

## CÂY GHÉP TỤY XƯƠNG ĐỒNG LOẠI ĐIỀU TRỊ BỆNH SUY TỤY TRÊN MÔ HÌNH CHUỘT

Trương Hải Nhung, Dương Thanh Thủy, Phạm Văn Phúc, Phan Kim Ngọc

Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

(Bài nhận ngày 08 tháng 01 năm 2009, hoàn chỉnh sửa chữa ngày 24 tháng 09 năm 2009)

**TÓM TẮT:** Suy tủy xương là căn bệnh do suy giảm mạnh các chức năng tủy xương và khả năng sản sinh các tế bào máu. Theo Emmanuel C Besa và cs (2008), tỷ lệ mắc bệnh này ở Trung Quốc, Đông Nam Á cao hơn gấp 3-4 lần so với châu Âu và Mỹ. Theo thông tin của Bộ Y tế, ở Việt Nam, mức độ nguy hiểm của bệnh suy tủy xương đứng hàng thứ 3 trong các bệnh về máu. Việc tạo ra các mô hình động vật mắc bệnh suy tủy giúp hiểu sâu hơn về cơ chế bệnh, phục vụ cho các nghiên cứu tiền lâm sàng. Trên cơ sở ấy, nghiên cứu này nhằm xây dựng mô hình bệnh suy tủy trên chuột nhắt trắng, bằng việc sử dụng kết hợp Busulfan (BU) với Cyclophosphamide (CY), qua đó khảo sát khả năng điều trị cây ghép tế bào tủy xương đồng loại trên mô hình suy tủy ở chuột. Kết quả nghiên cứu cho thấy có thể gây suy tủy trên chuột khi kết hợp hai hóa chất trên, với tỉ lệ chết do suy tủy trung bình 67%. Việc cấy ghép tủy xương đã cải thiện tỉ lệ sống của chuột suy tủy từ 33% lên đến 88%.

**Từ khóa:** Suy tủy xương, mô hình động vật suy tủy xương, cấy ghép tủy xương chuột.

### 1. GIỚI THIỆU

Busulfan hay Cyclophosphamide thường được sử dụng trong cấy ghép, chúng có vai trò ức chế miễn dịch, giúp cơ thể người bệnh tiếp nhận mô ghép tốt hơn. BU và CY là các hóa chất gây độc tế bào. Theo Botnick LE và cs, hai chất nói trên tác động mạnh đến các tế bào gốc tạo máu, từ đó dẫn đến tình trạng suy tủy cấp. Sự kết hợp BU với CY trên chuột đã được nhiều nghiên cứu chứng minh có hiệu quả gây suy tủy mạnh, thậm chí gây chết cho động vật với tỷ lệ cao và lượng bạch cầu giảm mạnh sau khi xử lý thuốc. [5; 7]

Liệu pháp ghép tủy xương thường cho hiệu quả cao trong trị liệu các bệnh suy tủy, đặc biệt là các trường hợp nặng do di truyền. Ngoài tế bào bạch cầu trưởng thành, quần thể tế bào đơn nhân tủy xương còn có các tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc trung mô, vai trò của chúng rất quan trọng trong sự phục hồi tình trạng suy tủy. [2; 3; 7]

Nghiên cứu này gồm hai nội dung: 1. Tạo mô hình chuột suy tủy bằng việc kết hợp giữa CY và BU, với liều lượng thích hợp; 2. Đánh giá hiệu quả điều trị suy tủy trên chuột bằng cấy ghép tủy xương đồng loại.

### 2. VẬT LIỆU – PHƯƠNG PHÁP

#### 2.1. Mẫu vật và vật liệu

Chuột *Mus musculus* var. *Albino* cái trên 6 tuần tuổi (dùng để ghép); con đực dưới 4 tuần tuổi (dùng để thu tế bào) sạch bệnh, Viện Pasteur Thành phố Hồ Chí Minh cung cấp.

Cyclophosphamide (Endoxan<sup>®</sup>), dạng bột của hãng Baxter Oncology GmbH (Đức). Busulfan (Myleran<sup>®</sup>), dạng viên của hãng Heumann Pharma GmbH (90537 Feucht (Đức).

#### 2.3. Phương pháp

##### 2.3.1. Xây dựng mô hình suy tủy

CY được khảo sát với hai chế độ: tiêm liên tục và không liên tục, mỗi chế độ tiêm được tiến hành với 3 liều khác nhau: 200 mg/kg; 250 mg/kg và 300 mg/kg. Mỗi con chuột được tiêm 50 mg/kg/1 lần/ngày, cho đến khi chúng nhận đủ liều khảo sát.

Với chế độ tiêm liên tục, CY được tiêm vào các ngày liên tiếp cho đến khi đủ liều khảo sát (200mg/kg được chia thành 4 lần liên tiếp trong 4 ngày; 250 mg/kg cho 5 lần tiêm; tương tự đối với liều 300 mg/kg được chia thành 6 lần tiêm liên tục).

Với chế độ tiêm không liên tục: liều CY 200 mg/kg được tiêm 2 ngày liên tục, nghỉ 4 ngày, sau



đó tiêm tiếp 2 liều cuối. Liều CY 250 được tiêm 3 ngày liên tục, nghỉ 4 ngày, sau đó tiêm tiếp 2 liều cuối. Liều 300 mg/kg, tiêm 3 ngày liên tục, nghỉ 4 ngày, sau đó tiêm tiếp 3 liều còn lại.

BU được sử dụng cho chuột uống 1 liều duy nhất (40 mg/kg) vào ngày đầu tiên của thí nghiệm, tức là ngày bắt đầu tiêm CY.

Sau khi kết thúc quy trình xử lý thuốc, tiến hành đánh giá hiệu quả suy tủy của chuột qua các chỉ tiêu: trọng lượng cơ thể; biểu hiện cảm quan về sinh lí, bệnh lí; bạch cầu tổng số; tỉ lệ sống chết (ghi nhận vào các ngày N5, N7, N14, N28). Thí nghiệm được bố trí như sau:

*Thí nghiệm 1:* 18 chuột cái được chia ngẫu nhiên thành 3 lô, có 2 lô thử thuốc (uống BU) + tiêm CY nồng độ 250 mg/kg (tiêm liên tục và không liên tục). 1 lô đối chứng (tiêm và uống dung dịch sinh lí PBS với thể tích và thời gian tương ứng).

*Thí nghiệm 2:* 18 chuột cái được chia thành 3 lô: có 2 lô thử thuốc (uống BU) + tiêm CY nồng độ 250 mg/kg (tiêm liên tục và không liên tục). 1 lô đối chứng (tiêm và uống dung dịch sinh lí PBS với thể tích và thời gian tương ứng).

*Thí nghiệm 3:* 18 chuột cái được chia thành 3 lô: 2 lô thử thuốc (uống BU) + tiêm CY nồng độ 300 mg/kg (tiêm liên tục và không liên tục). 1 lô đối chứng (tiêm và uống dung dịch sinh lí PBS với thể tích và thời gian tương ứng).

#### **2.3.1.1. Quy trình đánh giá cảm quan về biểu hiện sinh lí và bệnh lí bên ngoài**

Chuột thí nghiệm được cân 7 ngày/lần. Ghi nhận hình thái và biểu hiện sinh lí của chuột hàng ngày: sống/chết; gầy ốm, mất (mù, viêm kết mạc), lông, dáng đi, mức độ linh hoạt và các biểu hiện bất thường khác.

#### **2.3.1.2 Phương pháp khảo sát bạch cầu tổng**

Lấy máu tĩnh mạch đuôi chuột vào các ngày N (ngày kết thúc tiêm thuốc), và vào các ngày N0, N5, N10 và N15. Trộn máu trong ống trộn bạch cầu với dung dịch ly giải hồng cầu và đếm số lượng tế bào bằng buồng đếm Neubauer dưới kính hiển vi quang học.

#### **2.3.2. Ghép tế**

Chuột được ghép với 2 liều tế bào:  $1 \times 10^6$  tế bào/con và  $5 \times 10^6$  tế bào/con. Tế bào tủy xương

được thu nhận từ chuột đực. Chuột bị giết và thu nhận chi sau, lấy xương đùi, sử dụng dung dịch PBS dội rửa vào tủy xương và thu nhận tế bào. Li tâm dịch tế bào trong 5 phút với tốc độ 2500 vòng/phút, thu huyền phù tế bào trong 500  $\mu$ l PBS. Nhuộm tế bào với Trypan Blue (Cambrex) để phân biệt tế bào sống và chết, điều chỉnh mật độ tế bào sống về giá trị mong muốn. Huyền phù tế bào được ghép với liều duy nhất: tiêm vào tĩnh mạch đuôi của chuột ngay sau ngày kết thúc liệu thuốc suy tủy cuối cùng. Hiệu quả phục hồi của chuột được đánh giá qua các chỉ tiêu đã trình bày ở mục 2.3.1. Mỗi liều tế bào ghép được tiến hành trên 8 con chuột, đối chứng là chuột suy tủy không được ghép tế bào. [2; 4]

Các kết quả thống kê được xử lý bằng phần mềm Microsoft Excel (độ tin cậy 95%).

### **3. KẾT QUẢ - THẢO LUẬN**

#### **3.1. Tạo mô hình suy tủy**

Kết quả được đánh giá dựa trên 4 chỉ tiêu, trong đó tỉ lệ chết quan trọng nhất.

*Kết quả quan sát hình thái, sinh lí:* Chuột ở các lô thí nghiệm với liều và chế độ tiêm khác nhau đều có dấu hiệu suy yếu về hình thái và sinh lí: cơ thể gầy ốm, kém linh hoạt, ít ăn. Riêng chuột xử lý 250 mg CY có thêm biểu hiện rụng lông; một số chuột thuộc nhóm xử lý 300 mg CY bị mù mắt. Chuột ở nhóm đối chứng bình thường, không có các biểu hiện trên. Các kết quả bước đầu này cho thấy BU và CY có tác động biến đổi sinh lí, hình thái lên chuột, đặc biệt CY ở liều cao. Điều này phù hợp với khuyến cáo của nhà sản xuất về tác dụng của BU và CY.

*Kết quả theo dõi thể trọng:* Hầu hết chuột sau khi bị xử lý thuốc đều giảm cân rõ rệt so với nhóm đối chứng. Trong thí nghiệm 1, chế độ tiêm không liên tục gây giảm cân hơn chế độ tiêm liên tục, trong khi đó ở thí nghiệm 2, kết quả cho ngược lại. Ở thí nghiệm 3, cả hai chế độ tiêm đều gây giảm cân mạnh. Rõ ràng, CY liều 250 mg/kg trở lên gây giảm cân mạnh hơn liều 200 mg/kg. Trọng lượng chuột thấp nhất ghi nhận được trong các lô thí nghiệm là 17-19 gram/con.

*Kết quả bạch cầu tổng:* Chuột sau khi xử lý thuốc ở tất cả các lô thí nghiệm đều có hiện tượng giảm mạnh bạch cầu tổng. Mức giảm sau khi xử lý

thuốc 1 ngày so với đối chứng đạt rất cao: từ 84% đến 94% (Bảng 1).

**Bảng 1.** Sự khác biệt bạch cầu tổng giữa các lô thí nghiệm với lô đối chứng

HIỆU QUẢ CỦA THUỐC LÊN BẠCH CẦU TỔNG CỦA CHUỘT							
Ngày	Lô	Bạch cầu tổng trung bình (số tế bào/mm <sup>3</sup> máu)					
		Thí nghiệm 1		Thí nghiệm 2		Thí nghiệm 3	
		Liên tục	Không liên tục	Liên tục	Không liên tục	Liên tục	Không liên tục
N-	Thí nghiệm	5383 ± 2194	6050 ± 944	4825 ± 1276	6558 ± 479	6700 ± 741	5533 ± 1086
	Đối chứng	6333 ± 2166	5917 ± 2601	6000 ± 2249	5900 ± 666	6100 ± 1005	6000 ± 2249
N0	Thí nghiệm	317 ± 269 94%	767 ± 367 87%	367 ± 777 93%	400 ± 77 93%	533 ± 554 92%	825 ± 631 84%
	Đối chứng	6300 ± 922	5317 ± 970	5867 ± 443	5717 ± 767	5967 ± 172	6183 ± 3098

(Độ tin cậy  $P < 0,05$ )

Kết quả của nghiên cứu cho thấy, giá trị bạch cầu tổng ở các lô thí nghiệm đều giảm mạnh so với lô đối chứng, và sự giảm này có ý nghĩa thống kê, cụ thể bạch cầu tổng ở các lô thí nghiệm vào ngày N0 đều giảm mạnh so với ngày N-.

Từ các kết quả trên, có thể kết luận nghiên cứu này đã tạo ra dấu hiệu suy tủy, ít nhất với dòng tế bào bạch cầu của chuột. Các hóa chất sử dụng có ảnh hưởng dương tính.

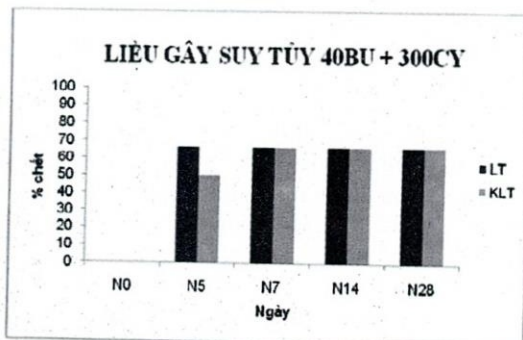
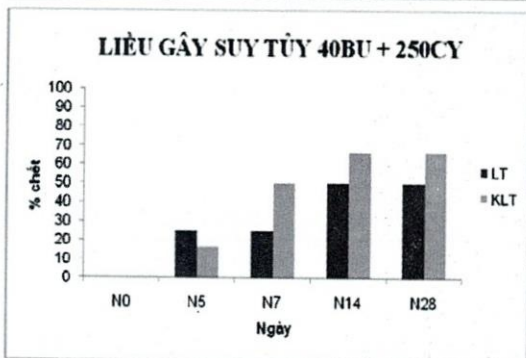
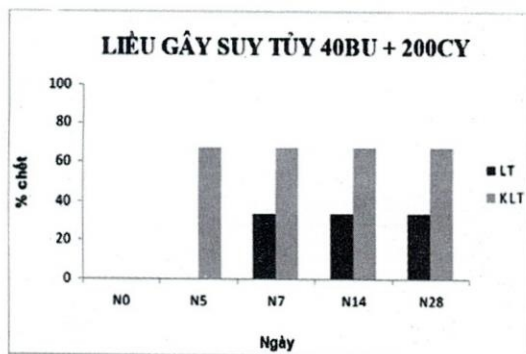
*Kết quả về tỉ lệ chết:* Sau khi xử lí thuốc, tất cả các lô thí nghiệm đều có chuột bị chết với tỉ lệ khá cao (33% đến 67%), chủ yếu vào khoảng 14 ngày.

Theo Phepls T.R, (và nhiều tác giả khác), nếu trong khoảng 5 ngày sau điều trị bằng tác nhân ức chế miễn dịch mạnh (thuốc hoặc phóng xạ), chuột chết có thể là do các tác động phụ của thuốc gây hại lên các cơ quan khác, đặc biệt là tổn thương đường ruột quá trầm trọng làm chuột không chống chọi nổi và chết; chuột này có được ghép tế bào tủy xương thì tỉ lệ sống được sau khi ghép rất thấp, gần như không thể hồi phục được.

Theo Millar JL và cs (Br J Cancer 1975;32:193-198), việc xử lí BU trên chuột CBA đạt tỉ lệ sống 0% vào ngày khảo sát thứ 30, và

thời gian sống trung bình của chuột là 15,8 ngày mới đạt hiệu quả gây suy tủy. Biểu đồ 1 cho thấy, vào ngày N5 tỉ lệ chuột chết ở thí nghiệm 1 và 3 cao hơn nhiều so với thí nghiệm 2, như vậy nếu lấy mốc 5 ngày đầu khảo sát thì thí nghiệm 2 tốt hơn. Bước đầu cho thấy, sự kết hợp BU 40 mg/kg và CY 250 mg/kg hiệu quả hơn so với việc dùng BU 40 mg/kg kết hợp CY 200 mg/kg, và CY 300 mg/kg. Hơn nữa, trong thí nghiệm 1 và 2 vào ngày N14 và N28, lô không liên tục (tỉ lệ chết đều là 67%), cao hơn lô liên tục (thí nghiệm 1 là 33% và thí nghiệm 2 là 50%) nên chế độ tiêm không liên tục ở thí nghiệm 2 là chiếm ưu thế hơn. Trong thí nghiệm 3, tuy cả hai chế độ tiêm đều có tỉ lệ chết 67%, nhưng chế độ tiêm liên tục làm chuột chết nhiều trong 5 ngày đầu, do vậy chế độ tiêm không liên tục được lựa chọn.





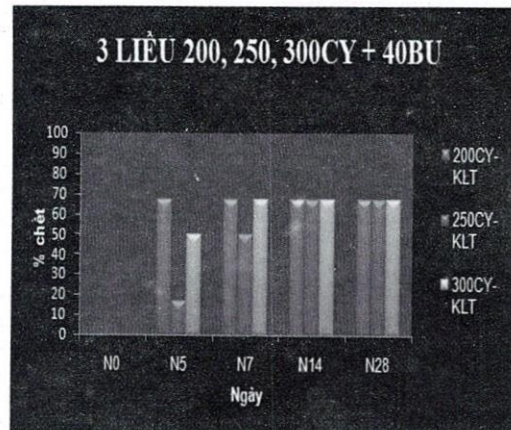
**Biểu đồ 1.** Tỷ lệ chết ở các thí nghiệm (A. Thí nghiệm 1; B. Thí nghiệm 2; C. Thí nghiệm 3. LT: Tiêm CY liên tục; KLT: tiêm CY không liên tục)

**Mô hình suy tủy tối ưu**

Từ kết quả và từ các phân tích trên, nghiên cứu này xác định chế độ tiêm không liên tục tối ưu hơn chế độ tiêm liên tục.

Để tiến hành xác định mô hình suy tủy tối ưu, cần phải so sánh 3 liều tiêm 200, 250 và 300 mg/kg CY ở cùng chế độ tiêm không liên tục.

Về đặc điểm sinh lí, hình thái: liều CY 250 mg/kg gây biến đổi rõ rệt hơn liều CY 200 mg/kg, nhưng không gây mù. Về trọng lượng, cả ba liều đều gây biến đổi, nhưng rõ rệt nhất ở liều 300 mg/kg. Đối với bạch cầu tổng, cả ba liều đều gây biến thiên mạnh.



**Biểu đồ 2.** Tỷ lệ chết khi gây suy tủy bằng 40 mg/kg BU kết hợp với một trong ba liều 200, 250, 300 CY tiêm không liên tục

Tỷ lệ chết ở cả ba liều 200, 250, 300 mg/kg CY ở chế độ tiêm không liên tục, nhìn chung tương đương nhau (67% vào ngày N14). Liều 250 mg/kg chuột có tỷ lệ chết trong khoảng 5 ngày sau khi kết thúc liều gây suy tủy là thấp nhất (17%), so với liều 200 mg/kg (67%) và liều 300 (50%). Chuột chết sớm hơn khoảng 6 - 14 ngày được xem là chết không do suy tủy. [5]

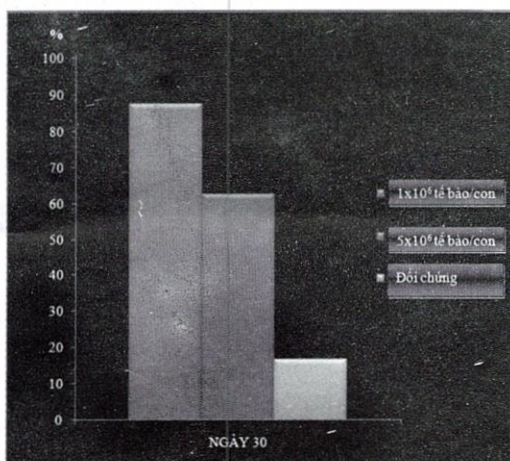
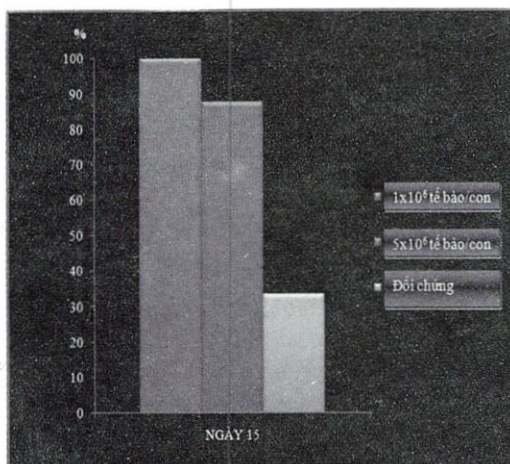
Vậy liều 250 mg/kg với chế độ tiêm không liên tục cho hiệu quả gây suy tủy cao nhất vì ít gây chết mạnh trong khoảng 5 ngày sau khi xử lí thuốc.

**3.2. Ghép tủy**

**Kết quả quan sát sinh lí, hình thái:** sau khi ghép, lô ghép tủy giảm rụng lông, tăng cân, linh hoạt hơn so với lô suy tủy không ghép, tuy nhiên vẫn có một số bất thường như co giật và u gan (lô  $5 \times 10^6$  tế bào/con).

**Kết quả theo dõi trọng lượng:** lô  $5 \times 10^6$  tế bào/con hồi phục rõ rệt hơn lô  $1 \times 10^6$  tế bào/con.

**Kết quả xác định bạch cầu tổng:** hai lô chuột sau khi ghép đều tăng bạch cầu tổng hơn trước khi ghép và tăng so với đối chứng không ghép.



Biểu đồ 3. So sánh tỉ lệ sống sau ghép tủy 15 và 30 ngày ở các lô

**Kết quả tỉ lệ sống:** Tỉ lệ sống tính đến ngày 15 ở liều ghép  $5 \times 10^6$  tế bào/con (88%) thấp hơn liều ghép  $1 \times 10^6$  tế bào/con (100%). Tỉ lệ sống tính tới ngày 30, liều ghép  $5 \times 10^6$  tế bào/con là 62%. Tỉ lệ sống ở liều ghép  $1 \times 10^6$  tế bào/con giảm còn 88%. Tóm lại liều  $1 \times 10^6$  tế bào/con hiệu quả hơn. Hơn nữa, đối với liều  $1 \times 10^6$  tế bào/con, không ghi nhận được trường hợp chuột

chết nào trong khoảng N6 – N14, điều này cho thấy liều ghép này đã cải thiện tình trạng suy tủy cấp hiệu quả (liều ghép  $5 \times 10^6$  tế bào/con có 1 chuột chết vào ngày N9).

Ngoài ra, theo tác giả Milar JL thì tỉ lệ sống của chuột suy tủy đến ngày 30 là 0%, trong nghiên cứu của chúng tôi khi ghép tủy xương tỉ lệ sống đạt từ 62% (lô  $5 \times 10^6$  tế bào/con) đến 88% (lô  $1 \times 10^6$  tế bào/con) đến ngày 30. Như vậy việc ghép tế bào tủy xương giúp phục hồi tình trạng suy tủy trên chuột. Theo Alain Chapel và cs (*The Journal of Gene Medicine*, 2003), trong cấy ghép tủy xương, vì phân đoạn tế bào đơn nhân được sử dụng cho cấy ghép, nên việc cấy ghép tế bào bao gồm cả 2 phân đoạn: tế bào gốc tạo máu (HSC) và tế bào gốc trung mô (MSC); bên cạnh quần thể tế bào bạch cầu trưởng thành. Vì vậy, tế bào gốc tạo máu trong cơ thể được phục hồi trực tiếp (do sự bổ sung tế bào gốc tạo máu ngoại vi) và gián tiếp (sự điều hòa phát triển của MSC). Dựa vào điểm này, chúng tôi bước đầu kết luận rằng việc ghép tế bào từ tủy xương đã cải thiện được tình trạng suy tủy của chuột và giúp chuột sống sót, trong đó hiệu quả cao nhất là ở lô ghép liều  $1 \times 10^6$  tế bào/con. Tỉ lệ sống của chuột suy tủy được cải thiện từ 33% lên 88%.

#### 4. KẾT LUẬN

Liều 40 mg/kg BU kết hợp với 250 mg/kg CY ở chế độ tiêm không liên tục là tối ưu nhất để tạo mô hình chuột nhất suy tủy (tỉ lệ chết 67% và lượng bạch cầu giảm mạnh).

Xét về mặt hồi phục các chỉ tiêu sinh lí, cân nặng, bạch cầu tổng và tỉ lệ sống sau khi ghép, việc ghép tủy xương cải thiện tỉ lệ sống cho chuột suy tủy từ 33% lên 88%.

Liều ghép tủy  $1 \times 10^6$  tế bào/con hiệu quả hơn liều ghép tủy  $5 \times 10^6$  tế bào/con trong giới hạn của nghiên cứu này.



## ALLOGENOUS BONE MARROW TRANSPLANTATION FOR BONE MARROW FAILURE SYNDROME ON MOUSE MODEL

Truong Hai Nhung, Duong Thanh Thuy, Pham Van Phuc, Phan Kim Ngoc  
University of Sciences, VNU-HCM

**ABSTRACT:** Bone marrow failure (BMF) is a disease characterized by a drastic decline in the marrow's functional ability to produce blood cells. Emmanuel C Besa và cs (2008), the ratio of BMF disease in China, Asia is higher than Europe and US about from 3 to 4 fold. In Vietnam, the dangerous of BMF is ranked third among blood diseases (Vietnam Ministry of Health). Animal models of bone marrow failure syndromes have not only helped to strengthen our understanding of the mechanisms causing bone marrow failure but also applied for pre-clinical experiments. The aims of this research are: creating mouse (*Mus musculus* var. Albino) models for bone marrow failure syndrome induced by chemicals such as busulfan and cyclophosphamide; and evaluating the treatment capacity of allogeneous bone marrow transplantation on mouse models of BMF syndrome. The results showed that the combination of the two chemicals, the death rate caused by BMF can reach to 67%. The bone marrow transplantation can improve the alive ratio of mouse, which have bone marrow failure syndromes, from 33% to 88%.

**Keywords:** Bone marrow failure (BMF), animal model of bone marrow failure syndromes, bone marrow transplant

### TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1]. Al-Rahawan MM, Alter BP, Bryant BJ, Elghetany M, Bone marrow cell cycle markers in inherited bone marrow failure syndromes. *Leuk Res.* Jul 5, (2008).
- [2]. James O.Amittage, Bone marrow transplantation, *The New England Journal of Medicine* 330, pp. 827-830, (1994).
- [3]. Jichun Chen & PhD, Animal Models for Acquired Bone Marrow Failure Syndromes, *Clinical Medicine & Research* 3(2), pp. 102-108, (2007).
- [4]. Jing Chen, André Larochelle, Simon Fricker, Gary Bridger, Cynthia E. Dunbar, and Janis L. Abkowitz, "Mobilization as a preparative regimen for hematopoietic stem cell transplantation", *Blood* 107(9), pp. 3764-3771, (2007).
- [5]. Shuichi Ashizuka, William H. Peranteau, Satoshi Hayashi, and Alan W. Flake, Busulfan-conditioned bone marrow transplantation results in high-level allogeneic chimerism in mice made tolerant by in utero hematopoietic cell transplantation, *Exp Hematol* 34(3), pp. 359-368. (2005)
- [6]. Sulabha S. Kulkarni, George S. Leventon, Lap Huynh, Herbert Chow, Karel A. Dicke, and Axel R. Zander, Effect of Pretreatment with Cyclophosphamide on High-Dose Toxicity of Melphalan in Mice, *Cancer research* 45, pp. 5431-5445, (1985).
- [7]. Teo JT, Klaassen R, Fernandez CV, Yanofsky R, Wu J, Champagne J, Silva M, Lipton JH, Brossard J, Samson Y, Abish S, Steele M, Ali K, Athale U, Jardine L, Hand JP, Tsangaris E, Odame I, Beyene J, Dror Y. Clinical and genetic analysis of unclassifiable inherited bone marrow failure syndromes. *Pediatrics*. 2008 Jul; 122(1):e139-48.

PHỤ LỤC  
SỐ LIỆU THÔ CỦA KẾT QUẢ TẠO MÔ HÌNH SUY TỬ

Bảng 1. Số liệu thô khảo sát cân nặng của tạo mô hình suy tử

SỐ LIỆU THÔ KHẢO SÁT CÂN NẶNG CỦA TẠO MÔ HÌNH SUY TỬ														
LIỆU 100 MG/KG CY VÀ 40 MG/KG BU					LIỆU 150 MG/KG CY VÀ 40 MG/KG BU					LIỆU 300 MG/KG CY VÀ 40 MG/KG BU				
LQ	CHUỐT	BÀN ĐẦU	N0	N7	N14	BÀN ĐẦU	N0	N7	N14	BÀN ĐẦU	N0	N7	N14	
ĐỐI CHỨNG (3 lo x 6 con/lo)	1	32	34	38	42	35	34	38	42	32	34	38	42	
	2	30	33	36	40	30	33	36	40	30	33	36	40	
	3	25	30	34	37	25	30	34	37	25	30	34	37	
	4	28	31	33	39	28	31	33	39	28	31	33	39	
	5	30	33	37	41	30	33	37	41	30	33	37	41	
	6	25	29	32	37	25	29	32	37	25	29	32	37	
LIÊN TỨC (3 lo x 6 con/lo)	1	30	28	26	31	35	30	25	CHẾT	27	17	CHẾT	31	
	2	25	27	29	35	32	25	30	34	30	24	26	31	
	3	28	20	CHẾT	30	28	34	38	25	20	CHẾT	30	31	
	4	27	23	CHẾT	33	26	CHẾT	28	28	30	CHẾT	30	31	
	5	29	31	28	30	32	28	CHẾT	29	31	CHẾT	31	35	
	6	29	28	31	36	31	27	29	33	31	28	30	35	
KHÔNG LIÊN TỨC (3 lo x 6 con/lo)	1	25	22	CHẾT	35	21	CHẾT	25	19	17	CHẾT	35		
	2	26	19	CHẾT	30	20	18	CHẾT	30	18	CHẾT	35		
	3	26	18	CHẾT	35	30	33	38	28	20	CHẾT	35		
	4	27	24	CHẾT	32	32	34	40	25	20	CHẾT	35		
	5	28	30	32	36	25	19	CHẾT	25	21	33	36		
	6	25	22	24	27	26	19	20	CHẾT	26	26	29	34	



Bảng 2. Số liệu thí nghiệm sắt beryli của tổng cục tạo mô hình sự tủy

BẢNG SỐ LIỆU THỬ NGHIỆM SẮT BẠCH CẤU TẠO TỔNG CỤC TẠO MÔ HÌNH SỰ TỤY																
LIỆU 200 MG/KG CY VÀ 40 MG/KG BƯ				LIỆU 250 MG/KG CY + 40 MG/KG BƯ				LIỆU 300 MG/KG CY + 40 MG/KG BƯ								
LO	CHUỐT	BAY ĐÀU	NĐ	N5	N10	N15	BAY ĐÀU	NĐ	N5	N10	N15	BAY ĐÀU	NĐ	N5	N10	N15
ĐÔI CHÉNG (3 ló x 6 con/ló)	1	6250	6700	4900	6350	5750	6250	6700	4950	6350	5750	6250	6700	4900	6350	5750
	2	4750	3500	7150	3900	4350	4750	3500	7150	3900	4350	4750	3500	7150	3900	4350
	3	8000	6700	8200	7650	4850	8000	6700	8200	7650	4850	8000	6700	8200	7650	4850
	4	7900	6150	8250	5500	7400	7800	6150	8250	5500	7400	7800	6150	8250	5500	7400
	5	3900	4800	3600	6000	4900	3900	4800	3600	6000	4900	3900	4800	3600	6000	4900
	6	6050	3000	7400	4700	5900	6050	3000	7400	4700	5900	6050	3000	7400	4700	5900
LIÊN TỤY (3 ló CY khác nhau x 6 con/ló)	1	6850	350	250	1850	500	5400	300	560		CHÉT	6600	200		CHÉT	
	2	3650	100	1100	500	1350	5750	400	900	2000	1400	6200	400	1500	1400	1750
	3	5700	500	300		CHÉT	4800	400	3750	3000	2100	7300	1000		CHÉT	
	4	4950	150			CHÉT	3250	210		CHÉT		5600	100		CHÉT	
	5	7200	420	320	1000	780	4200	230		CHÉT		7200	320		CHÉT	
	6	6500	300	450	850	680	5850	410	750	1650	2300	4500	230	480	1100	2100
KHÔNG LIÊN TỤY (3 ló CY khác nhau x 6 con/ló)	1	6900	500			CHÉT	7800	100		CHÉT		5700	1350		NHÔNG THỦ NẤU	CHÉT
	2	6300	750			CHÉT	5500	350	470	CHÉT		7250	200		CHÉT	
	3	5250	1050			CHÉT	8250	550	1050	2150	3500	5750	150		CHÉT	
	4	7000	340			CHÉT	6500	400	850	1450	1200	6000	1000		CHÉT	
	5	8500	560	780	1300	1100	5250	650		CHÉT		4000	450	1500	2000	3400
	6	6700	720	2100	3500	6000	6250	550		CHÉT		4500	1800	1150	1600	4900



Bảng 3. Số liên tử vong của tạo mô hình chuột chết sự duy

			50 LIỆU TỬ VONG CCA TẠO MÔ HÌNH CHUỘT SỬY TỬY		
LIỆU 200 MG/KG CY VÀ 40 MG/KG BU			LIỆU 250 MG/KG CY VÀ 40 MG/KG BU		
LỖ	CHUỘT	NGÀY TỬ VONG	NGÀY TỬ VONG	NGÀY TỬ VONG	NGÀY TỬ VONG
ĐÔI CHUỘT (3 là x 6 con/lo)	1	KHÔNG CHẾT TRONG QUÁ TRÌNH THÍ NGHIỆM	KHÔNG CHẾT TRONG QUÁ TRÌNH THÍ NGHIỆM	KHÔNG CHẾT TRONG QUÁ TRÌNH THÍ NGHIỆM	KHÔNG CHẾT TRONG QUÁ TRÌNH THÍ NGHIỆM
	2				
	3				
	4				
	5				
	6				
LIÊN TỬ (3 là CY khác nhau x 6 con/lo)	1	CON SỐNG	9	4	
	2	CON SỐNG	CON SỐNG	CON SỐNG	
	3	6	4	3	
	4	4	5	2	
	5	29	5	5	
	6	CON SỐNG	29	CON SỐNG	
KHÔNG LIÊN TỬ	1	5	4	7	
	2	5	7	5	
	3	4	29	3	
(3 là CY khác nhau x 6 con/lo)	4	3	CON SỐNG	2	
	5	CON SỐNG	6	CON SỐNG	
	6	CON SỐNG	8	CON SỐNG	

### SỐ LIỆU THÔ CỦA GHÉP TẾ BÀO TỦY XƯƠNG TRỊ SUY TỦY

Sử dụng liều 250 mg/kg cyclophosphamide và 40 mg/kg busulfan để tạo mô hình suy tủy cho nội dung nghiên cứu này. tiến hành thí nghiệm trên 3 lô thí nghiệm, trong đó:

- Lô đối chứng (lô chuột suy tủy không được ghép tế bào) gồm 6 con chuột là lô thí nghiệm liều 250 mg/kg cy và 40 mg/kg bu ở nội dung nghiên cứu tạo mô hình suy tủy ở trên.
- Lô chuột suy tủy được ghép  $1 \times 10^6$  tế bào/con gồm 8 con chuột.
- Lô chuột suy tủy được ghép  $5 \times 10^6$  tế bào/con gồm 8 con chuột.

**Bảng 4.** Số liệu cân nặng của ghép tủy xương

SỐ LIỆU CÂN NẶNG CỦA GHÉP TỦY XƯƠNG						
LÔ	CHUỘT	BAN ĐẦU	N0	N7	N14	N21
LIỀU GHÉP $5 \times 10^6$ TẾ BÀO/CON	1	30	28	29	33	39
	2	30	25	31	30	36
	3	25	19	23	27	35
	4	27	22	26	27	35
	5	27	21	24	29	38
	6	25	20	17	CHẾT	
	7	25	23	24	25	CHẾT
	8	26	20	27	24	CHẾT
LIỀU GHÉP $1 \times 10^6$ TẾ BÀO/CON	1	26	21	23	22	26
	2	25	25	21	24	27
	3	26	21	22	27	31
	4	27	27	30	32	36
	5	27	17	19	18	27
	6	25	16	31	32	37
	7	25	25	31	33	39
	8	30	20	15	15	CHẾT

**Bảng 5.** Số liệu bạch cầu tổng của ghép tủy xương

SỐ LIỆU BẠCH CẦU TỔNG CỦA GHÉP TỦY XƯƠNG					
LÔ	CHUỘT	BAN ĐẦU	N0	N14	N30
LIỀU GHÉP $5 \times 10^6$ TẾ BÀO/CON	1	5250	1350	3750	7500
	2	7250	200	1600	4500
	3	4750	150	1400	4500
	4	5250	1000	2050	3000
	5	4500	450	2400	2600



	6	6250	1800	CHẾT	
	7	5750	650	2600	CHẾT
	8	8750	750	5650	CHẾT
LIỀU GHÉP 1X10LOG6 TẾ BÀO/CON	1	7250	1250	2800	4500
	2	6150	300	1650	3400
	3	4850	150	3600	2750
	4	6750	750	3000	6100
	5	4900	500	2250	4600
	6	5250	1800	3100	5950
	7	7600	650	2500	4800
	8	6200	950	2850	CHẾT

Bảng 6. Số liệu tử vong của ghép tủy xương

SỐ LIỆU TỬ VONG CỦA GHÉP TỬ XƯƠNG		
LÔ	CHUỘT	NGÀY TỬ VONG
LIỀU GHÉP 5X10LOG6 TẾ BÀO/CON	1	CÒN SỐNG
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	9
	7	27
	8	29
LIỀU GHÉP 1X10LOG6 TẾ BÀO/CON	1	CÒN SỐNG
	2	
	3	
	4	
	5	
	6	
	7	
	8	28