

$\pm 8,9$ ngày, ngắn nhất là 6 ngày, dài nhất là 35 ngày. Kết quả này của một số tác giả trong nước là: Vũ Văn Quang (2018) $10,7 \pm 3,4$ ngày [4], Trịnh Quốc Đạt (2019) $10,4 \pm 3,1$ ngày [6].

V. KẾT LUẬN

Phẫu thuật cắt gan phải theo giải phẫu điều trị ung thư biểu mô tế bào gan là phương pháp an toàn và hiệu quả nếu thực hiện ở trung tâm phẫu thuật chuyên khoa.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **IARC G** (2020), "Cancer fact sheet: Liver cancer incidence and mortality worldwide".
2. **Takasaki K** (2007), Glissonean pedicle transection method for hepatic resection, Springer Science & Business Media.
3. **Lê Văn Thành** (2013), "Nghiên cứu chỉ định và kết quả phẫu thuật cắt gan kết hợp phương pháp Tôn Thất Tùng và Lortat Jacob trong điều trị ung thư biểu mô tế bào gan", Luận án tiến sĩ Y học - Đại học Quân Y.
4. **Vũ Văn Quang** (2019), "Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật kiểm soát cuống Glisson theo Takasaki trong cắt gan điều trị ung thư biểu mô tế bào gan

- tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108", Luận án tiến sĩ Y học.
5. **Lee C-W, Tsai H-I, Sung C-M, et al** (2016), "Risk factors for early mortality after hepatectomy for hepatocellular carcinoma", *Medicine*, 95 (39).
 6. **Trịnh Quốc Đạt** (2019), "Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật kiểm soát chọn lọc cuống Glisson trong cắt gan điều trị ung thư tế bào gan", Luận án Tiến sĩ Y học - Đại học Y Hà Nội.
 7. **Karamarković A, et al** (2016), "Suprahilar Control of Glissonean Pedicle in the Open Anatomic Liver Resections: A Single Centre Experience", *Journal of Digestive Cancer Reports*, 4 (2), pp. 113-121.
 8. **Yoon Y-I, Kim K-H, Kang S-H, et al** (2017), "Pure laparoscopic versus open right hepatectomy for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis", *Annals of surgery*, 265 (5), pp. 856-863.
 9. **Nanashima A, Abo T, Hamasaki K, et al** (2013), "Predictors of intraoperative blood loss in patients undergoing hepatectomy", *Surgery today*, 43 (5), pp. 485-493.
 10. **Curley S A, Barnett Jr C C, Abdalla E K, et al** (2017), "Surgical management of potentially resectable hepatocellular carcinoma", *Monografia en Internet* [In: Ashley SW, Tanabe KK, editors UpToDate Waltham (MA): UpToDate.

ĐÁNH GIÁ HIỆU QUẢ CỦA KỸ THUẬT TIÊM TINH TỬ TRONG ĐIỀU TRỊ VÔ SINH CHO NAM GIỚI VÔ TINH KHÔNG DO BẾ TẮC

Tăng Kim Hoàng Văn^{1,4}, Lý Thái Lộc¹, Đặng Thị Huyền¹,
Mai Bá Tiến Dũng², Lê Đình Hiếu³,
Hoàng Thị Diễm Tuyết¹, Nguyễn Văn Thuận⁴

TÓM TẮT

Đặt vấn đề: Khoảng 1% nam giới mắc chứng vô tinh, tinh trạng không có tinh trùng khi xuất tinh. Vô tinh không do tắc nghẽn (NOA), ảnh hưởng đến 60% bệnh nhân vô tinh, là dạng vô tinh nam nghiêm trọng nhất và cần phải phẫu thuật mô tinh hoàn để tìm tinh trùng. Tỷ lệ tìm thấy tinh trùng thành công chỉ là 50%, điều đó cũng có nghĩa là 50% nam giới còn lại không có cơ hội làm cha sinh học. Vì vậy, nhiều nghiên cứu đã cố gắng sử dụng tinh tử để tiêm vào bào tương trứng, chẳng hạn như tiêm tinh tử tròn (ROSI) hoặc tiêm tinh tử kéo đuôi (ELSI), để mang lại hy vọng thụ tinh và mang thai. Tinh tử là tinh trùng chưa trưởng thành nhưng đã hoàn thành giảm phân II và chứa bộ gen đơn bội như tinh trùng trưởng thành.

Mục tiêu: Đánh giá khả năng thụ tinh và mang thai của kỹ thuật tiêm tinh tử vào bào tương trứng ở nam giới không có tinh trùng trưởng thành. **Phương pháp:** Các cặp vợ chồng vô sinh do yếu tố nam, trong đó chồng mắc NOA và kết quả sinh thiết mô tinh hoàn không có tinh trùng trưởng thành nhưng có tinh tử sẽ được tư vấn tham gia nghiên cứu. Nhóm can thiệp là ROSI và ELSI. Kết quả đo lường chính là tỷ lệ thụ tinh, khả năng tạo phôi, tỷ lệ thai lâm sàng và trẻ sinh sống. **Kết quả:** Tổng cộng có 66 chu kỳ ROSI, 5 chu kỳ ELSI được thực hiện. Tỷ lệ thụ tinh với sự hình thành 2 tiền nhân (2PN) của ROSI, ELSI lần lượt là 35,1% và 64,5%. Tỷ lệ có thai lâm sàng của ROSI là 1,3%, thấp hơn nhiều so với ELSI (37,5%). Tuy nhiên, cả 2 nhóm đều có thai và trẻ sinh sống bình thường. **Kết luận:** ROSI và ELSI có thể xem như là phương pháp điều trị vô sinh thay thế cho nam giới không có tinh trùng. **Từ khoá:** Tinh tử tròn, Tinh tử kéo đuôi, tinh trùng non, ROSI, ELSI, vô sinh nam không do bế tắc, NOA

SUMMARY

THE EFFECTIVENESS OF SPERMATID INJECTION IN INFERTILITY TREATMENT FOR MEN WITH NON-OBSTRUCTIVE AZOOSPERMIA

¹Bệnh viện Hùng Vương, Tp HCM

²Bệnh viện Bình Dân, Tp.HCM

³Đại học Y khoa Phạm Ngọc Thạch. TP.HCM

⁴Đại học Quốc tế, Đại học Quốc gia Việt Nam

Chịu trách nhiệm chính: Tăng Kim Hoàng Văn

Email: tangkimhoangvan@gmail.com

Ngày nhận bài: 17.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 18.12.2023

Ngày duyệt bài: 13.01.2024

Background and aim: About 1% of men suffer from azoospermia, a condition of having no sperm in the ejaculate. Non-obstructive azoospermia, which affects 60% of azoospermia patients, is the most severe form of male infertility and requires testicular sperm extraction for sperm retrieval. Despite a 50% success rate, if no mature sperm is found, NOA men have no choice to become biological fathers. To overcome this, researchers have attempted to use spermatid injection techniques, such as round spermatid injection (ROSI) or elongating/elongated spermatid injection (ELSI), to give hope for pregnancy. Spermatids are immature sperm that have completed the second meiotic division and contain a haploid genome as mature spermatozoa. This cohort study aimed to evaluate the effectiveness of ROSI and ELSI in cases where spermatozoa were unavailable.

Method: Couples with male factor infertility (men diagnosed with NOA) underwent IVF cycles. The intervention group received ROSI and ELSI. The primary outcome measures were fertilization, embryo development, clinical pregnancy, and live birth rate.

Results: There were sixty-six ROSI and five ELSI cycles. The overall fertilization rate with the formation of two pronuclei after ROSI and ELSI was 35.1% and 64.5%, respectively. The clinical pregnancy rate of ROSI was 1.3%, much lower than ELSI (37.5%). Normal pregnancy and live birth were obtained in both groups.

Conclusion: ROSI and ELSI can be considered alternative methods of infertility treatment in cases where spermatozoa are unavailable.

Keywords: Round Spermatid Injection, Elongated Spermatid Injection, Elongating Spermatid Injection, Non-Obstructive Azoospermia, ROSI, ELSI, NOA

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Nam giới trong độ tuổi sinh sản cung cấp khoảng 210 triệu tinh trùng mỗi lần xuất tinh [1]. Tuy nhiên, có khoảng 1% dân số nam không có tinh trùng trong tinh dịch, được định nghĩa là vô tinh (Azoospermia) [2]. Trong các loại vô tinh, vô tinh không do tắc nghẽn (NOA-Non Obstructive Azoospermia) là dạng biểu hiện nghiêm trọng nhất của vô sinh nam và ảnh hưởng đến khoảng 60% nam giới bị vô tinh [3]. Nam giới mắc NOA cần phải sinh thiết mô tinh hoàn để tìm tinh trùng (TESE, microTESE). Tinh trùng thu nhận từ mô tinh hoàn có khả năng thụ tinh và phát triển phôi bình thường, cũng như tạo ra con cái khỏe mạnh với kỹ thuật tiêm tinh trùng vào bào tương noãn (ICSI – Intra Cytoplasmic Sperm Injection) [4]. Tuy nhiên, chỉ có 47% đàn ông NOA được tìm thấy tinh trùng sau thủ thuật TESE, microTESE [3]. Trên 50% nam giới mắc NOA còn lại chỉ có 2 lựa chọn: xin tinh trùng từ người hiến tặng hoặc xin con nuôi. Vì vậy, con sinh ra cũng sẽ không mang đặc điểm di truyền của người cha. Để giải quyết vấn đề này, nhiều nghiên cứu sử dụng tinh tử tròn (RS-Round Spermatid) hoặc tinh tử kéo đuôi

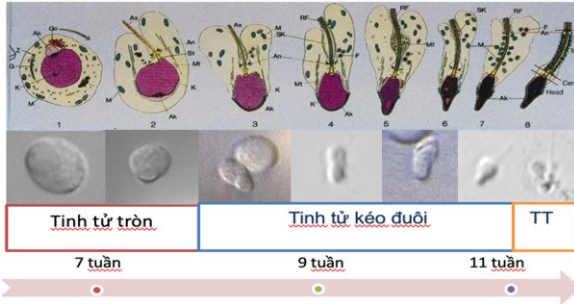
(ELS – Elongating Spermatid) tiêm trực tiếp vào tế bào trứng để mang lại hy vọng thụ tinh và mang thai, phương pháp này được gọi là ROSI (Round Spermatid Injection – tiêm tinh tử tròn) hoặc ELSI (Elongating Spermatid Injection – Tiêm tinh tử kéo đuôi) [5]. Tinh tử là những tế bào sinh tinh chưa trưởng thành, tuy nhiên đã hoàn thành giảm phân II và chứa bộ gen đơn bội tương tự như tinh trùng trưởng thành. Tinh tử được tìm thấy ở khoảng 30% nam giới NOA không có tinh trùng trên microTESE [6]. Ở giai đoạn đầu, tiêm tinh tử ở người được thực hiện trong các mẫu nhỏ và có kết quả khác nhau với tỷ lệ thành công thấp. So với tinh tử dài, việc nhận biết tinh tử tròn khó hơn và do đó kết quả của ROSI cũng thấp hơn so với ELSI. Vào năm 2015, Tanaka và cộng sự [6] đã báo cáo tỷ lệ thành công của kỹ thuật ROSI ở quy mô lớn và chứng minh rằng em bé được sinh ra từ ROSI không có sự khác biệt so với em bé được thụ thai tự nhiên. Do đó, chúng tôi mong muốn áp dụng ELSI và ROSI tại Việt Nam dựa trên những thành tựu gần đây trên thế giới.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Đối tượng nghiên cứu. Nghiên cứu đoàn hệ được thực hiện tại Khoa Nam học, bệnh viện Bình Dân và Khoa Hiếm muộn Bệnh viện Hùng Vương từ tháng 01 năm 2020 đến tháng 12 năm 2022. Tiêu chuẩn chọn mẫu là các cặp vợ chồng vô sinh do yếu tố nam, chồng đã được thăm khám và chẩn đoán mắc NOA, vợ có kết quả thăm khám bình thường và dưới 35 tuổi, cả 2 vợ chồng đồng ý ký đồng thuận tham gia vào nghiên cứu.

Phương pháp nghiên cứu. 63 cặp vợ chồng bị vô sinh do yếu tố nam (chồng không có tinh trùng nhưng có tinh tử) thực hiện 71 chu kỳ IVF. Việc kích thích rụng trứng được thực hiện bằng cách sử dụng phác đồ ngăn antagonist thông thường tương tự GnRH và hMG. Sinh thiết tinh hoàn được thực hiện trước hoặc vào ngày chọc hút trứng. Tinh tử được thu nhận sẽ được thực trữ đông hoặc tiến hành tiêm vào trứng ngay ngày chọc hút. Tinh tử được phân thành bốn loại dựa trên hình dạng, số lượng tế bào chất và kích thước đuôi: tinh tử tròn (Sa, Sb1), tinh tử đang kéo đuôi (Sb2), đã kéo đuôi (Sc, Sd1), kéo đuôi hoàn toàn (Sd2) và tinh trùng trưởng thành⁷ (Hình 1). Tất cả các trường hợp tiêm tinh tử thì trứng đều được hoạt hoá bằng hoá chất Ionomycin (5 µmol/l) (MP Biomedicals) trong 15 phút sau khi tiêm hoàn tất. Việc đánh giá thụ tinh và chất lượng phôi theo tiêu chuẩn thường quy dựa trên đồng thuận Vienna về đánh giá thụ

ting và chất lượng phôi. Kết quả đo lường là tỷ lệ thụ tinh, khả năng tạo phôi, tỷ lệ thai lâm sàng và trẻ sinh sống.



Hình 3: Các dạng tinh tử dùng trong nghiên cứu

Nguồn: Hình vẽ Tanaka và cộng sự, 2015 [6].
Hình tinh tử: nhóm nghiên cứu

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 1 mô tả đặc điểm bệnh nhân nam tham gia vào nghiên cứu. Chúng tôi thu thập thông tin đặc điểm nền (tuổi, thể tích tinh hoàn), tiền sử bệnh, hàm lượng nội tiết tố, rối loạn di truyền và kết quả giải phẫu bệnh trước đó. Trong đó, 85% (53/63) bệnh nhân đã được sinh thiết tinh hoàn trước khi tham gia nghiên cứu. Hầu hết bệnh nhân có tinh tử đều có thể tích tinh hoàn nhỏ hơn và nồng độ FSH cao hơn giới hạn bình thường.

Bảng 1: Đặc điểm nam giới mắc NOA tham gia nghiên cứu

Thông số	Loại tế bào sinh tinh		
	ELS (N=4)	ROS (N=59)	Tổng (N = 63)
Tuổi (năm), M (SD)	36,0 (3,5)	33,9 (5,0)	34,1 (4,9)
Thể tích tinh hoàn (cm³), M (SD)	5,7 (2,5)	6,3 (2,7)	6,3 (2,7)
Định lượng nội tiết, M (SD)			
• Estradiol (iu/l)	31,0 (18,7)	31,6 (24,4)	31,6 (24,0)
• FSH (iu/l)	13,1 (9,8)	17,0 (10,3)	16,8 (10,2)
• LH (iu/l)	4,9 (1,4)	8,6 (4,7)	8,4 (4,6)
• Testosterol (ng/l)	3,9 (1,7)	6,4 (5,6)	6,3 (5,4)
Tiền sử bệnh, n (%)			
• Quai bị	0 (0)	8 (13,8)	8 (12,9)
• Tinh hoàn ẩn	1 (25,0%)	0	1 (1,6)
Bất thường di truyền, n (%)			
• Hội chứng Jacob	1 (25,0)	0 (0)	1 (1,6)
• AZFc	2 (50,0)	16 (27,1)	18 (29,0)
Histopathological patterns, n (%)			
• Sinh tinh nửa chừng	2 (50,0)	19 (32,2)	21 (33,9)
• Hội chứng chỉ có tế bào Sertoli	1 (25,0)	27 (45,8)	28 (45,2)
• Thoái hoá hyalin	0 (0)	1 (1,7)	1 (1,6)

Kết quả tiêm tinh tử vào bào tương trứng được thể hiện tóm tắt ở bảng 2. Tỷ lệ thụ tinh (2PN) chung của tinh tử là 38,1%, trong đó ELSI có tỷ lệ 72,5% cao gấp 2 lần so với ROSI 35,0%. Tương tự với các thông số nuôi cấy phôi: tỷ lệ phôi phôi hữu dụng ngày 3 và ngày 5, ELSI cũng cho kết quả tốt hơn ROSI. Về mặt tỷ lệ thai, có

Ghi chú: ELS: tinh tử kéo đuôi; ROS: tinh tử tròn tổng cộng 9 cas có thai sinh hoá trong 85 chu kỳ chuyển phôi chiếm tỷ lệ 10,6%, với ELSI là 37,5% (3/11) và ROSI là 3,9% (3/77). Tuy nhiên, trong 3 trường hợp có thai từ ROSI, chỉ 1 trường hợp đi đến kết quả sinh sống. Mặc dù vậy, kỹ thuật tiêm tinh tử đều sinh ra trẻ khoẻ mạnh với tỷ lệ sinh sống là 4,7% (4/85)

Bảng 2: Kết quả IVF thụ tinh ống nghiệm từ kỹ thuật ELSI, ROSI

Thông số	ELSI		ROSI		Tổng	
	n	%	n	%	n	%
Tổng số chu kỳ	5		66		71	
Tuổi chồng, M (SD)	36,0 (3,5)		33,9 (5,0)		24,1 (4,9)	
Tuổi vợ, M (SD)	30,6 (2,6)		30,6 (3,9)		30,6 (3,7)	
Số trứng thu được	103		1144		1247	
Số trứng được tiêm	62		552		614	
Thụ tinh (2PN)	40	64,5	194	35,1	234	38,1
Phôi	39	62,9	186	33,7	324	52,8

Phôi hữu dụng ngày 3	29	72,5	185	63,8	214	64,8
Phôi nuôi ngày 3 lên ngày 5	30		75		105	
Phôi hữu dụng ngày 5	9	30,0	6	8,0	15	14,3
Phôi tốt ngày 3	11	37,9	52	28,1	63	29,4
Phôi tốt ngày 5	5	55,6	5	83,3	10	66,7
Phôi trữ đông ngày 3	4		85		89	
Phôi trữ đông ngày 5	9		5		14	
Chu kỳ chuyển phôi	8		77		85	
Tổng phôi được chuyển	11		152		163	
Thai sinh hoá	3	37,5	3	3,9	9	10,6
Thai lâm sàng	3	37,5	1	1,3	4	4,7
Thai diễn tiến	3	37,5	1	1,3	4	4,7
Thai sinh sống	3	37,5	1	1,3	4	4,7

IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu báo cáo tổng hợp năm 2002, Sousa và cộng sự [7] đánh giá kỹ thuật ROSI không hiệu quả về mặt lâm sàng, với tỷ lệ thụ tinh và thai lâm sàng lần lượt là 21,8% và 2,8%, thấp hơn đáng kể so với ELSI (48,4% và 28,9%). Số liệu nghiên cứu được công bố lớn nhất về ROSI là của nhóm tác giả Tanaka với lần lượt 14 em bé ra đời năm 2015 và 90 bé năm 2018 [8]. Nhóm tác giả thấy rằng tỷ lệ thụ tinh sau khi áp dụng ROSI cho 86 bệnh nhân nữ là 76,4%, và tỷ lệ thai là 16,2%. Sau đó 2 năm, một báo cáo tổng quan hệ thống và phân tích gộp của Hanson và cộng sự [5] cho thấy tỷ lệ thụ tinh và thai trung bình của ROSI lần lượt là 38,7% và 3,7%. Tại Việt Nam, chúng tôi là nhóm nghiên cứu đầu tiên công bố nghiên cứu về kết quả tiêm tinh tử vào bào tương trứng. Với tỷ lệ thụ tinh là 38,1%, tỷ lệ thai là 3,8% qua 85 chu kỳ chuyển phôi, chúng tôi là một trong những nhóm nghiên cứu có số liệu công bố mới nhất và lớn nhất sau nghiên cứu của Tanaka.

Để việc ứng dụng kỹ thuật tiêm tinh tử rộng rãi hơn, trước hết cần có những cải tiến về việc nhận diện tinh tử. Ngoài ra, di truyền học biểu sinh cũng là vấn đề cần quan tâm. Kishigami và các đồng nghiệp [9] đã tìm thấy các kiểu methyl hóa khác biệt giữa tinh trùng tròn so với tinh trùng trưởng thành. Tinh trùng mặc dù có nhiễm sắc thể đơn bội giống tinh trùng, nhưng nhân được đóng gói bằng protein histone, trong khi nhân của tinh trùng được đóng xoắn cực đại nhờ protamine. Minh và cộng sự [10] đã sử dụng một chất ức chế histone deacetylase có tên là "Scriptaid" để ức chế quá trình methyl hoá điển hình được quan sát thấy trong quá trình tương tác với tế bào trứng của tinh trùng, có thể cải thiện sự hình thành phôi và sinh sống. Do đó, vẫn còn chỗ cần cải thiện kỹ thuật bày trong thời gian tới để cho phép những người đàn ông

không có tinh trùng trở thành cha sinh học.

V. KẾT LUẬN

Mặc dù có những giới hạn về tỷ lệ thành công hay an toàn của trẻ sinh ra từ tiêm tinh tử, kỹ thuật này vẫn hứa hẹn mở ra cơ hội làm cha sinh học cho những bệnh nhân vô tinh nhưng từ chối xin tinh trùng từ người khác hay xin con nuôi.

VI. KIẾN NGHỊ

Đây là nghiên cứu đầu tiên tại 1 trung tâm duy nhất tại Việt Nam. Chúng ta cần thực hiện với cỡ mẫu lớn hơn để có cái nhìn chi tiết hơn về hiệu quả của kỹ thuật này.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Vander Borcht, M. and C. Wyns**, Fertility and infertility: Definition and epidemiology. *Clinical biochemistry*, 2018. 62: p. 2-10.
2. **Esteves, S.C., R. Miyaoka, and A. Agarwal**, An update on the clinical assessment of the infertile male. *Clinics*, 2011. 66(4): p. 691-700.
3. **Achermann, A.P., T.A. Pereira, and S.C. Esteves**, Microdissection testicular sperm extraction (micro-TESE) in men with infertility due to nonobstructive azoospermia: summary of current literature. *International Urology and Nephrology*, 2021. 53(11): p. 2193-2210.
4. **Corona, G., et al.**, Sperm recovery and ICSI outcomes in men with non-obstructive azoospermia: a systematic review and meta-analysis. *Human reproduction update*, 2019. 25(6): p. 733-757.
5. **Hanson, B.M., et al.**, Round spermatid injection into human oocytes: a systematic review and meta-analysis. *Asian Journal of Andrology*, 2021. 23(4): p. 363.
6. **Tanaka, A., et al.**, Fourteen babies born after round spermatid injection into human oocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2015. 112(47): p. 14629-14634.
7. **Sousa, M., et al.**, Predictive value of testicular histology in secretory azoospermic subgroups and clinical outcome after microinjection of fresh and frozen-thawed sperm and spermatids. *Human Reproduction*, 2002. 17(7): p. 1800-1810.
8. **Tanaka, A., et al.**, Ninety babies born after

round spermatid injection into oocytes: survey of their development from fertilization to 2 years of age. *Fertility and Sterility*, 2018. 110(3): p. 443-451.

9. **Kishigami, S., et al.**, Epigenetic abnormalities of the mouse paternal zygotic genome associated with microinsemination of round spermatids. *Developmental biology*, 2006. 289(1): p. 195-205.

10. **Minh, N., et al.** Histone Deacetylase Inhibitor Corrects Histone H3K9 Modification in Round Spermatid DNA at the 2-Cell Stage and Increases the Development of ROSI Embryos. in 6th International Conference on the Development of Biomedical Engineering in Vietnam (BME6) 6. 2018. Springer.

ĐÁNH GIÁ KHẢ NĂNG LY GIẢI CÁC DÒNG TẾ BÀO UNG THƯ CD19(+) CỦA LIỆU PHÁP ĐIỀU TRỊ KẾT HỢP TẾ BÀO CAR-T VỚI KHÁNG THỂ ĐƠN DÒNG ỨC CHẾ PD-1 TRÊN THỰC NGHIỆM

Nguyễn Thị Hiền Hạnh^{1,2}, Cán Văn Mão¹, Ngô Thu Hằng¹, Đặng Thùy Linh¹, Bùi Khắc Cường¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Đánh giá khả năng ly giải các dòng tế bào ung thư CD19(+) của liệu pháp điều trị kết hợp tế bào CAR-T CD19 với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 trên thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** Đây là một nghiên cứu tiền cứu thực nghiệm. Tế bào ung thư Daudi, Raji (CD19+) hoặc K562 (CD19-) (target, nhuộm CFSE) được đồng nuôi cấy với tế bào PBMC, CAR-T (effector) theo tỷ lệ 1:2, 1:5, 1:10. Kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 điều trị với nồng độ 20µg/mL. Sau 6 tiếng đồng nuôi cấy, tế bào được nhuộm 7AAD và phân tích bằng máy flowcytometry để đánh giá tỷ lệ tế bào sống chết. **Kết quả:** Tế bào CAR-T và CAR-T kết với với kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 có tác dụng ly giải tế bào ung thư CD19+. Nhóm kết hợp CAR-T+PD-1 không làm tăng tỷ lệ ly giải tế bào Daudi nhưng tăng tỷ lệ ly giải tế bào Raji 1,82 lần khi tỷ lệ Raji/CAR-T= 1:10 (p<0.001). Hiệu quả của CAR-T đơn và kết hợp khác biệt không nhiều so với PBMC trên tế bào ung thư có CD19(-). **Kết luận:** Tế bào CAR-T CD19 có tác dụng ly giải các dòng tế bào ung thư Daudi và Raji (CD19+). Liệu pháp CAR-T kết hợp kháng thể đơn dòng ức chế PD-1 làm tăng 1,82 lần hiệu quả ly giải trên tế bào Raji.

Từ khóa: CAR-T, PD-1, CD19(+), Daudi, Raji

SUMMARY

EVALUATING THE LYTIC EFFECTS OF CAR-T CELLS COMBINED WITH AN ANTI-PD-1 MONOCLONAL ANTIBODY IN VITRO

Objective: Evaluating the lytic efficacy of combination therapy of CD19-targeted CAR-T cells with anti-PD-1 monoclonal antibody on CD19(+) cancer cell lines in vitro. **Methods:** This is an experimentally prospective study. Daudi, Raji (CD19+)

or K562 (CD19-) cancer cells (target, CFSE stained) were co-cultured with PBMC, CAR-T cells (effector) at a ratio of 1:2, 1:5, 1: 10. Anti-PD-1 monoclonal antibody was used at concentration of 20µg/mL. After 6 hours of co-culture, cells were stained with 7AAD and analyzed on a flowcytometry system to evaluate the ratio of live and dead cells. **Results:** CAR-T cells and CAR-T cells combined with anti-PD-1 monoclonal antibody had lytic effect on CD19+ cancer cells. The CAR-T+ anti-PD-1 combination treatment did not increase lysis rate on Daudi cells but increased lysis rate 1.82 times on Raji cell when the Raji/CAR-T ratio= 1:10 (p <0.001). The effectiveness of CAR-T or CAR-T combined with anti-PD-1 were not much different compared to PBMC on cancer cells with CD19(-). **Conclusion:** CAR-T cells and CAR-T cells combined with anti-PD-1 monoclonal antibody had lytic effect on CD19+ cancer cells. The combination therapy of CAR-T cells and anti-PD-1 monoclonal antibody increased lysis rate 1.82 times on Raji cells.

Keywords: CAR-T, PD-1, CD19(+), Daudi, Raji

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Lơ xê mi là một nhóm bệnh máu ác tính, có tỷ lệ tử vong cao liên quan đến việc sản xuất quá nhiều bạch cầu chưa trưởng thành hoặc bất thường. Tuy nhiên nếu phát hiện sớm thì có thể điều trị được. Hóa trị liệu là liệu pháp điều trị lơ xê mi phổ biến nhất ở nước ta hiện nay. Tuy nhiên, hiệu quả điều trị của liệu pháp này còn hạn chế, các bệnh nhân sau khi điều trị theo phương pháp này thường không lui bệnh hoàn toàn và tỷ lệ tái phát cao. Khi đó, ghép tế bào gốc tạo máu là lựa chọn duy nhất, nhưng phương pháp này gặp nhiều khó khăn như tìm kiếm mẫu tế bào gốc hòa hợp HLA, kỹ thuật phức tạp và chi phí cao [1]. Gần đây, liệu pháp CAR-T được phát triển, đánh giá và ghi nhận các kết quả khả quan. Liệu pháp tế bào CAR-T hướng đích thụ thể CD19 có nhiều kết quả đáng khích lệ trong điều trị lơ xê mi cấp dòng lympho. Cho đến nay, FDA đã phê duyệt sử dụng 6 liệu

¹Học viện Quân y

²Bệnh viện Quân y 103, Học viện Quân y

Chịu trách nhiệm chính: Bùi Khắc Cường

Email: buikhacuong@gmail.com

Ngày nhận bài: 21.11.2023

Ngày phản biện khoa học: 19.12.2023

Ngày duyệt bài: 23.01.2024