

KHẢO SÁT SỰ HIỆN DIỆN CỦA KHÁNG THỂ KHÁNG HLA Ở CÁC BỆNH NHÂN THEO DÕI THẢI GHEP

Trần Văn Bảo¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Khảo sát sự hiện diện của kháng thể kháng HLA (Anti-HLA antibodies) ở những người nhận tạng được chẩn đoán theo dõi thải ghép.

Đối tượng và phương pháp: Mô tả cắt ngang-hồi cứu 09 người nhận tạng được chẩn đoán theo dõi thải ghép tại Bệnh viện Chợ Rẫy từ tháng 6/2015 đến tháng 8/2017.

Kết quả: Trong 09 người nhận tạng được chẩn đoán theo dõi thải ghép, tỷ lệ nam chiếm đa số (77,78%), các đối tượng nghiên cứu tập trung ở độ tuổi từ 25-44 tuổi (55,56%), 6 trường hợp có sự hiện diện hoặc thay đổi kháng thể kháng HLA; 3 trường hợp còn lại không có sự hiện diện của kháng thể trước và sau ghép tạng. Cả 9 trường hợp đều được xét nghiệm độ chéo âm tính trước và sau ghép. Tỷ lệ tương hợp HLA giữa người cho và nhận tạng trước ghép tập trung ở tỷ lệ 3/6 (55,56%) và cùng huyết thống.

Kết luận: Bước đầu nhận thấy kháng thể kháng HLA hiện diện hoặc thay đổi ở những người nhận tạng có chẩn đoán thải ghép (55,56%), ngay cả trên những đối tượng có độ tương hợp HLA và hoà hợp về mặt miễn dịch giữa người cho và nhận tạng. Xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA là một xét nghiệm cần thiết để giúp bác sĩ điều trị đánh giá chính xác tình trạng miễn dịch của bệnh nhân trước ghép tạng và đặc biệt phát huy hiệu quả trong theo dõi các trường hợp thải ghép cấp và tối cấp.

Từ khóa: Kháng thể kháng HLA (Anti-HLA antibodies); PRA (Panel Reactive Antibody).

ABSTRACT

STUDY ON PRESENCE OF ANTI-HLA ANTIBODIES IN RECIPIENTS DIAGNOSED GRAFT FAILURE

Tran Van Bao¹

Objective: Follow up the presence of anti-HLA antibodies in recipients diagnosed graft failure. **Subjects and methods:** Retrospective, descriptive study on 09 organ recipients diagnosed graft failure at Cho Ray Hospital from June, 2015 to August, 2017. **Results:** Among 09 organ recipients, there were 6 recipients had presence or change on anti-HLA antibodies and 3 rest recipients did not have antibody at prior and post transplantation. The cross-matching tests were recorded negative at prior and post transplantation for all cases above. The correlations on HLA between recipients and donors were almost recorded at 3/6. **Conclusion:** Preliminary noted that there was presence or change on anti-HLA antibodies in organ recipients at prior and post transplantation. Although these recipients had correlation on HLA and negative results on cross-matching tests between donors and recipients. Anti-HLA bodies identification was considered an essential test to follow up the graft failure.

Key words: Anti-HLA antibodies; Panel Reactive Antibody (PRA).

1. Trung tâm Truyền máu- Bệnh viện Chợ Rẫy TP HCM
- Ngày nhận bài (Received): 08/9/2017; Ngày phản biện (Revised): 2/10/2017;
 - Ngày đăng bài (Accepted): 31/10/2017
 - Người phản hồi (Corresponding author): Trần Văn Bảo
 - Email: tranvanbao178@yahoo.com; ĐT: 0903978845

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ghép tạng là giải pháp hiệu quả nhất trong các giải pháp thay thế chức năng của các cơ quan nội tạng[5], [6], [10]. Nhằm đảm bảo sự thành công của ca ghép và giúp mảnh ghép tồn tại trong cơ thể người nhận thì việc tiến hành các xét nghiệm về miễn dịch ghép như định danh kháng nguyên bạch cầu người (HLA: Human Leukocyte Antigen) của người cho-nhận tạng; xét nghiệm độ chéo để xác định sự hoà hợp về mặt miễn dịch giữa người cho-nhận tạng; xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA ở người nhận tạng....là một chỉ định bắt buộc. Tuy nhiên, hiện tượng thải ghép vẫn xảy ra ở một số trường hợp không mong muốn Theo y văn, có rất nhiều nguyên nhân dẫn đến hiện tượng thải ghép, trong đó nguyên nhân do bất đồng miễn dịch giữa kháng nguyên và kháng thể là một trong những nguyên nhân chủ yếu. Do vậy, việc theo dõi sự hiện diện hoặc thay đổi của kháng thể kháng HLA (Anti-HLA antibodies) sau ghép ở người nhận tạng là một xét nghiệm quan trọng, cần thiết để giúp các bác sĩ điều trị có thể đánh giá mức độ thải ghép và đưa ra hướng điều trị thích hợp.

Chúng tôi tiến hành đề tài nghiên cứu này với mục tiêu sau: Khảo sát sự hiện diện của kháng thể kháng HLA ở người nhận tạng được chẩn đoán theo dõi thải ghép tại Bệnh viện Chợ Rẫy.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Đối tượng nghiên cứu

09 người nhận tạng được chẩn đoán theo dõi thải ghép từ tháng 6/2015 đến tháng 8/2017.

2.2. Vật liệu và thuốc thử

Mẫu thử: 03ml huyết thanh và 50ml máu toàn phần của người cho và người nhận tạng.

Bộ sinh phẩm định danh kháng thể kháng HLA bằng PRA của Onelamda (LABScreen PRA: LS1PRA cho lớp I và LS2PRA cho lớp 2).

Bộ sinh phẩm xét nghiệm độ chéo bằng kỹ thuật vi độc tế bào lympho có sự hiện diện của bề mặt (CDC).

Phần mềm hỗ trợ phân tích kết quả HLA Fusion 3.0 và hệ thống phân tích kết quả LABScan 100.

2.3. Phương pháp nghiên cứu

Mô tả cắt ngang-hồi cứu.

Mẫu huyết thanh được xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA với sinh phẩm PRA bằng kỹ thuật pha rắn – công nghệ Luminex. Đồng thời thực hiện kiểm tra kết quả độ chéo giữa người cho và nhận tạng.

Hiện nay, chúng tôi đang sử dụng kỹ thuật pha rắn-công nghệ Luminex để định danh kháng thể kháng HLA bằng cách phát hiện kháng thể có phản ứng với HLA lớp I và II biết trước được gắn trên hạt bead (PRA: Panel Reactive Antibody) với thiết kế một hay một số kháng nguyên bạch cầu đã biết trước được gắn lên một hạt bead. Kết quả được xử lý trên phần mềm hỗ trợ phân tích kết quả HLA Fusion 3.0 và hệ thống phân tích LABScan 100.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

3.1.1. Đặc điểm về giới tính

Bảng 1: Đặc điểm về giới tính

Stt	Giới tính	n	%
1	Nam	7	77,78
2	Nữ	2	22,22
	Tổng cộng	09	100

Tỷ lệ nam trong nghiên cứu chiếm đa số (77,78%).

3.1.2. Đặc điểm về độ tuổi

Bảng 2: Đặc điểm về độ tuổi

Stt	Độ tuổi	n	%
1	>18	01	11,11
2	18-24	01	11,11
3	25-44	05	55,56
4	45-60	02	22,22
	Tổng cộng	09	100

Đối tượng nghiên cứu tập trung nhiều ở độ tuổi từ 25 đến 44 (55,56%).

3.2. Kết quả nghiên cứu

3.2.1. Kết quả độ tương hợp HLA giữa người cho và người nhận trước ghép

Bảng 3. Kết quả tương hợp HLA giữa người cho và người nhận trước ghép

Stt	Độ tương hợp HLA (Locus Dr; B và A)	n	%	Quan hệ
1	Phù hợp 1/6	01	11,11	Không cùng huyết thống
2	Phù hợp 2/6	01	11,11	Không cùng huyết thống
3	Phù hợp 3/6	05	55,56	Huyết thống
4	Phù hợp 4/6	02	22,22	Huyết thống
	Tổng cộng	09	100	

Tỷ lệ phù hợp HLA giữa người cho và nhận tạng 3/6 chiếm đa số (55,66%) và có quan hệ huyết thống.

3.2.2. Kết quả độ chéo giữa người cho và người nhận trước và sau ghép

Bảng 4. Kết quả độ chéo giữa người cho và người nhận trước và sau ghép

Stt	Độ chéo	Trước ghép		Sau ghép	
		n	%	n	%
1	Âm tính	09	100	09	100
2	Dương tính	00	0	00	0
	Tổng cộng	09	100	09	100

100% các trường hợp đều có kết quả độ chéo âm tính trước và sau ghép.

3.2.3. Kết quả kháng thể kháng HLA của người nhận trước và sau ghép

Bảng 5. Kết quả kháng thể kháng HLA của người nhận trước và sau ghép

Stt	Kháng thể kháng hla	Trước ghép		Sau ghép	
		n	%	n	%
1	Có kháng thể kháng HLA	04	44,44	05	55,56
2	Không có kháng thể kháng HLA	05	55,56	04	44,44
	Tổng cộng	09	100	09	100

Có sự thay đổi về sự hiện diện của kháng thể kháng HLA trước và sau ghép tạng.

3.2.4. Kết quả theo dõi sự thay đổi kháng thể kháng HLA trước và sau ghép

Bảng 6. Kết quả theo dõi sự thay đổi kháng thể kháng HLA trước và sau ghép

Stt	Trường hợp	Trước ghép		Sau ghép	
		Kháng thể	% PRA	Kháng thể	% PRA
1	Trường hợp 1	A2; B57; Cw14; A68; B58; A69; B65; B37; B48; DR103.	49	A2; A68; A69; B46; B58	40
2	Trường hợp 2	Âm tính	0	DR103	34
3	Trường hợp 3	B57; CW14; A33; CW15; B52; A31; B39; A69; B72; A74; B51; B81; A80; A36; CW5; CW18; A26; B63; B46; B48; B71; B78.	64	Âm tính	0
4	Trường hợp 4	Âm tính	0	A11; DQ6; DR103	66
5	Trường hợp 5	A34; B73	18	A30; A31; A36; A23; A24; A68; A2; B57; B58; B35; B53; B51; B78; B62; B63; B75; B71; B72; B49; B50; B18; B42; B54; B56; B67; B18; B49; B50; DQ6; DR4; DR7; DR16; DR13; DR10; DR14; DQ8; DR15; DR51	95
6	Trường hợp 6	A2; A68; A69; B58; B60; B61; B81; DR15; DR16; DR51	53	A32; B51; B39; DR15; DR16; DR1; DR51; DR103; DP17	54

Có 4 trường hợp có thay đổi về sự hiện diện của kháng thể kháng HLA trước và sau ghép tạng. Có 2 trường hợp được ghi nhận có sự hiện diện của kháng thể kháng HLA sau ghép.

IV. BÀN LUẬN

4.1. Đặc điểm của đối tượng nghiên cứu

Trong 09 trường hợp theo dõi thải ghép, tỷ lệ nam chiếm đa số (77,78%) và tập trung ở độ tuổi từ 25-44. Tỷ lệ giới tính và độ tuổi của đối tượng tham gia nghiên cứu phù hợp với nghiên cứu của tác giả É. F Campos và cộng sự[11].

4.2. Kết quả nghiên cứu

4.2.1. Kết quả độ phù hợp HLA giữa người cho và người nhận trước ghép

Theo kết quả ở bảng 3, chúng tôi nhận thấy: hơn 55% người cho và nhận tạng có tỷ lệ hoà hợp HLA là 3/6 với ba locus DR; B và A. Tỷ lệ hoà hợp này phù hợp để tiến hành ghép tạng vì độ hoà hợp HLA tối thiểu giữa HLA giữa người cho và nhận có thể chấp nhận là 2/6. Qua nghiên cứu y văn, tỷ lệ hoà hợp HLA giữa các locus nêu trên theo thứ tự ưu tiên DR, B, A càng cao thì thời gian tồn tại của mô ghép càng lâu dài vì các locus này có số allele nhiều nhất, trong đó locus DR có tầm quan trọng nhất vì locus DR thuộc HLA lớp II, vốn có liên quan nhiều đến các bệnh có độ nhạy cảm cao, các bệnh tự miễn hoặc các phản ứng viêm.....[2], [9].

4.2.2. Kết quả độ chéo giữa người cho và người nhận trước và sau ghép

Kết quả độ chéo trước và sau ghép (bảng 4) đều âm tính thể hiện sự hoà hợp về tế bào giữa người cho và người nhận. Tuy nhiên có thể nhận thấy rằng phản ứng thải ghép có thể xảy ra ngay cả những trường hợp có kết quả độ chéo âm tính về mặt tế bào giữa người cho và người nhận. Sự xuất hiện hoặc thay đổi kháng thể kháng HLA là một minh chứng cụ thể giúp bác sĩ điều trị có hướng chẩn đoán và theo dõi tình trạng của bệnh nhân. Hiện nay tại Bệnh viện Chợ Rẫy, chúng tôi vẫn đang sử dụng kỹ thuật vi độc tế bào lympho có sự hiện diện của bộ thể (CDC) để kiểm tra sự hoà hợp (độ chéo) giữa

người cho và người nhận.

4.2.3. Kết quả theo dõi sự thay đổi kháng thể kháng HLA trước và sau ghép

Chúng tôi nhận thấy có sự thay đổi về sự xuất hiện của kháng thể kháng HLA trước và sau ghép tạng (bảng 6). Trong 9 trường hợp được theo dõi, có 3 trường hợp không có sự xuất hiện của kháng thể trước và sau ghép, 6 trường hợp còn lại có sự thay đổi về kháng thể trước và sau ghép, đi kèm với sự thay đổi PRA. Trong 6 trường hợp trên, có trường hợp 3 có sự thay đổi tích cực nhất, người nhận vào thời điểm trước ghép có kháng thể trong huyết thanh, tuy nhiên sau ghép không phát hiện được kháng thể, có thể người nhận đã được điều trị bằng các loại thuốc ức chế miễn dịch hoặc được thay huyết tương trước ghép nhằm đảm bảo an toàn cho mảnh ghép. Tuy nhiên, hiện tượng thải ghép vẫn xuất hiện, có thể do một nguyên nhân khác vì người nhận và người cho cùng huyết thống, có độ tương hợp HLA là 3/6.

Trong năm trường hợp còn lại, hầu như có tăng thêm sự xuất hiện kháng thể so với trước ghép. Sự xuất hiện của kháng thể kháng HLA có thể xuất phát từ nhiều nguyên nhân như được truyền máu, phụ nữ sinh đẻ nhiều lần, do quá trình điều trị bệnh, do bệnh nhân đã nhận tạng trước đó... Tất cả các trường hợp mà chúng tôi theo dõi trong nghiên cứu này đều không nhận thấy có kháng thể kháng lại trực tiếp với HLA của người cho. Như vậy, có thể nói việc xét nghiệm và ghép tạng được thực hiện hoàn toàn phù hợp. Nguyên nhân xuất hiện kháng thể kháng HLA có thể xuất phát từ một trong những nguyên nhân nêu trên [2], [9], [10].

Một nghiên cứu tại Mỹ, công bố vào năm 2006, được thực hiện trên 512 người nhận thận để tìm mối liên quan giữa sự hiện diện của kháng thể kháng HLA lớp I và/hoặc lớp II sau ghép thận với dấu hiệu thải ghép thận mãn, đã chỉ ra rằng, sự xuất hiện của kháng thể kháng HLA lớp I thường có liên quan đến người có giới tính nữ, phụ nữ mang thai hoặc do được truyền máu. Trong khi đó, sự hiện diện của kháng thể kháng HLA lớp II có liên quan đến sự

thay đổi nồng độ creatinin, triệu chứng thải ghép cấp, người có giới tính nam... Nghiên cứu này cũng đưa ra kết luận rằng sự hiện diện của kháng thể kháng HLA lớp II là dấu hiệu cảnh báo sự mất mảnh ghép trước khi có sự suy giảm về chức năng thận và gia tăng nguy cơ thải ghép ở người có sự suy giảm về chức năng của mảnh ghép [11]. Nhận định trên cũng tương đồng với nghiên cứu của chúng tôi, với 77,78 % đối tượng nghiên cứu là nam và 4 trong 9 trường hợp có sự hiện diện của kháng thể kháng HLA lớp II sau ghép tạng.

Theo các nghiên cứu lý thuyết về thể dịch trong ghép tạng thì sự xuất hiện của kháng thể liên quan đến sự thải ghép đồng loài, trong một số công bố cũng chỉ rõ sự xuất hiện của kháng thể có thể gây nên thải ghép tối cấp. Qua một nghiên cứu người ta thấy rằng trong mẫu huyết thanh của bệnh nhân có hiện tượng thải ghép thường không tìm thấy kháng thể chuyên biệt ở người cho (DSA), họ cho rằng chúng đã bị hấp thụ bởi mảnh ghép [7]. Trong một nghiên cứu khác được công bố tại Mỹ năm 2004, người ta kết luận rằng người có kháng thể kháng HLA sẽ xuất hiện hiện tượng thải ghép nhiều hơn những người không có kháng thể [8].

Hiện nay, xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA là một chỉ định xét nghiệm thường quy cho bệnh nhân trước khi được ghép tạng.

Ngoài ra, xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA còn được xem là một trong những xét nghiệm quan trọng và có tính quyết định đối với việc dự báo kết quả độ chéo (virtual crossmatch) và ngăn ngừa phản ứng thải ghép do bất đồng miễn dịch khi ghép tạng. Chúng tôi đang áp dụng kỹ thuật pha rắn-công nghệ Luminex với sinh phẩm LABScreen để định danh kháng thể kháng HLA. Đây là một sự tiến bộ về kỹ thuật với độ nhạy cao so với các kỹ thuật khác như kỹ thuật vi độc tế bào lympho có sự hiện diện của bề mặt (CDC) hay kỹ thuật miễn dịch gắn men (ELISA) [1], [3], [4], [5]. Vì vậy, có thể giúp bác sĩ điều trị theo dõi tình trạng miễn dịch của bệnh nhân trước, trong và sau khi ghép tạng.

V. KẾT LUẬN

Bước đầu nhận thấy kháng thể kháng HLA có hiện diện hoặc thay đổi ở những người nhận tạng có chẩn đoán thải ghép (55,56%), ngay cả trên những đối tượng có độ tương hợp HLA và hoà hợp về mặt tế bào giữa người cho và nhận tạng. Xét nghiệm định danh kháng thể kháng HLA là một xét nghiệm cần thiết để giúp bác sĩ điều trị có đánh giá chính xác về tình trạng miễn dịch của bệnh nhân trước ghép tạng và đặc biệt phát huy hiệu quả trong theo dõi các trường hợp thải ghép cấp và tối cấp.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. C.M.Ceka (2009). *Calculated PRA (CPRP): The new measure of sensitization for transplant candidates*. American journal of Transplantation 2010, pp.10-26-29.
2. Đỗ Trung Phần (2012). *Truyền máu hiện đại: Cập nhật và ứng dụng trong điều trị bệnh*. Nhà xuất bản Giáo dục Việt Nam, tr. 138-148.
3. Eric M. Gibney, Linda R. Cagle, Brian Freed, Stephanie E. Warnell, Larry Chan Alexander, C. Wiseman (2006). *Detection of donor-specific antibodies using HLA-coated microspheres: another tool for kidney transplant risk stratification*. Nephrology Dialysis Transplantation, Volume 21, Issue 9, 1 September 2006, pp. 2625–2629.
4. Maria Bernadette Colombo, Simone Elisabeth Haworth, Francesca Poli, Angela Nocco, Giuseppe Puglisi, Annalisa Innocente, Marta Serafini, Piergiorgio Messa, Mario Scalamogna (2007). *Luminex technology for Anti-HLA antibody of impact on laboratory routine*. Cytometry part B (Clinical cytometry) 72B, pp.465-471.
5. Nguyễn Trường Sơn, Trần Văn Bảo, Trần Thị Mỹ Duyên, Huỳnh Thị Thanh Hà, Trần Thị Thanh Nhân, Nguyễn Thị Cẩm, Phạm Lê Nhật Minh và CS (2016). Áp dụng kỹ thuật LABScreen xác

- định kháng thể kháng HLA ở người nhận tạng tại Bệnh viện Chợ Rẫy. Kỷ yếu công trình nghiên cứu khoa học Hội nghị thường niên Bệnh viện Chợ Rẫy 2016. Nhà xuất bản Y học, tr. 178-186.
6. Phạm Gia Khánh (2016). Tiến bộ ghép tạng ở Việt Nam: từ giấc mơ đến hiện thực. Tạp chí Y học thành phố Hồ Chí Minh. Tập 20, số 4, tr. 1-5.
 7. Paul I. Terasaki (2003). *Humoral theory of transplantation*. American journal of transplantation, 3, pp.665-673.
 8. Paul I.Terasaki and Miyuki Ozawa (2004). *Predicting kidney graft failure by HLA antibodies: a prospective trial*. American journal of transplantation, 4, pp. 438-443.
 9. Steven G.E Marsh, Peter Parham, Linda D. Baber (2000). *The HLA-factsbook*. Academic Press. A harcourt Science and Technology company.
 10. Vũ Dương Quý, Phạm Mạnh Hùng (2014). Miễn dịch ghép. Miễn dịch học. Nhà xuất bản Y học, tr. 277-290.
 11. É. F Campos; H.Tedesco-Silva; P.G Machado; M.Franco; J.O Medina- Pestana; M Gerbase-Delima (2006). *Post-Transplan anti HLA class II antibodies as risk factor for late kidney allograft failure*. American journal of Transplantation 2010, pp.6-2316-2320.