$		< 0,05
	6 giờ	$337,1 \pm 172,6$	< 0,05	
	24 giờ	$558,9 \pm 509,4$	> 0,05	
GM-CSF	0 giờ	$43,6 \pm 18,1$		< 0,05
	6 giờ	$135,8 \pm 65,2$	< 0,05	
	24 giờ	$219,5 \pm 120,8$	< 0,05	

So sánh khả năng chế tiết cytokine IFN- γ , TNF- α , GM-CSF trung bình tại 3 thời điểm đánh giá, chúng tôi nhận thấy: Thời điểm 6 giờ với thời điểm 0 giờ đồng nuôi cấy: có sự tăng lên về khả năng chế tiết cả 3 cytokine quan trọng của tế bào NK là có ý nghĩa thống kê. Thời điểm 24 giờ với thời điểm 6 giờ đồng nuôi cấy: có sự tăng lên về khả năng chế tiết cytokine IFN- γ , TNF- α của tế bào NK nhưng không có ý nghĩa thống kê. Còn nồng độ của GM-CSF tăng lên có ý nghĩa. Thời điểm 24 giờ với thời điểm 0 giờ đồng nuôi cấy: Có sự tăng lên về khả năng chế tiết cả 3 cytokine của tế bào NK có ý nghĩa thống kê.

Khi tế bào NK tiếp cận và phát hiện ra tế bào ung thư, chúng sẽ tấn công tế bào đích bằng nhiều cơ chế, trong số đó là khả năng chế tiết cytokine. Các tế bào NK tiết ra một tập hợp các cytokine, trong đó bao gồm những cytokine quan trọng là GM-CSF, IFN- γ , TNF- α . Từ kết quả Bảng 3, có thể thấy trong 6 giờ đầu tiên đồng nuôi cấy, định lượng các cytokine có liên quan đến tế bào NK đều tăng lên có ý nghĩa với $p < 0,05$. Như vậy có thể thấy nồng độ các cytokine liên quan đến tế bào NK định lượng được trong quá trình đồng nuôi cấy tại thời điểm đồng nuôi cấy 6 giờ tăng lên so với thời điểm 0 giờ. Điều này cho thấy tế bào NK sau nuôi cấy khi tiếp xúc với tế bào PC3 đã được hoạt hóa và có những đáp ứng miễn dịch tấn công tế bào PC3 bằng các cơ chế khác nhau bao gồm chế tiết các cytokine. Tuy nhiên tại thời điểm đồng nuôi cấy 24 giờ so với thời điểm 6 giờ chỉ có sự tăng lên của cytokine GM-CSF là có ý nghĩa, trong khi các cytokine IFN- γ và TNF- α thì lại không có sự khác biệt. Kết quả này cho thấy các cytokine chính của tế bào NK đều có sự gia tăng trong quá trình đồng nuôi cấy nhưng mức độ và thời điểm không hoàn toàn giống nhau.

Sự thay đổi nồng độ cytokine định lượng được trong môi trường đồng nuôi cấy tại các thời điểm khác nhau gợi ý về thời điểm đạt nồng độ

đỉnh của các cytokine do tế bào NK chế tiết, để xác định chính xác thời điểm đạt đỉnh cần có thêm nghiên cứu chi tiết hơn. Trong nghiên cứu này đã chỉ ra ba thời điểm đánh giá có giá trị khảo sát thời gian hoạt hóa và chế tiết của tế bào NK khi đồng nuôi cấy với tế bào ung thư. Qua đó có thêm dữ liệu tham khảo cho các mô hình nghiên cứu khảo sát hoạt tính chế tiết cytokine của tế bào NK khi đồng nuôi cấy với tế bào ung thư. Ngoài ra tế bào NK tấn công tế bào đích bằng nhiều cơ chế khác nhau, từ những dữ liệu này có thể xác định các thời điểm phù hợp để khảo sát các cơ chế hoạt động khác của tế bào NK.

V. KẾT LUẬN

Mô hình nuôi cấy tăng sinh nghiên cứu sử dụng có hệ số tăng sinh trung bình đạt $125,5 \pm 53,8$ lần, có độ tinh sạch và tỷ lệ tế bào sống cao, phù hợp cho nghiên cứu và ứng dụng trên lâm sàng. Sau khi tiến hành thực hiện định lượng một số cytokine quan trọng của tế bào NK có trong môi trường tại các thời điểm của quá trình nuôi cấy và đồng nuôi cấy chúng tôi nhận thấy:

- Đặc điểm chế tiết một số cytokine quan trọng (GM-CSF, IFN- γ , TNF- α) của tế bào NK của bệnh nhân UTTTL tại thời điểm kết thúc nuôi cấy (D14) so với tại thời điểm bắt đầu nuôi cấy (D5) tăng có ý nghĩa.

- Hoạt tính chế tiết một số cytokine quan trọng của tế bào NK sau khi đồng nuôi cấy với tế

bào dòng UTTTL PC3 tăng lên có ý nghĩa, thời điểm đạt nồng độ đỉnh của các cytokine không hoàn toàn giống nhau.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Mira M Shenouda, Amy Gillgrass, Tina Nham., et al. 2017; Ex vivo expanded natural killer cells from breast cancer patients and healthy donors are highly cytotoxic against breast cancer cell lines and patient-derived tumours. Breast Cancer Res., 19(1):76.
2. Trần Mai Linh, Nguyễn Quý Linh, Trần Văn Khánh và cs. 2020; Nuôi cấy hoạt hóa, tăng sinh tế bào nk trên bệnh nhân ung thư phổi không tế bào nhỏ. Tạp chí nghiên cứu Y học., (138):2.
3. Minh-Trang Thi Phan, Seung-Hwan Lee, Sang-Ki Kim., et al. 2016; Expansion of NK Cells Using Genetically Engineered K562 Feeder Cells. Methods Mol Biol., 1441:167-74.
4. Janine E. Melsen, Maria Themeli, Monique M. van Ostaïjen-Ten Dam., et al. 2020; Protocol for Isolation, Stimulation and Functional Profiling of Primary and iPSC-derived Human NK Cells. Bio Protoc., 10(23): e3845.
5. Alici, E., Sutlu, T., Björkstrand, B., Gilljam, M., et al. 2008; Autologous antitumor activity by NK cells expanded from myeloma patients using GMP-compliant components. Blood, The Journal of the American Society of Hematology, 111(6), 3155-3162.
6. Du, N., Guo, F., Wang, Y., & Cui, J. 2021; NK cell therapy: a rising star in cancer treatment. Cancers, 13(16), 4129.
7. Lapteva, N., Szmania, S. M., van Rhee, F., & Rooney, C. M. 2014; Clinical grade purification and expansion of natural killer cells. Critical Reviews™ in Oncogenesis, 19(1-2).

ĐÁNH GIÁ SỰ HÀI LÒNG CỦA BỆNH NHÂN VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ LIÊN QUAN VỀ SỬ DỤNG THUỐC NHỎ MẮT SAU PHẪU THUẬT ĐỤC THỦY TINH THỂ

Doãn Anh Minh Thế¹, Trần Văn Đệ², Dương Tây Y³

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Thuốc nhỏ mắt có vai trò chống viêm, kiểm soát nhãn áp và ngăn ngừa nhiễm trùng sau phẫu thuật đục thủy tinh thể. Việc đánh giá sự hài lòng và các yếu tố liên quan khi sử dụng thuốc nhỏ mắt là cơ sở để xuất các biện pháp cải thiện sự tuân thủ điều trị cho bệnh nhân sau giai đoạn phẫu thuật.

Mục tiêu: Đánh giá sự hài lòng của bệnh nhân và một số yếu tố liên quan về sử dụng thuốc nhỏ mắt

sau phẫu thuật đục thủy tinh thể tại Bệnh viện Mắt – Da liễu Cà Mau. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 99 bệnh nhân phẫu thuật đục thủy tinh thể tại Bệnh viện Mắt – Da liễu Cà Mau năm 2023. **Kết quả:** Độ tuổi trung bình là $63,92 \pm 7,85$ tuổi. Tỷ lệ nữ/nam = 1,3. Hầu hết bệnh nhân sử dụng nhiều loại thuốc nhỏ mắt sau phẫu thuật (96,9%). Đa số có kiến thức (78,8%) và kỹ năng (81,9%) sử dụng thuốc nhỏ mắt. Tỷ lệ bệnh nhân hài lòng về việc sử dụng thuốc nhỏ mắt sau phẫu thuật đục thủy tinh thể là 75,8%. Trong đó, các bệnh nhân có kiến thức và kỹ năng sử dụng thuốc nhỏ mắt có liên quan đến tỷ lệ hài lòng cao hơn, với OR lần lượt là 4,4 (KTC 95%: 1,49-12,97; p = 0,008) và 4,16 (KTC 95%: 1,48-11,68; p = 0,007). Tương tự, những bệnh nhân không thiếu sự hỗ trợ từ gia đình cũng có xu hướng hài lòng trong sử dụng thuốc nhỏ mắt cao hơn, với OR = 2,91 (KTC 95%: 1,0-8,42; p = 0,046). **Kết luận:** Khoảng ¾ bệnh nhân hài lòng về việc sử dụng thuốc nhỏ mắt sau phẫu thuật đục thủy

¹Bệnh viện Mắt Thành phố Hồ Chí Minh

²Trường Đại học Y Dược Cần Thơ

³Bệnh viện Mắt – Da liễu Cà Mau

Chịu trách nhiệm chính: Doãn Anh Minh Thế

Email: drminhthe@gmail.com

Ngày nhận bài: 8.8.2024

Ngày phản biện khoa học: 17.9.2024

Ngày duyệt bài: 14.10.2024