

**ĐẠI HỌC THÁI NGUYÊN
TRƯỜNG ĐẠI HỌC KHOA HỌC**



LÂM THỊ THU HƯƠNG

**ĐẶC ĐIỂM *HLA* VÀ KHÁNG THỂ KHÁNG *HLA*
TRÊN BỆNH NHÂN GHÉP THẬN TẠI BỆNH VIỆN
TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN**

LUẬN VĂN THẠC SĨ SINH HỌC ỨNG DỤNG

Thái Nguyên - 2020

LỜI CAM ĐOAN

Tôi xin cam đoan các số liệu và kết quả trình bày trong luận văn là trung thực và chưa được ai công bố trong bất kỳ công trình nào. Mọi kết quả thu được không chỉnh sửa, sao hoặc chép từ các nghiên cứu khác. Mọi trích dẫn trong luận văn đều ghi rõ nguồn gốc

Tác giả

LỜI CẢM ƠN

Luận văn này được hoàn thành tại Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên dưới sự hướng dẫn tận tình của TS. Nguyễn Thị Ngọc Hà, tôi xin bày tỏ lòng biết ơn sâu sắc nhất tới Cô, người đã dành nhiều thời gian và tâm huyết để hướng dẫn tận tình, giúp đỡ tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và viết bản luận văn này.

Tôi cũng xin chân thành cảm ơn Lãnh đạo Trường Đại học Khoa học - Đại học Thái Nguyên, Ban chủ nhiệm khoa Công nghệ Sinh học cùng toàn thể các thầy cô trong và ngoài trường đã giảng dạy giúp tôi trau dồi thêm rất nhiều kiến thức phục vụ cho việc học tập và nghiên cứu của bản thân. Xin gửi lời cảm ơn chân thành đến các Thầy, Cô.

Cuối cùng tôi xin gửi lời cảm ơn tới gia đình, bạn bè đã luôn động viên, giúp đỡ và tạo điều kiện tốt nhất cho tôi trong quá trình học tập, nghiên cứu và làm luận văn.

Xin chân thành cảm ơn!

Thái Nguyên, tháng 11 năm 2020

Học viên

Lâm Thị Thu Hương

MỤC LỤC

MỞ ĐẦU	1
1. Lý do chọn đề tài	1
2. Mục tiêu nghiên cứu	2
3. Nội dung nghiên cứu	2
Chương 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU	3
1.1. Tình hình suy thận mạn trên thế giới và ở Việt Nam	3
1.2. Bệnh thận mạn và suy thận mạn giai đoạn cuối	3
1.2.1. Chẩn đoán bệnh thận mạn và suy thận mạn giai đoạn cuối	3
1.2.2. Các giai đoạn của suy thận mạn	5
1.2.3. Các biến chứng của suy thận mạn giai đoạn cuối	6
1.2.4. Các phương pháp điều trị thay thận	7
1.3. Khái quát về ghép thận	9
1.3.1. Đại cương	9
1.3.2. Vai trò của sự hòa hợp <i>HLA</i> trong ghép thận	12
1.3.3. Kiểu gen miễn dịch, sự hòa hợp tổ chức trong ghép thận	13
1.3.4. Biến chứng của ghép thận	13
1.4. Phức hợp hòa hợp tổ chức chính (MHC) hay kháng nguyên bạch cầu người (<i>HLA</i>)	15
1.4.1. Giải phẫu vùng gen	15
1.4.2. Cấu trúc phân tử của <i>HLA</i>	17
1.4.3. Chức năng <i>HLA</i>	21
1.5. Các kỹ thuật xác định <i>HLA</i> - MHC	22
1.5.1. Kỹ thuật huyết thanh học – Thử nghiệm gây độc lympho bào	22
1.5.2. Các kỹ thuật sinh học phân tử	23
1.5.3. Kỹ thuật PCR - SSP	24
1.5.4. Độ miễn cảm trước ghép của người nhận	24

1.5.5. Kỹ thuật tiền miễn cảm bằng kỹ thuật Miễn dịch – gắn men (ELISA) (Panel reactive antibody test by ELISA)	25
1.5.6. Kỹ thuật thực hiện LABSCREEN kit (tìm kháng thể kháng <i>HLA</i>)	25
1.6. Các phương pháp theo dõi thận, đánh giá chức năng thận ghép	26
1.7. Tình hình nghiên cứu ghép thận ở Việt Nam.....	27
Chương 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU	28
2.1. Đối tượng	28
2.1.1. Tiêu chuẩn chọn bệnh nhân	28
2.1.2. Tiêu chuẩn loại trừ	28
2.2. Địa điểm và thời gian nghiên cứu	28
2.2.1. Địa điểm nghiên cứu	28
2.2.2 Thời gian nghiên cứu:	28
2.3. Các chỉ tiêu nghiên cứu.....	29
2.4. Phương pháp nghiên cứu.....	29
2.4.1. Phương pháp thu thập số liệu.....	29
2.4.2 . Phương pháp xử lý số liệu.....	29
2.4.3. Kỹ thuật định type <i>HLA</i> độ phân giải cao cho 1 Locus (A, B, C, DR, DQ, DP) bằng kỹ thuật PCR - SSO.	29
2.4.4. Kỹ thuật thực hiện LABSCREEN kit của ONE LAMDA (Kháng thể kháng <i>HLA</i>).	32
2.4.5. Định lượng Creatinin máu.....	34
2.4.6. Định lượng ure máu	34
2.5. Sơ đồ nghiên cứu.....	35
2.6. Tuân thủ các vấn đề về đạo đức trong nghiên cứu.....	36
Chương 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ BÀN LUẬN.....	37

3.1. Đặc điểm chung về tuổi, giới, BMI của người cho thận và người nhận thận.....	37
3.2. Đặc điểm <i>HLA</i> và sự hòa hợp <i>HLA</i> trên các cặp ghép thận.....	39
3.3. Đặc điểm kháng thể kháng <i>HLA</i> của người nhận thận.	43
3.4. Liên quan giữa type <i>HLA</i> với chức năng thận người nhận thận sau ghép.....	44
3.5. Sử dụng thuốc ức chế miễn dịch ở bệnh nhân ghép thận	47
3.6. Liên quan giữa kháng thể kháng <i>HLA</i> với nồng độ Creatinin người nhận sau ghép.....	49
KẾT LUẬN VÀ KHUYẾN NGHỊ	50
1. Kết luận	50
2. Khuyến nghị	51
TÀI LIỆU THAM KHẢO.....	52

DANH MỤC VIẾT TẮT

Chữ viết chữ	Viết đầy đủ
DNA	Deoxyribonucleic acid
EDTA	Ethylene diamin tetraacetic acid
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent assay
<i>HLA</i>	Human Leucocyte Antigen
MHC	Major Histocompatibility Complex
PCR	Polymerase chain reaction
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
SSO	Sequence Specific Oligoprobes
SSP	Sequence Specific primers
SAPE	(R-Phycoerythrin-Conjugated Streptavidin)
PE	P-Phycoerythrin
MDRD	Modification of Diet in Renal Diseases
BMI	Body Mass Index

DANH MỤC BẢNG

Bảng 1.1. Giai đoạn suy thận mạn tính theo mức lọc cầu thận.....	5
Bảng 3.1. Đặc điểm chung về tuổi, BMI của người cho thận.....	37
và người nhận thận.....	37
Bảng 3.2. Đặc điểm chung về giới của người cho thận và người nhận thận.....	37
Bảng 3.3. Quan hệ giữa người cho thận và người nhận thận.....	39
Bảng 3.4. Tỷ lệ tương thích <i>HLA</i> trên các cặp ghép thận.....	40
Bảng 3.5. Sự hòa hợp <i>HLA</i> theo lớp.....	41
Bảng 3.6. Phân bố <i>HLA</i> theo huyết thống.....	42
Bảng 3.7. Đặc điểm kháng thể kháng <i>HLA</i> của người nhận thận.....	43
Bảng 3.8. Nồng độ Creatinin và Ure huyết thanh sau ghép ở các thời điểm.....	44
Bảng 3.9. Liên quan giữa sự hòa hợp <i>HLA</i> và nồng độ ure huyết thanh sau ghép.....	45
Bảng 3.10. Liên quan giữa số lượng các alen <i>HLA</i> hòa hợp với chức năng thận sau ghép (nồng độ creatinin sau ghép).....	46
Bảng 3.11. Liều Tac và nồng độ Tac ở bệnh nhân ghép thận.....	47
Bảng 3.12. Liên quan giữa số lượng các alen <i>HLA</i> hòa hợp với nồng độ thuốc ức chế miễn dịch Tac ở các cặp ghép thận.....	48
Bảng 3.13. Liên quan giữa kháng thể kháng <i>HLA</i> với nồng độ Creatinin người nhận sau ghép.....	49

DANH MỤC HÌNH

Hình 1.1. Hình ảnh sau ghép thận.....	11
Hình 1.2: Vùng <i>HLA</i> của nhiễm sắc thể 6 (healthvietnam.vn).....	16
Hình 1.3. Tóm tắt cấu trúc hệ <i>HLA</i> (healthvietnam.vn).....	18
Hình 1.4. Phức hệ MHC loại I (vi.wikipedia.org).....	19
Hình 1.5. Phức hệ MHC loại II (vi.wikipedia.org).....	20
Hình 3.1. Tỷ lệ ghép thận ở nam và nữ.....	37
Hình 3.2. Phân bố độ tuổi lúc ghép thận.....	38

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Ghép thận được xem là phương pháp điều trị thay thế thận suy giai đoạn cuối hiệu quả nhất, không những thay thế chức năng bài tiết mà còn hồi phục chức năng nội tiết của thận. Ghép thận là đỉnh cao tiến bộ của y học nói chung và của ngành thận học, niệu học, miễn dịch học nói riêng. Nhờ những hiểu biết về cơ chế thải ghép và những phát minh các thuốc giảm miễn dịch mới, ghép thận có nhiều thành công. Nguồn thận cho có thể từ người sống hoặc người chết não. Nhiều nghiên cứu trên thế giới cũng đã cho thấy rằng ghép thận đã giảm đáng kể nguy cơ tử vong, bệnh tim mạch cũng như cải thiện chất lượng cuộc sống so với lọc máu chu kỳ [1], [15], [27].

Trên 60 năm kể từ thành công hai trường hợp ghép thận ở Boston giữa những anh chị em sinh đôi khác trứng hiện nay trên thế giới đã có trên 400.000 trường hợp ghép [15], [27]. Trong ghép tạng nói chung và ghép thận nói riêng, sự hòa hợp miễn dịch là rất quan trọng, được coi là tiêu chuẩn bắt buộc và quyết định đến sự thành công của ca ghép. Để đánh giá sự hòa hợp về mặt miễn dịch, xét nghiệm *HLA* (Human leucocyte antigen) - kháng nguyên bạch cầu người là xét nghiệm cơ bản nhất trong tuyển chọn cặp ghép cho và nhận. *HLA* là một nhóm gen mã hoá cho các protein trình diện kháng nguyên trên bề mặt tế bào của đa số động vật có xương sống. Những protein này đóng vai trò quan trọng trong tổ chức miễn dịch của cơ thể cũng như những cơ chế giao tiếp giữa các tế bào. *HLA* là protein quan trọng liên quan đến thải ghép, đặc biệt trong những năm đầu sau ghép. Việc lựa chọn cặp ghép phù hợp kết hợp dùng thuốc ức chế miễn dịch sẽ làm tăng tỷ lệ thành công của cuộc ghép [1], [15], [17], [27].

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về *HLA* trong ghép tạng, tuy nhiên còn nhiều quan điểm khác nhau. Ở Việt Nam, số lượng những nghiên cứu