

ỨNG DỤNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TRONG ĐIỀU TRỊ CHẤN THƯƠNG CỘT SỐNG TỔN THƯƠNG TỦY MẠN TÍNH

Nguyễn Lê Bảo Tiên*, Đinh Ngọc Sơn*

TÓM TẮT⁵⁷

Mục tiêu: Đánh giá kết quả điều trị chấn thương cột sống tổn thương tủy mạn tính ứng dụng ghép tế bào gốc trung mô. **Phương pháp:** nghiên cứu mô tả tiến cứu lâm sàng. **Kết quả:** Các báo cáo nghiên cứu đã chứng minh sự cải thiện các chức năng vận động và cảm giác ở các mức độ khác nhau được quan sát thấy trong 10/10 trường hợp (100%) sau khi ghép tế bào gốc trung mô được đánh giá bởi Hiệp hội chấn thương cột sống người Mỹ (ASIA), 5 (50%) trong số 10 bệnh nhân nhận thấy cải thiện từ lớp A đến B, trong khi 1 trường hợp (10%) có cải thiện từ B đến C sau 6 tháng. Phân tích các kết quả điều trị tiếp theo chỉ ra rằng việc cấy MSC autologous là một kỹ thuật khả thi và an toàn. **Kết luận:** áp dụng thành công MSCs trong thực hành lâm sàng có liên quan đến sự cần thiết phải thực hiện các xét nghiệm chi tiết hơn để đánh giá hiệu quả của MSCs trên bệnh nhân tổn thương tủy sống.

Từ khóa: Tế bào gốc trung mô, tổn thương tủy mạn tính.

SUMMARY

APPLICATION ADIPOSE-DERIVED MESENCHYMAL STEM CELLS IN CHRONIC SPINAL CORD INJURY TREATMENT

Objective: To evaluate the results of application adipose-derived mesenchymal stem cells in chronic spinal cord injury treatment. **Method:** descriptive study descriptive study. **Results:** The study reports demonstrated improvement of motor and sensory functions of various degrees observed in 10/10 (100%) cases after mesenchymal stem cell transplantation. Measured by the American Spinal Injury Association (ASIA) scale, 5 (50%) out of the 10 patients observed an improvement at grade A to B, while 1 case (10%) saw an improvement from B to C after 6 months. Analysis of subsequent treatment results indicated that the transplantation of autologous MSCs is a feasible and safe technique. **Conclusion:** Successful application of the MSCs in the clinical practice is associated with the necessity of executing more detailed examinations to evaluate the effect of MSCs on the patients with spinal cord injury.

Keywords: adipose-derived mesenchymal stem cells, chronic spinal cord injury.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Chấn thương cột sống là loại chấn thương

thường gặp với tổn thương tủy thường để lại những hậu quả nghiêm trọng như liệt hoàn toàn hoặc không hoàn toàn. Theo Trung tâm Thống kê Chấn thương cột sống của Mỹ, cứ 1 triệu người thì có 40 người chấn thương cột sống, bao gồm cả những người đã sống sót sau tai nạn. Hàng năm, tỷ lệ mắc bệnh là 12.500 trường hợp mới [1]. Mức độ nghiêm trọng của SCI có thể thay đổi từ tình trạng liệt không hoàn toàn thành hoàn toàn do thiếu máu cơ hoành hoặc mất máu. Ngoài mức độ chấn thương cột sống, kiểu chấn thương cũng là một yếu tố quyết định xác định cơ hội hồi phục và lựa chọn liệu pháp điều trị. Việc phẫu thuật giải ép sớm có thể giúp bảo vệ những tế bào thần kinh giúp nâng cao tỉ lệ hồi phục sau chấn thương. Tuy nhiên, không quá 1% có dấu hiệu hồi phục tự nhiên hoàn toàn sau chấn thương. Hầu hết bệnh nhân sau xuất viện vẫn phải ngồi xe lăn suốt đời.

Việc kích hoạt và thúc đẩy NSC nội sinh là những quá trình đặc biệt quan trọng bởi vì chúng có thể huy động khoảng 500.000 - 2.000.000 tế bào mới tại chỗ tổn thương một tháng sau chấn thương [2]. Việc cấy ghép tế bào gốc trung mô có thể kích hoạt lại quá trình này. Vì vậy chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm: "*Đánh giá kết quả ứng dụng tế bào gốc trung mô trong điều trị chấn thương cột sống có tổn thương tủy mạn tính*" tại bệnh viện Việt Đức năm 2016.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1 Đối tượng nghiên cứu: Bao gồm 10 bệnh nhân có độ tuổi từ 18 – 65 tuổi, chấn thương cột sống mạn tính được lựa chọn vào nghiên cứu từ năm 2013 – 2016.

• **Tiêu chuẩn lựa chọn:** Các bệnh nhân được lựa chọn điều trị với MSCs là những bệnh nhân chấn thương cột sống cổ hoặc ngực nào trên hình ảnh MRI, có "hội chứng lâm sàng không đầy đủ" và trên hình ảnh chụp MRI ghi nhận hình ảnh nang rỗng (không phải sẹo thần kinh) tại vị trí tổn thương tủy sống, đã được phẫu thuật cố định cột sống giải ép.

• **Tiêu chuẩn loại trừ:** Bệnh nhân chấn thương cột sống liệt tủy không hoàn toàn và các bệnh nhân đã được điều trị phương pháp bổ trợ cảm ứng thần kinh trung được loại trừ khỏi nghiên cứu.

2.2 Phương pháp nghiên cứu:

*Bệnh viện hữu nghị Việt Đức
 Chịu trách nhiệm chính: Đinh Ngọc Sơn
 Email: sondinhngoc75@yahoo.com
 Ngày nhận bài: 20.3.2017
 Ngày phản biện khoa học: 12.5.2017
 Ngày duyệt bài: 23.5.2017

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả tiến cứu lâm sàng.

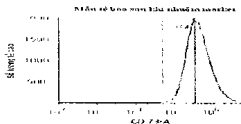
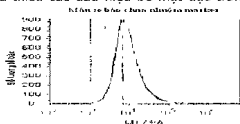
Nội dung thực hiện:

- **Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc trung mô thu nhận từ mô mỡ:** 100 – 150 ml được thu hoạch từ chính ứng viên tham gia nghiên cứu tại bệnh viện hữu nghị Việt Đức. Mỡ sau khi rửa loại hồng cầu bởi PBS được phân giải bởi collagenase trong thời gian 40 – 60 phút. Ly tâm, loại bỏ cơ và thu nhận SVF. Một phần SVF được đóng gói trong 5ml NaCL 0.9% để chuẩn bị cho mũi tiêm 1.

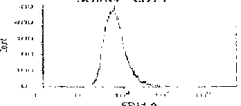
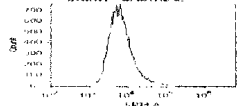
Một phần SVF còn lại được trải vào đĩa môi trường DMEM và nuôi cấy trong tủ ấm với điều kiện nhiệt độ 37°C và 5% CO₂ trong vòng thời gian 20 ngày với 4 lần cấy chuyển. Thu hoạch 20 – 30 triệu tế bào sau nuôi cấy tăng sinh, đóng gói trong 5ml NaCL 0.9% để chuẩn bị cho mũi tiêm 2,3.

- **Kiểm soát chất lượng tế bào gốc**

Kiểu hình miễn dịch: Định danh tế bào gốc trung mô được thực hiện bằng máy phân tích dòng chảy tế bào. 1×10^6 tế bào hòa tan trong 1 ml PBS được xác định bằng biểu hiện marker MSCs trên bề mặt như CD73, CD105, CD90, CD166 và thiếu các dấu hiệu bề mặt đặc trưng



Biểu đồ 1 Biểu đồ phân tích FACS biểu hiện CD73 bề mặt tế bào nuôi cấy



Biểu đồ 2 Biểu đồ phân tích FACS biểu hiện CD14 bề mặt tế bào nuôi cấy

Thế tích dịch tiêm mỗi mũi là 5ml với số lượng tế bào gốc trung mô bình sau phân lập và nuôi cấy mũi 1, mũi 2, mũi 3 lần lượt là: $3,1 \pm 1,29 (10^6 \text{ TB})$, $25,3 \pm 13,8 (10^6 \text{ TB})$, $24,7 \pm 12,01 (10^6 \text{ TB})$.

3.2 Kết quả lâm sàng và cận lâm sàng sau ghép

Bảng 1. Mức độ hồi phục được đo lường trên chỉ số ASIA

Tình trạng thần kinh		Khí khám lại sau 6 tháng					Tổng
Nhóm can thiệp	A	A	B	C	D	E	
		4	5	1	0	0	10
Tỉ lệ (100%)		40%	50%	10%	0	0	100

10/10 trường hợp (100%) sau khi ghép tế bào gốc trung mô được đánh giá bởi Hiệp hội chấn thương cột sống người Mỹ (ASIA) 5 (50%) trong số 10 bệnh nhân nhận thấy cải thiện từ lớp A đến B, trong khi 1 trường hợp (10%) có cải thiện từ B đến C sau 6 tháng.

CD14. Các tế bào được kiểm tra và định lượng bằng kính hiển vi và chụp ảnh kỹ thuật số.

Kiểm soát vô trùng: Mẫu tế bào trước khi được ứng dụng được kiểm soát endotoxin, mycoplasma và vi khuẩn vi nấm.

- **Quy trình cấy ghép và đánh giá:** Bệnh nhân được ứng dụng ghép tế bào gốc với 3 mũi tiêm tương ứng như sau: Mũi tiêm 1: 4.10^6 được tiêm dưới hướng dẫn CT vào trực tiếp vị trí nang nước của vị trí tổn thương. Mũi tiêm 2, 3: $20 - 30.10^6$ được tiêm tại vị trí L2 vào dịch não tủy. Các mũi tiêm cách nhau 30 ngày. Sau ghép bệnh nhân được đánh giá bằng các chỉ số: SF36, ASIA và MRI.

III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1 Kết quả phân lập và nuôi cấy tế bào gốc trung mô thu nhận từ mô mỡ

100% các mẫu đều vượt qua quá trình kiểm tra vi khuẩn vi nấm, endotoxin và mycoplasma trước khi cấy ghép. 100% các mẫu biểu hiện marker dương tính CD73, CD105, CD90, CD166 từ 89 – 95% và biểu hiện marker âm tính CD14 sau nuôi cấy 0%. Tỉ lệ tế bào sống sót trên 95% sau nuôi cấy là 100%.

Bảng 2. Kết quả 6 tháng điều trị trên MRI

	L (mm)	R (mm)	MCC (%)	MSCC (%)
Trước tiêm (n=10)	53,3 ± 3,9	7,2 ± 0,4	32,7 ± 4,5	36,9 ± 2,4
Sau tiêm 6 tháng (n=10)	30,1 ± 4,1	5,4 ± 1,3	22,0 ± 2,8	25,5 ± 2,3
P-value	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05

Với L: chiều dài tổn thương, R: độ rộng ống sống, MCC: tỉ lệ tổn thương cột sống tối đa, MSCC: tỉ lệ chèn ép cột sống tối đa.

Hình ảnh trên phim cộng hưởng từ cho thấy chiều dài tổn thương, độ rộng ống sống, tỉ lệ tổn thương cột sống tối đa và tỉ lệ chèn ép cột sống tối đa đều có cải thiện hơn so với 6 tháng trước tiêm tế bào gốc, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,05$.

Kết quả cho thấy 100% bệnh nhân có cải thiện chất lượng cuộc sống và 100% bệnh nhân cấy ghép không ghi nhận biến cố nghiêm trọng.

TRƯỜNG HỢP ĐIỂN HÌNH

Bệnh nhân Trần D, Nam, 31 tuổi, quê quán Hà Nội. Bệnh nhân tai nạn xe máy năm 2007, bệnh nhân được mổ cổ định tại BV Hữu Nghị Việt Đức. Đánh giá lâm sàng ban đầu: bệnh nhân mất vận động hoàn toàn hai chi dưới, hai tay vận động yếu, không cầm nắm được. Mất cảm giác từ ngực trở xuống. Đại tiểu tiện không tự chủ. Đánh giá trên X-Quang, CT cho thấy bệnh nhân C7-T1 đã được cố định. Trên MRI, bệnh nhân tổn thương tủy sống ngang mức C7-T1.

Kết luận: Bệnh nhân chấn thương cột sống cổ liệt tủy không hoàn toàn C7-T1, Độ B theo thang điểm ASIA. Bệnh nhân được chỉ định ghép tế bào gốc mô mỡ vào ngày 12/04/13. Sau ghép, đánh giá ban đầu, bệnh nhân tỉnh táo, không sốt và không có bất kỳ biến chứng nào.

Đánh giá kết quả bệnh nhân sau ghép

✓ 1 tháng sau tiêm MT1: Ghi nhận cảm giác nông đến vùng bụng. Bệnh nhân biết đói bụng và tăng cảm giác đại tiểu tiện, chưa ghi nhận dấu hiệu phục hồi về vận động.

✓ 3 tháng sau tiêm MT1: Ghi nhận cảm giác nông đến vùng bàn chân, tăng cảm giác đại tiểu tiện, cơ lực tăng nhưng chưa ghi nhận dấu hiệu phục hồi rõ về vận động. Sức khỏe tổng thể và tinh thần bệnh nhân tốt hơn. Bệnh nhân tập phục hồi chức năng tại nhà.

✓ 12 tháng sau tiêm MT1: Cảm giác đến vùng bàn chân, đại tiểu tiện tự chủ, cơ rắn chắc hơn, cơ lực tay tốt hơn, cầm nắm được. Sức khỏe tổng thể tốt hơn nhiều. Bệnh nhân tập phục hồi chức năng tại nhà.

✓ 1,5 năm sau tiêm MT1: Cảm giác đến vùng bàn chân, cơ lực tay tốt hơn, cầm nắm được. Đại tiểu tiện tự chủ.

✓ 2 năm sau tiêm MT1: Bệnh nhân có cảm giác nông ở tất cả các vị trí trên cơ thể. Vùng bàn chân có cảm giác sâu nhưng chưa rõ rệt. 2 tay vận động tốt, tay phải hoạt động linh hoạt (viết chữ, sử dụng máy vi tính,...); tay trái kém linh hoạt hơn (bì dính khớp). 2 chân co gập được, tuy nhiên chưa vận động được ngón chân. Đại tiểu tiện chủ động hoàn toàn gần như người bình thường.

IV. BÀN LUẬN

Khả năng tự tái tạo của hệ thần kinh trung ương (CNS) rất thấp là một thách thức cho việc phát triển các chiến lược điều trị mới. Tế bào gốc trung mô (MSCs) được đề xuất như là công cụ cho việc điều trị có thể cho rối loạn CNS.

Những nghiên cứu trên *in vitro* đã chứng minh rằng các tế bào giống tế bào thần kinh có nguồn gốc từ MSC có thể sống sót, di chuyển, tích hợp và giúp khôi phục chức năng và hành vi của bệnh nhân SCI và MSC có thể là một cách tiếp cận phù hợp để điều trị SCI [3-6]. Tuy nhiên, rất khó để theo dõi sự di chuyển, biệt hóa của các tế bào được cấy ghép trong cơ thể. Zhang và các cộng sự đầu tiên đã nghiên cứu trên mô hình thỏ, chứng minh rằng các tế bào gốc trung mô được cấy ghép (đã được đánh dấu) vào thỏ có thể homeing và biệt hóa thành tế bào thần kinh dưới cộng hưởng từ trong *in vivo*.

Trong các nghiên cứu mô hình động vật thí nghiệm của SCI, tiêm MSC đã dẫn đến việc bảo vệ đáng kể các tế bào thần kinh và giảm bớt thể tích nang nước và sẹo, và cải thiện chức năng vận động.

Trong nghiên cứu này, 10 bệnh nhân chấn thương cột sống cổ và ngực-thắt lưng mạn tính đã trải qua thời gian dài trong tình trạng liệt tủy hoàn toàn, với chức năng vận động được đánh giá theo chỉ số AIS - A. Sau ghép 6 tháng, có 5 bệnh nhân (50%) có cải thiện chức năng thần kinh theo thang điểm AIS (A-B) và 1 bệnh nhân (10%) có cải thiện về thang điểm AIS từ (B - C) sau 6 tháng. Kết quả trên cần lâm sàng cũng khá khả quan. Các chỉ số chiều dài và chiều rộng tổn thương có cải thiện đáng kể trước và sau ghép. Đặc biệt, chỉ số MCC và MSCC đều nhỏ hơn 30%. Điều này cho thấy hiệu quả điều trị đáng kể của

MSC thông qua biệt hóa thành CNS và kích thích tế bào gốc thần kinh tham gia quá trình sửa chữa tái tạo.

Trong nghiên cứu lâm sàng kéo dài, Park et al. (2012) cho thấy có 3 trong 10 bệnh nhân chấn thương cột sống cổ hoàn toàn được tiêm MSCs ngoài màng cứng [7]. Không may là sự phục hồi của động cơ chỉ quan sát được trong các phân đoạn gần với tổn thương tủy sống. Trong một nghiên cứu khác của Park và cộng sự, 10 bệnh nhân chấn thương cột sống nặng đã được thu nhận và nuôi cấy MSCs trong khoảng thời gian 4 tuần [7]. Tiếp theo, các bệnh nhân được tiêm 1ml dung dịch muối chứa 8×10^6 MSC vào nội mạc tủy và tiêm dịch 5ml nước muối chứa 4×10^7 MSCs vào ngoài cứng. Sau đó, vào tuần thứ 4 và 8, bệnh nhân đã được tiêm thêm 8ml dung dịch muối chứa 5×10^7 MSCs vào vị trí L2. Sau 6 tháng theo dõi, 6 trong số 10 bệnh nhân cho thấy sức cơ được cải thiện đáng kể, và 3 trong số 6 bệnh nhân đó sự cải thiện và dần dần thích ứng với hoạt động sinh hoạt thường ngày. Các kết quả nghiên cứu của nghiên cứu này cũng cho thấy những bằng chứng khả quan về kết quả điều trị với nhiều kết quả nghiên cứu của các tác giả khác trên thế giới.

V. KẾT LUẬN

Tế bào gốc trung mô là nguồn tế bào tiềm năng cho liệu pháp trị liệu SCI. Với kết quả nghiên cứu trên thế giới là bằng chứng quan trọng chứng minh hiệu quả của MSC trong mô hình SCI. Tuy nhiên, hiện tại mô hình SCI mạn

tính cần được nghiên cứu một cách quy mô và hệ thống hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M. B. Bracken, "Methylprednisolone in the management of acute spinal cord injuries," *Medical Journal of Australia*, vol. 153, no. 6, p. 368, 1990.
2. Bambakidis NC, Butler J, Horn EM, Wang X, Preul MC, et al. (2008) Stem cell biology and its therapeutic applications in the setting of spinal cord injury. *Neurosurg Focus* 24: E20.
3. Osaka M, Honmou O, Murakami T, Nonaka T, Houkin K, et al. (2010) Intravenous administration of mesenchymal stem cells derived from bone marrow after contusive spinal cord injury improves functional outcome. *Brain Res* 1343: 226-35.
4. Neuhuber B, Timothy Himes B, Shumsky JS, Gallo G, Fischer I (2005) Axon growth and recovery of function supported by human bone marrow stromal cells in the injured spinal cord exhibit donor variations. *Brain Res* 1035: 73-85.
5. Zurita M, Vaquero J (2006) Bone marrow stromal cells can achieve cure of chronic paraplegic rats: functional and morphological outcome one year after transplantation. *Neurosci Lett* 402: 51-5.
6. Yoshinaga K, Hashimoto M, Dezawa M, et al. (2005) Transplantation of bone marrow stromal cell-derived Schwann cells promotes axonal regeneration and functional recovery after complete transection of adult rat spinal cord. *J Neuropathol Exp Neurol* 64: 37-45.
7. Park JH, Kim DY, Sung IY, Choi GH, Jeon MH, et al. (2012) Long-term results of spinal cord injury therapy using mesenchymal stem cells derived from bone marrow in humans. *Neurosurgery* 70: 1238-47.

TÌNH HÌNH HIỆN MÁU TÌNH NGUYÊN VÀ MỘT SỐ YẾU TỐ ẢNH HƯỞNG ĐẾN HOẠT ĐỘNG HIỆN MÁU TÌNH NGUYÊN Ở HAI KHỐI SINH VIÊN Y2K44 VÀ Y3K43 TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÁI BÌNH

Đặng Thị Thu Hằng¹, Nguyễn Thị Hiền¹,
Nguyễn Văn Tiến¹, Đỗ Văn Dung², Ngô Mạnh Quân³

TÓM TẮT

Mục tiêu: Mô tả tình hình hoạt động hiện máu tình nguyên và một số yếu tố ảnh hưởng đến hoạt

động hiện máu tình nguyên ở sinh viên hai khối Y2K44 và Y3K43 Trường Đại học Y Dược Thái Bình. **Phương pháp nghiên cứu:** phương pháp dịch tễ học mô tả qua cuộc điều tra cắt ngang. **Kết quả nghiên cứu:** Tỷ lệ sinh viên đã từng hiến máu ở năm 2 là 43,4% thấp hơn năm 3 (51,6%) có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. Tập tục, tôn giáo là nguyên nhân chiếm tỷ lệ cao nhất gây cản trở việc hiến máu của cả sinh viên năm 2 (26,3%) và sinh viên năm 3 (77,2%). Có 3 yếu tố ảnh hưởng đến hành vi hiến máu: dân tộc, khối và tham gia CLB hiến máu.

Từ khóa: Hiến máu tình nguyện, yếu tố ảnh hưởng, sinh viên, Thái Bình.

¹Trường Đại học Y Dược Thái Bình

²Liên hiệp các Hội khoa học và kỹ thuật Ninh Bình

³Viện Huyết học - Truyền máu Trung ương

Chịu trách nhiệm chính: Đỗ Văn Dung

Email: dungnb62@gmail.com

Ngày nhận bài: 30.3.2017

Ngày phản biện khoa học: 15.5.2017

Ngày duyệt bài: 24.5.2017