

# NGHIÊN CỨU CHẤT LƯỢNG KHỐI TẾ BÀO GỐC TỪ TUÝ XƯƠNG THEO PHƯƠNG PHÁP LY TÂM PHÂN LỚP TỶ TRỌNG TẾ BÀO TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG HUẾ

Lê Phước Quang<sup>1</sup>, Nguyễn Duy Thăng<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Hồng Hạnh<sup>1</sup>,  
Trần Văn Lượng<sup>1</sup>, Bùi Minh Đức<sup>1</sup>, Phan Quang Hoàng Minh<sup>1</sup>,  
Nguyễn Xuân Lường<sup>1</sup>, Đồng Văn Tâm<sup>1</sup>

## TÓM TẮT

*Hiện nay, tế bào gốc từ xương đang quan tâm được nghiên cứu. Sử dụng tế bào gốc từ xương tự thân có thể điều trị thành công các trường hợp không liền xương, khớp giả thân dài, hoại tử vô khuẩn chỏm xương đùi.*

**Mục tiêu:** Đánh giá chất lượng khối tế bào gốc từ xương bằng phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào.

**Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** 33 bệnh nhân khớp giả, chậm liền xương được điều trị tại Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 3/2013 đến tháng 9/2014. Mỗi bệnh nhân được lấy 300-400 ml dịch từ xương chậu, tách lấy thành phần tế bào đơn nhân bằng phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào (Dùng dung dịch Ficoll có tỷ trọng 1,077 g/l).

**Kết quả:** Thể tích khối tế bào gốc từ xương 7-10ml, số lượng tế bào có nhân:  $213,26 \pm 173,49$  G/L. Tế bào đơn nhân là:  $78,95 \pm 41,40$  G/L; số lượng tế bào gốc CD34(+) là:  $20,72 \pm 7,58 \times 10^6$ .

**Kết luận:** Quy trình thu thập, chiết tách khối tế bào gốc từ xương bằng phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào cho chất lượng cao.

**Từ khóa:** Tế bào gốc từ xương, khớp giả, chất lượng khối tế bào gốc

## ABSTRACT

### EVALUATE THE QUALITY OF STEM CELLS MASS FROM BONE MARROW BY DENSITY-GRADIENT CENTRIFUGATION METHOD AT HUE CENTRAL HOSPITAL

Le Phuoc Quang<sup>1</sup>, Nguyen Duy Thang<sup>1</sup>, Nguyen Thi Hong Hanh<sup>1</sup>,  
Tran Van Luong<sup>1</sup>, Bui Minh Duc<sup>1</sup>, Phan Quang Hoang Minh<sup>1</sup>,  
Nguyen Xuan Luong<sup>1</sup>, Dong Van Tam<sup>1</sup>

*Recently, bone marrow stem cells have received intense interests from researchers. Cases of non-healing fracture, long bone nonunions, and aseptic femoral head osteonecrosis can be successfully treated using autologous bone marrow stem cells.*

**Objectives:** To assess the quality of the collection process, volume extraction of stem cells from bone marrow by density-gradient centrifugation method.

**Subjects and methods:** A total of 33 patients with nonunion of long bone, short stature and limb length discrepancy were treated in Hue central Hospital from 3/2013 to 9/2014. Each patient was withdrawn 300-400 milliliters of bone marrow from the pelvis. Mononuclear cells component was separated by the gradient density centrifugation method using Ficoll solution 1.077.

- 
1. TT Huyết học - Truyền máu, Bệnh viện Trung ương Huế
- Ngày nhận bài (received): 22/10/2014; Ngày phản biện (revised): 15/11/2014;
  - Ngày đăng bài (accepted): 29/11/2014
  - Người phản biện: PGS.TS Phạm Như Hiệp, ThS.BS. Phan Thị Thùy Hoa
  - Người phản hồi (corresponding author): Lê Phước Quang
  - Email: quangktcl@yahoo.com

## Nghiên cứu chất lượng khói tế bào gốc từ tuy xương...

**Results:** The volume of block bone marrow stem cells were from 7 to 10 milliliters, the number of nuclear cells were  $213.26 \pm 173.49$  G/L, mononuclear cells were  $78.95 \pm 41.40$  G/L; number of CD 34(+) cells were  $20.72 \pm 7.58 \times 10^6$ .

**Conclusion:** The process of collecting, extracting stem cells from bone marrow fluid mass by density-gradient centrifugation method had good quality.

**Key words:** bone marrow stem cell, nononion, quality mass of stem cells.

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Hiện nay, việc phát hiện và sử dụng tế bào gốc (TBG) trong điều trị các bệnh lý ung thư, các tổn thương hay thay thế các cơ quan, tổ chức trong cơ thể con người đang được tập trung nghiên cứu và đã thu được những kết quả rất khả quan. Tế bào gốc đang được ứng dụng rộng rãi không chỉ trong điều trị bệnh của các bệnh lý huyết học mà còn trong nhiều bệnh của các cơ quan tổ chức khác với mục đích phục hồi, tái tạo tổ chức. Các tế bào gốc được thu thập ở nhiều vị trí khác nhau trong cơ thể như: Gan phổi, máu ngoại vi, máu cuống rốn.... đặc biệt là tuy xương. Tuy xương là một tổ chức chứa nhiều loại tế bào gốc khác nhau như: tế bào gốc tạo máu, tế bào gốc trung mô, tế bào gốc nội mạc...[2]

Các tế bào gốc của tuy xương đã được nghiên cứu rất sâu và ứng dụng phổ biến trong lâm sàng với kết quả rất tốt, đặc biệt là trong điều trị những bệnh lý huyết học. Bên cạnh đó, một trong những ứng dụng của tế bào gốc đã được một số tác giả nghiên cứu và thực hiện thành công trong điều trị những tổn thương xương, khớp khó hồi phục như: Hoại tử vô khuẩn chòm xương đùi, điều trị khớp già, gãy xương không liền, rút ngắn thời gian kéo dài chi ...[1]

Dịch tuy xương có chứa một phần các tế bào gốc, còn lại đa số là các tế bào đang trưởng thành hoặc đã trưởng thành không có vai trò trong tạo xương. Vì vậy, để đạt được yêu cầu và mục đích điều trị, dịch tuy xương được xử lý cô đặc bằng phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào để tập trung được phần lớn số lượng tế bào gốc và loại bỏ đa số các thành phần tế bào trưởng thành.

Số lượng và chất lượng tế bào gốc trong sản phẩm cô đặc này có ảnh hưởng rất lớn đến kết quả điều trị của bệnh nhân trên lâm sàng. Chất lượng

sản phẩm tế bào gốc có đặc đóng vai trò quyết định cho sự thành công hay thất bại của ca ghép tế bào gốc.

Xuất phát từ thực tiễn đó, chúng tôi tiến hành đề tài này nhằm mục tiêu sau: *Đánh giá số lượng và chất lượng tế bào gốc thu được từ tuy xương theo phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào.*

### II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

**2.1. Đối tượng nghiên cứu:** 33 bệnh nhân có chỉ định ghép tế bào gốc tuy xương tự thân tại Trung tâm Chấn thương chỉnh hình - Bệnh viện Trung ương Huế từ tháng 3/2013 đến tháng 9/2014.

**2.2. Phương pháp nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả cắt ngang

- Cố mẫu nghiên cứu: chọn mẫu ngẫu nhiên thuận tiện, tổng số mẫu đạt tiêu chuẩn là 33.

- Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu: Kỹ thuật lấy tuy xương, Kỹ thuật xử lý cô đặc tế bào gốc từ túi dịch tuy xương, Kỹ thuật xác định các thành phần và chất lượng khói TBG, Kỹ thuật đếm tế bào CD 34, Xác định tỷ lệ tế bào sống.

- Thu thập và xử lý số liệu: phần mềm SPSS 15.0.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Bảng 3.1. Phân bố bệnh nhân theo nhóm tuổi

Nhóm tuổi	n	%
$\leq 50$ (Nhóm I)	25	75,80
$> 50$ (Nhóm II)	8	24,20
Tổng cộng	33	100,0
Tuổi thấp nhất		13
Tuổi cao nhất		71
Tuổi trung bình $\pm$ SD		$37,90 \pm 16,20$

Bệnh viện Trung ương Huế

Bảng 3.2. Phân bố bệnh nhân theo giới

Giới	n	%
Nam	24	72,7
Nữ	9	27,3
Tổng	33	100,0

Bảng 3.3. Đặc điểm về tuổi và giới của bệnh nhân

Nhóm	Nam		Nữ		Tuổi (năm)	p
	n	%	n	%		
Khớp già	13	39,4	6	18,2	38,26 ± 15,70	> 0,05
Khác	11	33,3	3	9,1	37,36 ± 17,40	
Tổng	24	72,7	9	27,3	37,88 ± 16,17	

Bảng 3.4. Một số chỉ số máu ngoại vi của đối tượng nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm I (n=25) X ± SD	Nhóm II (n=8) X ± SD	Chung (n=33) X ± SD	p <sup>I-II</sup>
SLHC M/ $\mu$ l	4,60 ± 0,53	4,06 ± 0,37	4,48 ± 0,55	< 0,05
Hb g/dl	13,09 ± 1,22	12,66 ± 0,98	12,99 ± 1,16	> 0,05
SLBC G/l	6,42 ± 1,82	6,41 ± 1,08	6,42 ± 1,66	> 0,05
Gran G/l	3,81 ± 1,12	3,28 ± 0,41	3,68 ± 1,02	> 0,05
Lympho G/l	1,98 ± 0,67	2,58 ± 0,89	2,13 ± 0,76	< 0,05
Mono G/l	0,63 ± 0,38	0,53 ± 0,10	0,61 ± 0,33	> 0,05
SLTC G/l	238,68 ± 48,81	254,13 ± 71,55	242,42 ± 54,33	> 0,05

Bảng 3.5. Các chỉ số máu ngoại vi trước và sau khi lấy tủy

Chỉ số	Trước khi lấy dịch tủy xương (n=33) X ± SD	Sau khi lấy dịch tủy xương (n=33) X ± SD	p
SLHC M/ $\mu$ l	4,48 ± 0,55	4,34 ± 0,54	> 0,05
Hb g/l	12,99 ± 1,16	12,64 ± 1,18	> 0,05

*Nghiên cứu chất lượng khói tê bào gốc từ tuy xương...*

SLBC G/l	$6,42 \pm 1,66$	$6,66 \pm 1,6$	$> 0,05$
Gran G/l	$3,68 \pm 1,02$	$3,87 \pm 1,08$	$> 0,05$
Lympho G/l	$2,13 \pm 0,76$	$2,18 \pm 0,70$	$> 0,05$
Mono G/l	$0,61 \pm 0,33$	$0,58 \pm 0,22$	$> 0,05$
SLTC G/l	$242,42 \pm 54,33$	$228,73 \pm 54,14$	$> 0,05$

Bảng 3.6: Các chỉ số về tuy toàn phần (TTP) của đối tượng nghiên cứu

Chỉ số	Nhóm I (n=25) $X \pm SD$	Nhóm II (n=8) $X \pm SD$	Chung (n=33) $X \pm SD$	$p^{I-II}$
SLHCTTP G/l	$4,01 \pm 0,43$	$3,69 \pm 0,36$	$3,94 \pm 0,43$	$> 0,05$
SLBCTTP G/l	$20,33 \pm 9,35$	$19,76 \pm 4,91$	$20,19 \pm 8,42$	$> 0,05$
SL BC ĐNTTP G/l	$6,40 \pm 3,50$	$6,29 \pm 3,64$	$6,37 \pm 3,47$	$> 0,05$
Tỷ lệ CD34+ (%)	$0,51 \pm 0,08$	$0,35 \pm 0,06$	$0,47 \pm 0,11$	$< 0,05$
Số lượng CD34+TTP/1ml ( $\times 10^6$ )	$0,10 \pm 0,04$	$0,07 \pm 0,03$	$0,09 \pm 0,04$	$< 0,05$
Số lượng CD34(+) TTP/sản phẩm ( $\times 10^6$ )	$34,34 \pm 13,01$	$25,19 \pm 10,85$	$32,12 \pm 12,98$	$> 0,05$

Bảng 3.7: Một số chỉ số tuy xương của đối tượng nghiên cứu theo giới

Chỉ số	Nam (n=24) $X \pm SD$	Nữ (n=9) $X \pm SD$	Chung (n=33) $X \pm SD$	$p^{I-II}$
SLHC TTP G/l	$4,07 \pm 0,42$	$3,58 \pm 0,23$	$3,94 \pm 0,43$	$< 0,05$
SLBC TTP G/l	$20,53 \pm 9,58$	$19,30 \pm 4,32$	$20,19 \pm 8,42$	$> 0,05$
SLBCĐN TTP G/l	$6,89 \pm 3,71$	$5,00 \pm 2,40$	$6,37 \pm 3,48$	$> 0,05$
Tỷ lệ CD34+ (%)	$0,49 \pm 0,10$	$0,42 \pm 0,09$	$0,47 \pm 0,11$	$> 0,05$
Nồng độ CD34(+) TTP/1ml( $\times 10^6$ )	$0,098 \pm 0,04$	$0,08 \pm 0,03$	$0,09 \pm 0,04$	$> 0,05$
Số lượng CD34(+) TTP/sản phẩm ( $\times 10^6$ )	$33,87 \pm 13,80$	$27,47 \pm 9,66$	$32,12 \pm 12,98$	$> 0,05$

## Bệnh viện Trung ương Huế

*Bảng 3.8. Số lượng hồng cầu, tế bào bạch cầu, tế bào đơn nhân và tỷ lệ tế bào sống trong khối tế bào gốc*

Chi số	Giá trị thấp nhất	Giá trị cao nhất	X ± SD (n=33)
SLHC M/ $\mu$ l	0,09	1,25	0,49 ± 0,28
SLBC G/l	77,90	980,00	213,26 ± 173,49
SLBC ĐN G/l	27,56	180,00	78,95 ± 41,40
Tỷ lệ tế bào sống %	92,00	99,00	97,97 ± 1,47

*Bảng 3.9. Tỷ lệ và số lượng tế bào CD34(+) trong khối tế bào gốc*

Chi số	Giá trị thấp nhất	Giá trị cao nhất	X ± SD (n=33)
Tỷ lệ TBCD34 (+) (%)	0,56	3,92	1,46 ± 0,74
Tỷ lệ CD34 (+) sống	92,00	99,00	97,97 ± 1,47
Nồng độ CD34(+)/1ml ( $\times 10^6$ )	0,13	5,5	2,43 ± 1,03
Tổng số lượng CD34(+) ( $\times 10^6$ )	10,12	43,90	20,72 ± 7,58

### IV. BÀN LUẬN

Trong nghiên cứu của chúng tôi đã chia các đối tượng nghiên cứu thành 2 nhóm: Nhóm I là những bệnh nhân từ 50 tuổi trở xuống - là những đối tượng trong độ tuổi lao động, có sức khỏe và hoạt động mạnh; Nhóm II gồm những bệnh nhân trên 50 – là những đối tượng ngoài độ tuổi lao động. Tuổi trung bình của các bệnh nhân này là  $37,88 \pm 16,17$ , chỉ có 1 bệnh nhân 13 tuổi còn lại đa số các bệnh nhân đều ở tuổi trưởng thành, trong đó số bệnh nhân trong độ tuổi lao động là 25 bệnh nhân (chiếm tỷ lệ 75,8%). Điều này cho thấy rằng các tổn thương xương khớp khó hồi phục chủ yếu xảy ra ở độ tuổi lao động và ở nam giới, là những đối tượng phải hoạt động mạnh kết hợp với cường độ làm việc nặng nhọc nên dễ gặp phải các chấn thương trong lao động, sinh hoạt. Chính vì vậy việc điều trị các tổn thương và phục hồi chức năng vận động cho những bệnh nhân này mang ý nghĩa quan trọng về kinh tế - xã hội (Bảng 3.1.)

Trong thời gian từ tháng 2/2013 đến tháng

9/2014, đã có trên 33 bệnh nhân có chỉ định ghép tế bào gốc tuy xương tự thân điều trị các tổn thương xương khớp khó hồi phục như khớp giả, chật liền xương, khuyết hổng xương, nang xương... có đủ tiêu chuẩn để đưa vào nghiên cứu, trong đó có 24 bệnh nhân nam và 9 bệnh nhân nữ, tỷ lệ nam /nữ ~ 3/1 (Bảng 3.2.) Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cũng tương đồng với kết quả nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thanh Bình khi nói về đặc điểm giới tính của những bệnh nhân tổn thương xương khớp có chỉ định ghép tế bào gốc tuy xương tự thân [1].

Toàn bộ các đối tượng nghiên cứu đều được kiểm tra công thức máu, bilan đông cầm máu trước khi có chỉ định ghép tế bào gốc tuy xương. Công thức máu được tiến hành trên máy CellDyn 3200 hoặc Sysmex XS800i . Bảng 3.6 cho thấy các giá trị trung bình của một số chỉ số máu ngoại vi như số lượng hồng cầu, hemoglobin, số lượng bạch cầu, công thức bạch cầu, số lượng tiểu cầu đều nằm trong giới hạn bình thường của người trưởng thành. Có 1 bệnh nhân có chỉ số Hb là 11,1 g/dl, thấp hơn của người

bình thường nhưng vẫn có thể lấy dịch tuy xương được mà không cần truyền máu.

Xét riêng theo từng nhóm tuổi của bệnh nhân, chúng tôi nhận thấy rằng nhóm bệnh nhân trên 50 tuổi (nhóm II) có số lượng hồng cầu thấp hơn so với nhóm bệnh nhân dưới 50 tuổi (nhóm I). Trong khi đó thì số lượng bạch cầu Lympho thì lại cao hơn nhóm bệnh nhân dưới 50 tuổi, sự khác biệt này có ý nghĩa thống kê ( $p < 0,05$ ) (Bảng 3.4). Sự khác biệt này có thể do nhóm bệnh nhân trên 50 tuổi có chế độ dinh dưỡng không tốt bằng nhóm bệnh nhân trẻ hơn và sự hồi phục sau chấn thương thường kém hơn nhóm bệnh nhân khác nên ảnh hưởng đến quá trình sinh máu. Tuy nhiên hầu hết các bệnh nhân có số lượng hồng cầu và nồng độ huyết sắc tố vẫn nằm trong giới hạn bình thường của người Việt Nam trưởng thành nên vẫn bảo đảm an toàn cho quá trình thu thập dịch tuy xương [3].

Tổng thể tích dịch tuy xương: Một số tác giả đã ứng dụng ghép trực tiếp dịch tuy xương chưa qua xử lý cõ đặc vào ổ khớp giả thân xương dài với thể tích thay đổi khác nhau. Hernigou (2005) lấy trung bình 250ml tuy xương, chiết tách cõ đặc huyền dịch lại còn 30 ml và ghép vào bệnh nhân. Gangji (2005) đã lấy 350-400 ml dịch tuy xương để chiết tách cõ đặc còn 50 ml để ghép điều trị cho 10 bệnh nhân khớp háng bị hoại tử chỏm xương đùi I, II [8], [9].

Theo thông tư hướng dẫn hoạt động truyền máu 2013, người khỏe mạnh có cân nặng từ 45kg trở lên được phép hiến máu toàn phần không quá 9 ml/kg cân nặng và không quá 500ml mỗi lần [8]. Bên cạnh đó, dịch tuy xương nằm trong các khoang xương xốp của xương chậu nên càng ít ảnh hưởng nhiều đến huyết động. Chính vì vậy, chúng tôi áp dụng lấy thể tích dịch tuy xương chung cho tất cả 33 bệnh nhân là từ 300 đến 400 ml, tùy thuộc vào cân nặng của bệnh nhân. [3], [4].

Trong suốt quá trình lấy dịch tuy xương, bệnh nhân đều được truyền dịch như nước muối sinh lý 0,9% hoặc Ringer. Chúng tôi đã tiến hành kiểm tra công thức máu ngoại vi ngay sau khi lấy dịch tuy xương xong và nhận thấy rằng: sau khi lấy khoảng

350ml dịch tuy xương các chỉ số máu ngoại vi của bệnh nhân như hồng cầu, lượng huyết sắc tố (Hb), tiểu cầu có giảm nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Số lượng Bạch cầu sau khi lấy có hiện tượng tăng nhẹ nhưng không đáng kể. Tuy nhiên các giá trị này đều nằm trong giới hạn bình thường. Kết quả này tương đồng với kết quả của tác giả Lý Tuấn Khải [5], [7]. Thực tế qua theo dõi trong và sau quá trình lấy dịch tuy xương, chúng tôi không gặp trường hợp nào bị tai biến như sốc hay tụt huyết áp...

Kết quả ở bảng 3.8. cho thấy số lượng tế bào bạch cầu trong khói tế bào gốc được tách theo phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào là  $213,26 \pm 173,49$  G/l, trong đó tỷ lệ tế bào đơn nhân (MNC) chiếm khá cao  $78,95 \pm 41,40$  từ 27,56 – 180,00 G/l, còn lại là các loại bạch cầu hạt trưởng thành. Số lượng hồng cầu lẫn vào trong sản phẩm khói tế bào gốc còn lại là khoảng  $0,49 \pm 0,28$  M/ml. Kết quả này phù hợp với tác giả Lý Tuấn Khải, số lượng hồng cầu lẫn vào khói tế bào gốc là:  $0,12 \pm 0,02$  M/ml (với thể tích dịch tuy xương là 250ml) [4]. Tác giả Nguyễn Thanh Bình khi nghiên cứu về sản phẩm tế bào gốc đã có so sánh với mẫu nghiên cứu sử dụng máy tách COM.TEC thì tỷ lệ lỗ hồng cầu của khói tế bào gốc tách bằng máy cao hơn, đây chính là ưu điểm của phương pháp tách tế bào gốc bằng phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng bằng so với tách bằng máy. Các chỉ số về bạch cầu, số lượng tế bào đơn nhân trong sản phẩm tế bào gốc có sự khác biệt giữa 2 nhóm tuổi nhưng không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ) [1].

Trong các thành phần của khói tế bào gốc thì tỷ lệ CD34(+) và tổng số lượng tế bào CD34(+) là quan trọng nhất vì nó thể hiện đậm độ và tổng số tế bào gốc tạo máu thu được. Tỷ lệ tế bào CD34(+) của khói tế bào gốc thu được là:  $1,46 \pm 0,74$  %, sự khác biệt này giữa hai nhóm tuổi là không có ý nghĩa thống kê ( $p > 0,05$ ). Kết quả nghiên cứu cũng cho thấy nồng độ tế bào CD34(+)/1ml khói tế bào gốc và tổng số lượng tế bào CD34(+) trong sản phẩm lần lượt là:  $2,43 \pm 1,03$  và  $20,72 \pm 7,58 \times 10^6$ .

## Bệnh viện Trung ương Huế

Mục tiêu chính của quy trình chiết tách tế bào gốc từ dịch tuy xương là giữ lại được tối đa tế bào đơn nhân trong đó có chứa lớp tế bào gốc tạo máu và các tế bào gốc trung mô và loại bỏ phần lớn tế bào khác như hồng cầu, tiểu cầu. Kết quả ở bảng 3.8. cho thấy lượng hồng cầu còn lại trung bình là  $0,49 \pm 0,28$  M/ $\mu$ l không có sự khác biệt nhiều giữa 2 nhóm tuổi. Kết quả này có khác so với kết quả của tác giả Nguyễn Thanh Bình, số lượng hồng cầu tồn dư trong khối tế bào gốc trung bình là:  $0,18 \pm 0,27$  M/ $\mu$ l [1], điều này có thể là do thể tích dịch tuy xương thu thập của chúng tôi khác so với tác giả Nguyễn Thanh Bình, chúng tôi lấy dịch tuy xương là 300 - 400 ml, còn tác giả Nguyễn Thanh Bình chỉ lấy 250 ml.

Khả năng loại bỏ tốt hồng cầu là một tiêu chí quan trọng, đặc biệt trong trường hợp khối tế bào gốc cần bảo quản trong thời gian lâu hơn 3-5 ngày trước khi ghép. Khi đó khối tế bào gốc cần phải bảo quản đông lạnh ở nhiệt độ  $-196^{\circ}\text{C}$  trong Nitơ lỏng và phải rã đông trước khi ghép lại cho bệnh nhân. Trước khi đông lạnh, nếu lượng hồng cầu còn tồn dư nhiều thì chúng ta phải quay ly tâm nhằm loại bỏ tiếp rồi mới có thể làm đông lạnh để bảo quản được. Kết quả của chúng tôi tương tự như của các tác giả Nguyễn Thanh Bình [1], Lý Tuấn Khải [7]. Trong nghiên cứu của tác giả Nguyễn Thanh Bình còn có sự so sánh với kết quả tách bằng máy COM.TEC thì thấy số lượng tồn dư hồng cầu còn lại trong khối tế bào gốc còn khá lớn. Theo Vrielink và cộng sự

(2002) khi tách tuy xương bằng 2 loại máy tách tế bào khác nhau là Cobe Spectra và Fenwal CS 3000 plus, khối tế bào gốc thu được có thể tích lớn hơn nên phải tiếp tục quay ly tâm cô đặc lại và loại bỏ tiếp hồng cầu [10]

## V. KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 33 bệnh nhân bị tổn thương xương khớp và được chỉ định điều trị ghép tế bào gốc tuy xương tự thân tại Trung tâm Chấn Thương Chỉnh Hình – Bệnh viện TW Huế từ tháng 3/2013 – 8/2014, bước đầu chúng tôi có một số kết luận sau:

- Quy trình thu thập và xử lý tế bào gốc từ dịch tuy xương bằng phương pháp ly tâm phân lớp tỷ trọng tế bào đạt hiệu quả cao về số lượng: Số lượng tế bào gốc CD34(+) thu được là  $20,72 \pm 7,58 \times 10^6$  tế bào.
- Chất lượng khối tế bào gốc đạt được khá cao:
  - + Tỷ lệ tế bào sống đạt trên 90% trung bình  $97,97 \pm 1,47\%$
  - + Nuôi cấy tạo cụm tế bào gốc cho kết quả 100% có mọc cụm tế bào chứng tỏ tế bào gốc thu được có khả năng sinh sản và biệt hóa tốt.
  - + Nuôi cấy vi khuẩn 100% mẫu âm tính, chúng tôi quy trình thực hiện đã không để nhiễm vi khuẩn, đảm bảo được tính vô khuẩn cho sản phẩm tế bào gốc.
- Quy trình thực thu thập dịch tuy xương bảo đảm an toàn cho bệnh nhân: Tất cả 100% bệnh nhân không xảy ra bất cứ tai biến nào trong hoặc sau khi tiến hành lấy dịch tuy xương

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Thanh Bình và cộng sự (2012), “Hiệu quả sử dụng tế bào gốc tuy xương tự thân trong điều trị một số tổn thương xương khớp khó hồi phục”, Tạp chí Y học Việt Nam, 396, trang 551 - 557.
2. Trần Văn Bé (1999), “Tủy xương – máu cuống rốn”, *Ghép tuy xương*, Nhà xuất bản Y học, trang 07 - 10.
3. Bộ Y tế (2003), “Các giá trị sinh học về huyết học”, *Các giá trị sinh học người Việt Nam bình thường, thập kỷ 90 - Thế kỷ XX*, Nhà xuất bản Y học, trang 73
4. Bộ Y tế (2013), *Thông tư hướng dẫn hoạt động Truyền máu*.
5. Nguyễn Thị Thu Hà, Lý Tuấn Khải và cộng sự (2013), “Hiệu quả sử dụng tế bào gốc tuy xương trong điều trị khớp giả, hoại tử vô khuẩn chỏm xương đùi và kéo dài chí”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 405, trang 33 - 40.
6. Lê Xuân Hải, Nguyễn Anh Trí (2012), “Một số

## *Nghiên cứu chất lượng khói tế bào gốc từ tủy xương...*

- kinh nghiệm và quan điểm cần lưu ý khi triển khai ghép tế bào gốc tạo máu”, *Một số chuyên đề*, IV, trang 363 – 378
7. Lý Tuấn Khải và cộng sự (2013), “Nghiên cứu hiệu quả tạo khói tế bào gốc từ dịch tủy xương bằng phương pháp ly tâm theo phân lớp tỷ trọng tế bào”, *Tạp chí Y học Việt Nam*, 405, trang 86 – 92
  8. Marcus Jager, Philippe Hernigou, Christoph Zilkens, et al. (2010), Cell therapy in bone healing disorders, *Orthopedic Reviews*, 2:e20, pp 79 - 85.
  9. Gangji V, Hauzeur JP, Matos C, et al. (2004), “Treatment of Osteonecrosis of the femoral Head with Implantation of Autologous Bone-Marrow Cells. A pilot Study”, *J Bone Joint Surg AM*. 86: p.1153-1160
  10. Vrielink H (2014), CD34 collection with spectra optia, *Vox Sanguinis*, 107(1), pp 233