

phẫu bệnh- Sinh học phân tử, Bệnh viện K, cơ sở Tân Triều, chúng tôi rút ra kết luận sau:

- UTBMNTG thường gặp ở nữ, tỷ lệ nữ/nam là 7,3/1. Tuổi trung bình mắc bệnh là  $37,5 \pm 14$ , U thường gặp ở thùy phải chiếm 43,4%.

- Xác định 10/15 biến thể bao gồm: thông thường (21,2%), vi ung thư biểu mô nhú (17,2%), xơ hóa lan tỏa và tế bào cao (16,2%), có vỏ (11,1%), nang (9,1%), ái toan (6,0%) và 1% các biến thể dạng sàng phôi dậu, giống Warthin và đặc.

Mỗi biến thể có đặc điểm cấu trúc và hình thái tế bào khác nhau nhưng có chung đặc điểm nhân của UTBMNTG. Các biến thể UTBMNTG được sắp xếp vào các nhóm nguy cơ khác nhau. Do đó, chẩn đoán các biến thể mô bệnh học của UTBMNTG trên lâm sàng là thực sự cần thiết và hữu ích cho các nhà lâm sàng trong việc điều trị và tiên lượng cho bệnh nhân.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, et al (2021). "Cancer statistics for the year 2020: An overview". Int J Cancer,
2. Lloyd RV, Osamura RY, Klöppel G, et al (2017). WHO Classification of Tumours of Endocrine Organs, Lyon, 10,
3. Song E, Jeon M J, Oh H S, et al (2018). "Do aggressive variants of papillary thyroid carcinoma have worse clinical outcome than classic papillary thyroid carcinoma?". Eur J Endocrinol, 179 (3), 135-142.
4. Trần Ngọc Dũng (2012). Nghiên cứu phân loại mô bệnh học và giá trị của hóa mô miễn dịch trong chẩn đoán ung thư biểu mô tuyến giáp. Luận văn Tiến sỹ y học: Trường Đại học Y Hà Nội.
5. Đinh Xuân Cường (2010). Nghiên cứu đặc điểm lâm sàng, mô bệnh học và kết quả điều trị giải phẫu bệnh ung thư tuyến giáp tại bệnh viện K. Luận văn Thạc sỹ y học. Hà Nội: Trường Đại học Y Hà Nội.
6. Phạm Duy Đạt (2019). Nghiên cứu đặc điểm giải phẫu bệnh và bộc lộ BRAF V600E bằng hóa mô miễn dịch trong ung thư biểu mô nhú tuyến giáp. Luận văn Bác sĩ chuyên khoa II. Hà Nội: Đại học Y Hà Nội.
7. Chereau N, Giudicelli X, Pattou F, et al (2016). "Diffuse Sclerosing Variant of Papillary Thyroid Carcinoma Is Associated With Aggressive Histopathological Features and a Poor Outcome: Results of a Large Multicentric Study". J Clin Endocrinol Metab, 101 (12), 4603-4610.
8. Carr A A, Yen T W F, Ortiz D I, et al (2018). "Patients with Oncocytic Variant Papillary Thyroid Carcinoma Have a Similar Prognosis to Matched Classical Papillary Thyroid Carcinoma Controls". Thyroid, 28 (11), 1462-1467.

## NGHIÊN CỨU ĐẶC ĐIỂM TẾ BÀO TỦY XƯƠNG VÀ KHỐI TẾ BÀO GỐC TÁCH TỪ DỊCH TỦY XƯƠNG CỦA BỆNH NHÂN THOÁI HÓA KHỚP GỐI

Dương Đình Toàn<sup>1</sup>, Nguyễn Thị Thu Hà<sup>2</sup>

#### TÓM TẮT

Từ tháng 11/2011-10/2013 chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu ứng điều trị thoái hóa khớp gối (THKG) bằng nội soi tạo tổn thương dưới sụn (microfracture) kết hợp ghép khối tế bào gốc tủy xương tự thân (TBGTXTT) cho 46 bệnh nhân. **Mục tiêu:** 1) Nghiên cứu một số chỉ số của khối TBG tủy xương tự thân của bệnh nhân THKG. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Dịch tủy xương được lấy từ xương chậu của 46 bệnh nhân THKG tiền phát giai đoạn 2 và 3, trước khi được phẫu thuật nội soi tạo tổn thương dưới sụn và ghép khối TBGTXTT. Xác định số lượng tế bào có nhân của tủy xương bằng máy huyết học tự động CELL-DYN 1800. Khối TBG được tách bằng phương pháp ly tâm tỷ trọng. Xác định thành phần TBG tạo máu CD43(+) bằng phương pháp tế bào dòng chảy,

xác định TBG trung mô bằng kỹ thuật nuôi cấy cụm nguyên bào sợi CFU-F. **Kết quả:** Số lượng tế bào có nhân tủy xương trung bình là  $69,03 \pm 49,86$  G/L, trong đó tỷ lệ tế bào gốc CD34(+) tủy xương trung bình chiếm  $0,71 \pm 0,78\%$ . Trong khối TBG được tiêm vào khớp gối, số lượng TBG CD34(+) trung bình là  $8,15 \times 10^6$ , số lượng tế bào tạo cụm CFU-F trung bình là  $33,34 \times 10^3$ . **Kết luận:** TBG được lấy từ dịch tủy xương của nhóm bệnh nhân thoái hoá khớp gối tiền phát giai đoạn 2, 3 không qua nuôi cấy có thể sử dụng hiệu quả trong điều trị bệnh thoái hoá khớp gối.

**Từ khóa:** thoái hóa khớp gối, nội soi khớp gối, ghép tế bào gốc.

#### SUMMARY

#### RESEARCH ON THE CHARACTERISTICS OF BONE MARROW CELLS AND AUTOLOGOUS BONE MARROW STEM CELLS ISOLATED FROM BONE MARROW FLUID OF PATIENTS WITH KNEE OSTEOARTHRITIS

**Background:** From 11/2011 to 10/2013, forty-six patients with forty-six knee osteoarthritis (KOA) underwent Arthroscopic Subchondral Drilling (microfracture) in combination with Autologous Bone

<sup>1</sup>Đại Học Y Hà Nội

<sup>2</sup>Bệnh viện Trung Ương Quân đội 108

Chịu trách nhiệm chính: Dương Đình Toàn

Email: duongdinhtoan@hmu.edu.vn

Ngày nhận bài: 10.5.2021

Ngày phản biện khoa học: 2.7.2021

Ngày duyệt bài: 14.7.2021

Marrow Stem cells (ABMSCs) injection. **Objectives:** 1) Investigate some indexes of ABMSCs block of patients with KOA. **Subjects and Methods:** Forty-six primary KOA underwent ASD in combination with ABMSCs injection from pelvis. Most of knees had grade 3 cartilage lesions. **Results:** The average number of nucleated cells was  $69.03 \pm 49.86$  G/L, in which the average percentage of CD34 (+) stem cells used  $0.71 \pm 0.78\%$ . The number of CD34(+) cells obtained in Autologous Bone Marrow blocks average  $8,15 \pm 0,67 \times 10^6$ . The number of cells that create clusters of CFU-F average  $33,34 \pm 39,98 \times 10^3$ . **Conclusion:** tem cells obtained from bone marrow fluid of patients with primary knee osteoarthritis stage 2 and 3 without culture can be used effectively in the treatment of knee osteoarthritis.

**Keyword:** Osteoarthritis, bone marrow stem cell, arthroscopy, microfracture

## I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thoái hóa khớp gối (THKG) là bệnh thường gặp trong nhóm bệnh lý mãn tính của người có tuổi, gây ảnh hưởng lớn đến chất lượng cuộc sống của người bệnh. Tổn thương đặc trưng của THKG là sự bong gãy, mất dần sụn khớp do hậu quả của sự mất cân bằng giữa quá trình sinh tổng hợp và hủy hoại sụn khớp [1]. Khi sụn khớp bị tổn thương hay già hóa, sụn không có khả năng tự phục hồi do không có mạch nuôi, vì vậy, điều trị THKG ở giai đoạn đầu chỉ là điều trị triệu chứng. Với khả năng tự tái tạo và biệt hóa thành những tế bào chuyên biệt, đa dòng trong những điều kiện nhất định, tế bào gốc (TBG) được xem như là một nguồn "nguyên liệu" dự trữ của cơ thể để sửa chữa, tái tạo, thay thế những mô, tổ chức bị tổn thương hay già hóa, trong đó có mô sụn [2]. Trên thế giới, đã có nhiều công trình nghiên cứu ở các giai đoạn tiền lâm sàng và thử nghiệm lâm sàng, đã chứng minh khả năng tăng sinh, biệt hóa thành tế bào sụn từ TBG, giúp phục hồi mô sụn, như nghiên cứu của Wakitani (1994) [3], Centeno và cộng sự [4]. Hiện nay ứng dụng TBG trong điều trị bệnh thoái hóa khớp gối, nguồn TBG được lấy chủ yếu từ mô mỡ và dịch tủy xương (DTX), trong đó DTX vẫn là nguồn TBG được sử dụng phổ biến bởi độ tuổi và khả năng biệt hóa của các loại tế bào. Để làm rõ thêm một số đặc điểm bào tủy xương của bệnh nhân THKG, chúng tôi thực hiện đề tài nhằm mục tiêu: *Nghiên cứu đặc điểm một số chỉ số tế bào tủy xương và khối tế bào gốc tách từ dịch tủy xương của bệnh nhân thoái hóa khớp gối.*

## II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Là những bệnh nhân THKG tiên phát giai đoạn 2 và 3, được điều trị bằng phẫu thuật nội

soi tạo tổn thương dưới sụn và ghép khối tế bào gốc tủy xương tự thân tại bệnh viện Việt Đức

### 2.1. Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

+ Là những bệnh nhân có THKG tiên phát, được chẩn đoán theo tiêu chuẩn của hội Khớp học Hoa Kỳ (ACR) 1991 [5]

+ Thoái hoá khớp gối giai đoạn II và III (theo tiêu chuẩn của Kellgren-Lawrence [6]).

+ Tuổi từ 40-70.

+ Không phân biệt nghề nghiệp, giới.

### 2.2 Tiêu chuẩn loại trừ

+ Có bệnh lý về cơ quan tạo máu, ung thư, có thai, suy giảm miễn dịch

+ Có viêm nhiễm vùng xương chậu (vị trí lấy dịch tủy xương)

**2.3. Thiết kế nghiên cứu:** mô tả cắt ngang tiến cứu

**2.4. Cỡ mẫu:** cỡ mẫu thuận tiện, gồm 46 bệnh nhân, được lựa chọn theo tiêu chuẩn lựa chọn.

### 2.5. Thời gian và địa điểm nghiên cứu

• Thời gian nghiên cứu: Nghiên cứu này được tiến hành từ tháng 11 năm 2011 đến tháng 1 năm 2015.

• Địa điểm nghiên cứu: Viện Chấn thương Chỉnh hình, Bệnh viện Việt Đức; khoa Huyết Học, khoa Chẩn Đoán Hình Ảnh, Bệnh viện Trung Ương Quân Đội 108.

### 2.6 Quy trình nghiên cứu:

Chọc hút DTX từ xương chậu bệnh nhân, được tiến hành tại phòng mổ Bệnh viện Việt Đức; xử lý DTX, tách khối TBG được thực hiện tại khoa Huyết học Bệnh viện TWQĐ 108. Quá trình thu gom được tiến hành trong điều kiện vô trùng tuyệt đối.

- Xác định số lượng tế bào có nhân của tủy xương bằng máy huyết học tự động CELL-DYN 1800 (Abbot- Hoa Kỳ).

- Phân loại tỷ lệ % các loại tế bào tủy và xem xét hình thái tế bào trên tiêu bản tủy dàn nhuộm Giemsa.

- Tách khối TBG từ DTX theo phương pháp ly tâm gradient tỷ trọng, cô đặc trong 10ml

- Các xét nghiệm tế bào máu và tủy xương:

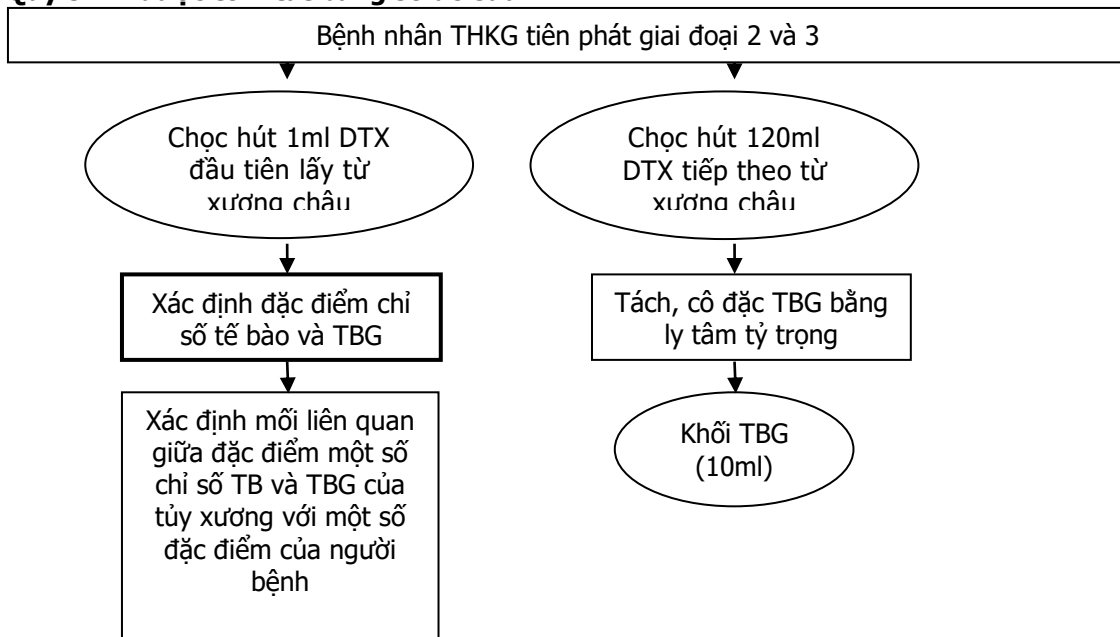
+ Huyết đồ và tủy đồ: theo phương pháp tế bào học kinh điển kết hợp với phân tích tế bào bằng hệ thống phân tích huyết học tự động.

+ Xác định số lượng tế bào gốc tủy xương (TBGTX):

TBG tạo máu: bằng phương pháp tế bào dòng chảy dựa vào các marker bề mặt đặc hiệu CD34(+) theo protocol của ISHAGE.

TBG trung mô: bằng kỹ thuật nuôi cấy tạo cụm CFU-F [7].

**Quy trình được tóm tắt bằng sơ đồ sau:**



**2.7. Các chỉ tiêu nghiên cứu**

• **Đặc điểm chung của đối tượng nghiên cứu:** tuổi, giới, nghề nghiệp

• **Đặc điểm một số chỉ số của tế bào gốc của tủy xương**

- Số lượng tế bào có nhân, số lượng và tỷ lệ TBG tạo máu

- Mối liên quan giữa các thành phần tế bào có nhân, TBG tạo máu với tuổi

• **Đặc điểm khối tế bào gốc được tách từ dịch tủy xương**

- Đặc điểm thành phần các tế bào và TBG tạo máu, đặc điểm thành phần TBG trung mô

- Tương quan giữa số lượng TBG trung mô với tuổi

**2.8. Đạo đức nghiên cứu.** Chúng tôi thực hiện nghiên cứu này dựa trên một nghiên cứu ứng dụng ghép khối TBGTX tự thân điều trị THKG tiên phát giai đoạn 2 và 3, đề tài đã thông qua hội đồng khoa học trước khi thực hiện. Bệnh nhân hoàn toàn tình nguyện và có ký giấy cam kết, tình nguyện tham gia nghiên cứu

**III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU**

**3.1. Đặc điểm tuổi, giới, nghề nghiệp.** Độ tuổi trung bình là 54,82 (46-69), nhóm tuổi gặp nhiều nhất là 50-59, chiếm 63%. Nữ nhiều hơn nam, với tỷ lệ là 2:1. Liên quan nghề nghiệp, 54,3% là nông dân, 45,7% là công chức.

**3.2. Đặc điểm TB tủy xương của nhóm nghiên cứu**

**Bảng 1. Phân bố TB tủy xương của nhóm nghiên cứu (n=46)**

Chỉ số TB	Đơn vị	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Số lượng TB có nhân	G/L	69,03 ± 49,86	20	255
Tỷ lệ TB CD34(+)	%	0,71 ± 0,78	0,24	5,07

**Nhận xét:** số lượng tế bào có nhân tủy xương trung bình là 69,03 ± 49,86, tỷ lệ tế bào CD34(+) trung bình 0,71 ± 0,78 (%).

**Bảng 2. Phân bố TB tủy xương theo tuổi**

Chỉ số TB	Đơn vị	Nhóm tuổi		p
		≤ 55 (n=26)	>55 (n=20)	
TB có nhân	G/L	77,28 ± 50,33	58,31 ± 48,37	>0,05
CD34(+)	%	0,61 ± 0,37	0,84 ± 1,1	>0,05

**Nhận xét:** - Số lượng tế bào có nhân ở nhóm bệnh nhân trên 55 tuổi có xu hướng thấp hơn so với nhóm bệnh nhân dưới 55 tuổi, tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với p>0,05.

- Tỷ lệ và số lượng tế bào CD34(+) giữa hai nhóm không có sự khác biệt.

**3.3. Đặc điểm khối TBG tách từ DTX**

**Bảng 3. Đặc điểm thành phần các TB và TBG tạo máu (n=46)**

TB tủy xương	Đơn vị	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Số lượng TB có nhân	G/L	66,33 ± 46,12	6,4	225
Số lượng TB đơn nhân	%	60,05 ± 14,98	30,2	89,6
Tỷ lệ TB CD34(+)	%	1,44 ± 0,67	0,44	3,18
Số lượng TB CD34(+)	x10 <sup>6</sup>	8,15 ± 5,5	1,1	22,78
Số lượng tiểu cầu	G/L	468,26 ± 306,24	30	1300
Tỷ lệ TB sống	%	95,67 ± 1,33	93	99

**Nhận xét:** - Nồng độ tế bào có nhân trong khối TBG trung bình là 66,33 ± 46,12G/L.

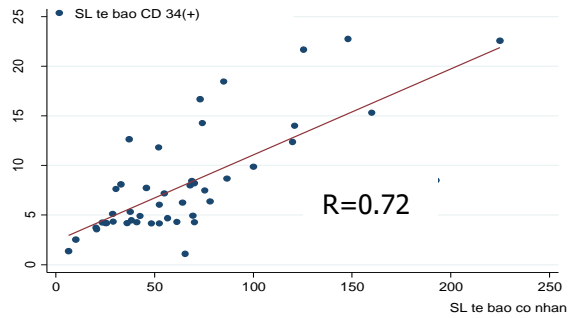
- Tỷ lệ tế bào đơn nhân trong khối TBG trung bình là 60,05 ± 14,98 %

- Tỷ lệ tế bào CD34(+) trong khối TBG tăng cao hơn so với trước tách (trước tách 0,71 ± 0,78%, sau tách 1,44 ± 0,67%).

- Tổng số lượng tế bào gốc CD34(+) sau tách trung bình là 8,15 ± 5,5 x 10<sup>6</sup>.

- Tỷ lệ tế bào sống đều trên 90%, trung bình là 95,67 ± 1,33%.

**• Tương quan giữa số lượng tế bào CD34(+) với số lượng TB có nhân**



**Biểu đồ 1: Tương quan giữa số lượng tế bào CD34(+) với số lượng tế bào có nhân**

**Nhận xét:** từ Biểu đồ 3.6 ta thấy, số lượng tế bào CD34(+) trong khối TBGTX sau tách có tương quan tỷ lệ thuận với số lượng tế bào có nhân, với r = 0,72.

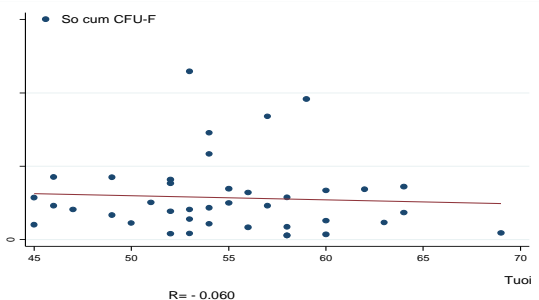
**Bảng 4. Số lượng TBG trung mô (TB tạo cụm CFU-F) (n=41)**

	Giá trị trung bình	Giá trị nhỏ nhất	Giá trị lớn nhất
Cụm CFU-F/10 <sup>6</sup> TB	43,17 ± 25,23	7	140
Cụm CFU-F/ml khối TBGTX	3336,83 ± 3996,59	283,9	22698
TB tạo cụm CFU-F được bơm vào khớp gối	33343,88 ± 39984,11	2838	226980

**Nhận xét:** - Số lượng cụm CFU-F thu được khi nuôi cấy từ 1x10<sup>6</sup> tế bào trong khối TBGTX trung bình là 43,17 ± 25,23 (7-140).

- Số lượng cụm tế bào CFU-F thu được khi nuôi cấy từ 1 ml khối TBGTX trung bình là 3336,83 (284-22698)

**• Tương quan giữa số cụm CFU-F với tuổi**



**Biểu đồ 2: Môi tương quan giữa tuổi bệnh nhân và số lượng cụm CFU-F.**

**Nhận xét:** số lượng TBG trung mô (số lượng cụm CFU-F) có xu hướng tương quan tỷ lệ nghịch với tuổi bệnh nhân, nghĩa là tuổi bệnh nhân càng cao thì số lượng TBG trung mô trong DTX có xu hướng càng giảm, tuy nhiên mối tương quan này rất yếu với r = -0,06

**IV. BÀN LUẬN**

**• Đặc điểm số lượng TB của tủy xương.**

Bằng phương pháp tế bào học kinh điển kết hợp với phân tích tế bào bằng hệ thống phân tích huyết học tự động, số lượng, thành phần và tỷ lệ các tế bào của tủy xương được xác định. Bảng 1 cho thấy giá trị trung bình của các chỉ số tế bào của tủy xương đều nằm trong giới hạn bình thường của người Việt Nam trưởng thành. Khi so sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi với nghiên cứu của Nguyễn Mạnh Khánh, Nguyễn Thanh Bình và cộng sự [8], [9] thấy rằng, tỷ lệ và số lượng TBG tạo máu (tế bào CD34(+)) trong tủy xương của chúng tôi có sự chênh lệch so với các tác giả (Bảng 5), điều này có thể được giải thích do sự khác nhau về một số đặc điểm đối tượng nghiên cứu như tuổi, mặt bệnh, cỡ mẫu...

Nghiên cứu của Đỗ Trung Phấn trên 79 người Việt Nam trưởng thành cho thấy số lượng tế bào CD34(+) trung bình trong tủy xương là 1,22 ± 0,79 G/L. Tuy nhiên, phương pháp xác định tế bào CD34(+) của nghiên cứu này khác với chúng tôi: sử dụng kỹ thuật huỳnh quang trực tiếp,

đếm trên kính hiển vi huỳnh quang. Mặt khác, tỷ lệ và số lượng các tế bào tủy xương còn phụ thuộc và kỹ thuật chọc hút DTX.

**Bảng 5. So sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi với một số tác giả khác về số lượng, tỷ lệ tế bào CD34(+) của tủy xương**

	Đơn vị	Nguyễn Mạnh Khánh (n=65)	Nguyễn Thanh Bình (n=112)	Chúng tôi(n=46)
Tế bào CD34(+)	G/L	0,4 ± 0,2	0,42 ± 0,31	0,56 ± 0,93
	%	0,6 ± 0,2	0,66 ± 0,27	0,71 ± 0,78

Nghiên cứu của Major cho thấy, trong mỗi 1 ml dịch tủy xương lấy từ xương chày của người khoẻ mạnh, có 92 ± 65 triệu tế bào có nhân, trong 23.000 tế bào có nhân thì có 1 tế bào gốc tạo sụn. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy, số lượng tế bào có nhân tủy xương trung bình là 69,03G/L (tương đương 69,03 triệu tế bào có nhân trong 1ml) (Bảng 1), trong đó, thành phần tế bào CD34(+) chiếm 0,71%. Theo Biểu đồ 1, số lượng tế bào CD34(+) tương quan tỷ lệ thuận với số lượng tế bào có nhân ( $r = 0,72$ ,  $P < 0,05$ ). Theo Đồ Trung Phần, số lượng tế bào có nhân tủy xương của người Việt Nam trưởng thành trung bình 57,4 ± 15,5 G/L [10]. Kết quả nghiên cứu của chúng tôi phù hợp với nghiên cứu của Major, Đồ Trung Phần và một số tác giả khác.

Để tìm hiểu số lượng tế bào tủy xương có bị ảnh hưởng bởi một số yếu tố tuổi tác, chúng tôi chia ra hai nhóm tuổi " $>55$ " và " $\leq 55$ " thấy rằng, tỷ lệ tế bào CD34(+), số lượng tế bào có nhân ở nhóm " $> 55$  tuổi" thấp hơn so với nhóm " $\leq 55$  tuổi" (Bảng 2), tuy nhiên sự khác biệt này không có ý nghĩa thống kê với  $p > 0,05$ . Nhưng khi chia độ tuổi thành hai nhóm trên và dưới 50 tuổi thấy có mối tương quan tỷ lệ nghịch giữa tuổi và số lượng tế bào có nhân tủy xương ( $p < 0,05$ ), nghĩa là tuổi càng cao thì số lượng tế bào có nhân càng giảm. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Nguyễn Mạnh Khánh, Nguyễn Thanh Bình [8] [9].

**Bảng 6. So sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi với một số nhóm tác giả khác về thành phần tế bào có nhân, đơn nhân và tiểu cầu trong khối TBGTX**

Thành phần tế bào	Đơn vị	Nguyễn Mạnh Khánh (n=65)	Nguyễn Thanh Bình (n=112)	Chúng tôi (n=46)
TB có nhân	G/L	44,5 ± 26,0	47,36 ± 30,12	66,33 ± 46,12
TB đơn nhân	%	59,0 ± 13,8%	58,31 ± 14,18	60,05 ± 14,98
Tiểu cầu	G/L		337,17 ± 217,73	468,26 ± 306,24

TBG tạo máu (HSC) là loại TBG của tủy xương được nghiên cứu ứng dụng từ khá lâu trong điều trị các bệnh lý của cơ quan tạo máu và hỗ trợ điều trị một số bệnh ung thư của tổ chức rắn. Gần đây, người ta đã phát hiện ra khả năng biệt hóa "mềm dẻo" của TBG tạo máu, đó là khả năng chuyển biệt hóa (transdifferentiation), nhờ

• **Đặc điểm thành phần tế bào và chất lượng khối TBG tách từ DTX.** Sau quy trình chiết tách cô đặc, khối tế bào đơn nhân giàu TBG (được gọi là khối TBG) của tủy xương được huyền dịch trong 10 ml huyết thanh mặn đẳng trương và được bơm vào khớp gối trong vòng 1-2 giờ. Trước khi ghép cho bệnh nhân, khối TBG được lấy mẫu để tiến hành các xét nghiệm kiểm tra vi khuẩn học. Kết quả 100% các mẫu khối TBG được cấy khuẩn cấy nấm đều âm tính, chứng tỏ các qui trình thu gom DTX, qui trình xử lý chiết tách cô đặc khối TBG được đảm bảo vô khuẩn tuyệt đối, khối TBG được bơm vào khớp gối đảm bảo an toàn về mặt vi khuẩn học. Việc đếm số lượng tế bào giúp mang lại những thông tin hữu ích về nồng độ tế bào trong một mililitre, tổng số lượng tế bào thu được của quá trình chọc hút thu gom dịch tủy xương cũng như của khối tế bào đơn nhân thu được sau khi xử lý cô đặc. Kết quả ở Bảng 3 cho thấy, trong khối TBG thu được có nồng độ tế bào có nhân trung bình là 66,33 ± 46,12 G/l, trong đó tế bào đơn nhân chiếm đa số (60,05 ± 14,98%); nồng độ tiểu cầu trung bình là 468,26 ± 306,24 G/l. Khi đối chiếu với kết quả nghiên cứu của Nguyễn Thanh Bình, Nguyễn Mạnh Khánh và cộng sự, chúng tôi thấy kết quả nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng về số lượng tế bào có nhân, số lượng tiểu cầu và tỷ lệ thành phần tế bào đơn nhân trong khối tế bào gốc tủy xương sau tách (Bảng 6).

đó các nghiên cứu ứng dụng TBG tạo máu trong điều trị tái tạo các cơ quan tổ chức rắn bắt đầu được tiến hành.

Để xác định số lượng các TBG tạo máu trong khối TBG chúng tôi sử dụng phương pháp đếm số lượng tế bào CD34(+). Theo Bảng 1, trong khối TBG thu được, tỷ lệ tế bào CD34(+) trung

bình chiếm 1,44% (tăng gấp đôi so với trước tách), số tế bào CD34(+) trung bình bơm vào khớp gối là  $8,55 (\pm 5,5) \times 10^6$  tế bào. Số lượng tế bào CD34(+) tương quan tỷ lệ thuận với số lượng tế bào có nhân với  $r = 0,72$ ,  $p < 0,05$  (Biểu đồ 1).

TBG trung mô (MSC) là những tế bào đệm của tủy xương, dưới các tác động kích thích của các yếu tố phát triển, TBG trung mô có thể biệt hóa thành các tế bào có nguồn gốc trung mô, trong đó có tế bào sụn khớp. Thành phần TBG trung mô được chúng tôi xác định bằng nuôi cấy cụm, theo đó mỗi TBG trung mô sau nuôi cấy trong 2 tuần sẽ mọc một cụm CFU-F [7]. Dựa

vào số cụm CFU-F để xác định được số TBG trung mô được bơm vào khớp gối (Bảng 4).

Đối chiếu kết quả nghiên cứu của chúng tôi với các tác giả Nguyễn Mạnh Khánh, Nguyễn Thái Bình và cộng sự thấy rằng tỷ lệ tế bào CD34(+), số cụm CFU-F/ $10^6$  tế bào của khối TBG là tương đương. Số cụm CFU-F/ml khối TBG của chúng tôi gần gấp 3 lần so với Nguyễn Thanh Bình và Nguyễn Mạnh Khánh, điều này được lý giải vì thể tích cô đặc khối TBG của chúng tôi là 10ml, trong khi đó thể tích cô đặc khối TBG của Nguyễn Thanh Bình và Nguyễn Mạnh Khánh là 30ml (Bảng 7) [8], [9].

**Bảng 7. So sánh kết quả nghiên cứu của chúng tôi với một số nhóm tác giả khác về thành phần tế bào CD34(+), số cụm CFU-F trong khối TBGTX**

TB	NC	Nguyễn Thanh Bình	Nguyễn Mạnh Khánh	Chúng tôi
Tỷ lệ TB CD34(+)		1,23 ± 0,69%	1,3 ± 0,5%	1,44 ± 0,67%.
Cụm CFU-F/ $10^6$ TB		53,43 (11-112)	25 (15-39)	43,17 (7-140)
Cụm CFU-F/ml khối TBGTX		1746,99 (96,8-5946,6)	1026 (364-1996)	3336,8 (283,9-22698)

Liên quan giữa số lượng tế bào tạo cụm CFU-F và tuổi, Biểu đồ 2 cho thấy, số cụm CFU-F có xu hướng tương quan tỷ lệ nghịch với tuổi bệnh nhân, tuy nhiên mối tương quan này không chặt chẽ ( $r = -0,06$ ,  $p > 0,05$ ). Đồng thời qua Biểu đồ 3.8 cho thấy số cụm CFU-F có xu hướng tương quan tỷ lệ thuận với số lượng tế bào đơn nhân ( $r = 0,27$ ). Kết quả này phù hợp với các nghiên cứu khác.

## V. KẾT LUẬN

Số lượng tế bào có nhân tủy xương trung bình là  $69,03 \pm 49,86$  G/L. Tỷ lệ tế bào gốc CD34(+) tủy xương trung bình chiếm  $0,71 \pm 0,78\%$ . Số lượng tế bào đơn nhân tương quan tỷ lệ nghịch với tuổi bệnh nhân. Số lượng và tỷ lệ tế bào CD34(+) không có sự khác biệt giữa hai nhóm trên và dưới 55 tuổi, ở hai nhóm tuổi trên và dưới 50 tuổi, có sự tương quan tỷ lệ nghịch giữa tuổi và số lượng, tỷ lệ tế bào CD34(+), nghĩa là tuổi càng cao, tỷ lệ và số lượng tế bào gốc CD34(+) càng thấp.

Trong khối tế bào gốc tủy xương tự thân sau khi tách và cô đặc từ 120ml dịch tủy xương, tỷ lệ tế bào gốc CD34(+) chiếm  $1,44 \pm 0,67\%$ . Tổng số lượng tế bào gốc CD34(+) được tiêm vào khớp gối bệnh nhân trung bình là  $8,15 \pm 5,5 \times 10^6$  tế bào. Có mối tương quan tỷ lệ thuận giữa số lượng tế bào CD34(+) và số lượng tế bào có nhân ( $r = 0,72$ ,  $p < 0,05$ ).

Số lượng cụm CFU-F thu được khi nuôi cấy từ  $1 \times 10^6$  tế bào trong khối tế bào gốc tủy xương trung bình là  $43,17 \pm 25,23$  cụm, số lượng tế bào tạo cụm CFU-F được tiêm vào khớp gối trung bình là  $33343,88$  (2838-226980) cụm. Có mối tương quan tỷ lệ thuận giữa số lượng tế bào tạo cụm CFU-F với số lượng tế bào đơn nhân

trong khối tế bào gốc tủy xương ( $r = 0,27$ ), và tỷ lệ nghịch giữa số lượng tế bào tạo cụm CFU-F với tuổi bệnh nhân ( $r = -0,06$ ).

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Ngọc Ân (1995)**. Hư khớp và hư cột sống, bệnh thấp khớp. .
2. **Christopher J (2011)**. The Use of Mesenchymal Stem Cells in Orthopedics: Review of the Literature, Current Research, and Regulatory Landscape. Journal of American Physicians and Surgeons, 16.
3. **Wakitani S và Goto T (2008)**. Mesenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. J Bone Joint Surg Am, 76, 579–92.
4. **Centeno CJ và Okabe T S.J.R. (2011)**. Safety and complications reporting update on the re-implantation of culture-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique. Curr Stem Cell Res Ther.
5. **Altman R (1986)**. ACR Clinical Classification Criteria for Osteoarthritis of the knee. Arthritis Rheum, 29.
6. **Kellgren J.H và Lawrence J.S (2957)**. Radiologic assessment of osteoarthritis. Rheum Dis, 16, 494–501.
7. **(2005)**, Culture of Human and Mouse Mesenchymal Cells. Methods in Molecular Biology, .
8. **Nguyễn Mạnh Khánh (2011)**, Nghiên cứu ứng dụng ghép tế bào gốc tủy xương tự thân điều trị chậm liền xương, khớp giả thân xương chày, Học viện Quân Y.