

thay đổi thói quen đại tiện.

4.3.2. Đặc điểm lâm sàng và nội soi đại tràng toàn bộ nhóm bệnh nhân có tiền sử gia đình bị ung thư đại – trực tràng. Trong nghiên cứu 7 bệnh nhân có tiền sử gia đình ung thư đại trực tràng: nhóm bệnh nhân có triệu chứng đau bụng; nhóm bệnh nhân có thay đổi tính chất, hình dạng phân; nhóm bệnh nhân có thay đổi thói quen đại tiện đều chỉ gặp 1 trường hợp có polyp đại tràng (chiếm 14,28%); nhóm bệnh nhân có triệu chứng phân máu; nhóm bệnh nhân bị giảm cân và nhóm bệnh nhân thiếu máu không gặp trường hợp nào có polyp đại tràng.

V. KẾT LUẬN

Đặc điểm chung một số yếu tố nguy cơ ung thư đại – trực tràng: tuổi ≥ 50 là 78,33%; có polyp tuyến đại trực tràng: 48,33%; có tiền sử polyp đại trực tràng hoặc IBD: 14,67%; hút thuốc lá: 13%, tiền sử gia đình bị ung thư đại – trực tràng: 2,33%. Nhóm bệnh nhân có triệu chứng chiếm 88%. Các triệu chứng thường gặp: phổ biến nhất là đau bụng chiếm 57,95%; thay đổi tính chất hình dạng phân: 62,12%; thay đổi thói quen đại tiện: 53,03%; phân máu: 9,09%; giảm cân: 5,3%, thiếu máu: 0,38%. Nhóm bệnh nhân không có triệu chứng lâm sàng chiếm 12%. Phân tầng các yếu tố nguy cơ ung thư đại- trực tràng ở nhóm này thấy: nguy cơ cao chiếm 5,55%, nguy cơ trung bình: 80,56%; nguy cơ thấp: 13,89%. Đặc điểm nội soi đại tràng toàn bộ nhóm bệnh nhân có yếu tố nguy cơ ung thư đại – trực tràng và không có triệu chứng lâm sàng: nguy cơ cao - không có polyp tuyến đại tràng: 2,78%; nguy cơ cao- có polyp tuyến: 2,78%; nguy cơ trung bình - không có polyp tuyến: 41,67%; nguy cơ trung bình - có polyp

tuyến: 38,88%; nguy cơ thấp - không có polyp tuyến: 0%; nguy cơ thấp - có polyp tuyến: 55,55%. Polyp tuyến đại tràng chủ yếu ở những bệnh nhân có các triệu chứng lâm sàng thường gặp là đau bụng, thay đổi tính chất hình dạng phân, thay đổi thói quen đại tiện.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Bùi Chí Nam** (2022). "Đánh giá kết quả sàng lọc ung thư đại trực tràng của 80.330 trường hợp tại Hà Nội" từ tháng 1/2018-10/2019. Báo cáo tại Hội nghị Tiêu hóa toàn quốc 2022.
2. **Yasushi Sano et al** (2016). "Colorectal cancer screening of the general population in East Asia", Digestive Endoscopy 2016; 28:243-249
3. **Bộ Y tế** (2018). Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị ung thư đại trực tràng. Quyết định số 2549/QĐ-BYT ngày 19 tháng 4 năm 2018 của Bộ trưởng Bộ Y tế
4. **Buchanan DD, Sweet K, Drini M, et al** (2010). Risk factors for colorectal cancer in patients with multiple serrated polyps: a cross-sectional case series from genetics clinics. PLoS One 2010;5:e11636.
5. **Bệnh viện Bạch Mai** (2021). Hướng dẫn điều trị nội tiêu hóa – gan mật. Nhà xuất bản Y học. tr.272-280
6. **Phạm Bình Nguyên** (2021). " Nghiên cứu giá trị của nội soi phóng đại, nhuộm màu trong chẩn đoán polyp đại trực tràng". Luận văn tiến sĩ. Trường Đại học Y Hà Nội.
7. **Yasushi Sano et al** (2016). "Colorectal cancer screening of the general population in East Asia", Digestive Endoscopy 2016; 28:243-249
8. **Lieberman DA et al** (2012). "Guidelines for Colonoscopy surveillance screening and polypectomy: a consensusupdate by the US Multi - Society Task Force on Colorectal Cancer". Gastroenterology:2012 Sep;143(3):844-57
9. **Trần Ngọc Anh** (2016). Hướng dẫn chẩn đoán và điều trị bệnh nội khoa thường gặp. Nhà xuất bản Y học. Tr 78-85
10. **J J Y Sung et al** (2014): "An update Asia Pacific consensus recommendations on colorectal cancer screening", GUT 2014

KHẢO SÁT KHẢ NĂNG TĂNG SINH, DI CƯ VÀ BIỆT HOÁ CỦA TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỦY XƯƠNG NGƯỜI SAU BẢO QUẢN ĐÔNG LẠNH

Lê Đức Nhân¹, Lê Hoàng Sơn¹

TÓM TẮT

Mục tiêu: Nghiên cứu này được thực hiện để khảo sát khả năng tăng sinh, di cư và biệt hóa của tế bào gốc trung mô tủy xương (TBGTMTX) người sau

¹Đại học Y Dược TP. Hồ Chí Minh

Chịu trách nhiệm chính: Lê Hoàng Sơn

Email: lehoangson@ump.edu.vn

Ngày nhận bài: 6.2.2025

Ngày phản biện khoa học: 19.3.2025

Ngày duyệt bài: 10.4.2025

khi đông lạnh bằng nitơ lỏng. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Mẫu xương hàm từ 3 bệnh nhân được sử dụng để phân lập và nuôi cấy TBGTMTX theo quy trình của Phòng thí nghiệm Kỹ nghệ mô và Vật liệu y sinh, Trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc Gia TP. Hồ Chí Minh. Sau đó, các TBGTMTX thể hệ P3 được đông lạnh trong nitơ lỏng trong 12 tháng. Các tế bào được rã đông và cấy chuyển sang thể hệ P4 để thực hiện các thử nghiệm tăng sinh, di cư và biệt hóa. Thử nghiệm tăng sinh: số lượng tế bào được đếm gián tiếp bằng cách đo mật độ quang ở bước sóng 570nm vào ngày 1, 3, 5, 7 và 9. Thử

nghiệm di cư: tính phần trăm diện tích vùng vô bào của đường rạch sau 8 giờ và 24 giờ. Thí nghiệm biệt hóa: biệt hóa TBGTMTX bằng môi trường biệt hóa xương. Sau đó, thực hiện realtimePCR đối với các gen RUNX2, COL1A1 và OC. Số liệu được xử lý bằng phép kiểm thống kê phi tham số Mann-Whitney và Friedman ANOVA. **Kết quả:** Thí nghiệm tăng sinh cho thấy mật độ quang của nhóm TBGTMTX nuôi trong môi trường DMEM/F12 + 10% FBS tăng dần từ ngày 1, đạt đỉnh ở ngày 5 và giảm dần đến ngày 9 ($p < 0,001$). Trong khi đó ở nhóm môi trường DMEM/F12, mật độ quang giảm dần từ ngày 1 đến ngày 9 ($p < 0,001$). Thí nghiệm di cư cho thấy phần trăm diện tích đường rạch giảm dần tại thời điểm 8 giờ và 24 giờ ($p = 0,001$). Đối với thí nghiệm biệt hóa, phương pháp realtimePCR cho thấy sự biểu hiện của gen RUNX2 và COL1A1 sau khi các TBGTMTX tiếp xúc với môi trường biệt hóa xương 21 ngày. Tuy nhiên, không phát hiện được sự biểu hiện của gen OC. **Kết luận:** TBGTMTX vẫn thể hiện được khả năng tăng sinh, di cư và biệt hóa xương sau khi rã đông. Tuy nhiên, các thí nghiệm cần chọn thời gian đánh giá biệt hóa chuyên biệt cho từng gen để phản ánh kết quả đáng tin cậy hơn.

Từ khóa: tế bào gốc trung mô tủy xương, tăng sinh, di cư, biệt hóa xương, đông lạnh.

SUMMARY

PROLIFERATION, MIGRATION AND DIFFERENTIATION CAPACITY OF BONE MARROW STEM CELLS FOLLOWING CRYOPRESERVATION

Objective: To evaluate the proliferation, migration and differentiation capacity of bone marrow stem cells (BMSCs) after cryopreservation. **Method:** Alveolar bone from three healthy human subjects was utilised to isolate and culture BMSCs. The culturing protocol was employed from the Tissue Engineering and Biomedical Materials laboratory, University of Science, Vietnam National University, Ho Chi Minh City. Subsequently, BMSCs at P3 were cryopreserved in liquid nitrogen for 12 months. Following this period, the BMSCs were thawed and cultured to P4 for examination of their proliferation, migration, and differentiation capacity. For the proliferation experiment, BMSC numbers were quantified by measuring optical density at 570nm on days 1, 3, 5, 7, and 9. For the migration experiment, the acellular areas were measured and calculated at 8 hours and 24 hours. For the differentiation experiment, BMSCs were exposed to osteogenic medium in 21 days. Real-time PCR was performed to detect gene expression of RUNX2, COL1A1, and OC. **Results:** The proliferation experiment results demonstrated that the optical density measured of BMSCs cultured in DMEM/F12 + 10% FBS medium exhibited a gradual increase from day 1, reached its peak at day 5, and subsequently decreased to day 9 ($p < 0.001$). In the DMEM/F12 group, optical density decreased from day 1 to day 9 ($p < 0.001$). The migration experiment revealed that the percentage of acellular area reduced at 8 hrs and 24 hrs ($p = 0.001$). In the differentiation experiment, the expression of RUNX2 and COL1A1 was observed after BMSCs were exposed to osteogenic medium in 21 days. However, no expression of OC was detected.

Conclusion: Following cryopreservation, the BMSCs successfully maintain their proliferation, migration and differentiation capacities. **Keywords:** bone marrow stem cells (BMSCs), proliferation, migration, osteogenic differentiation, cryopreservation.

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Tế bào gốc (TBG) là những tế bào chưa biệt hoá, có khả năng biệt hoá thành các kiểu tế bào chức năng. Chúng có vai trò như hệ thống sửa chữa mô, tạo ra những tế bào khác hoạt động bình thường trên cơ thể sinh vật. Một TBG có ít nhất hai đặc tính: tính tự làm mới và tính biệt hoá. Tính tự làm mới là tế bào có khả năng tiến hành một số lượng lớn chu kỳ phân bào, mà vẫn duy trì trạng thái không biệt hoá. TBG trong bất cứ mô nào cũng có một quần thể có khả năng tự làm mới. Tính biệt hoá là quá trình trong đó một tế bào chưa biệt hoá trở thành tế bào chuyên biệt về chức năng. Trong suốt quá trình biệt hoá, do sự điều hoà biểu hiện gen, một số gen nhất định được biệt hoá trong khi những gen khác bị bất hoạt dẫn đến các tế bào được biệt hoá phát triển những cấu trúc đặc hiệu và thực hiện những chức năng nhất định.¹

Tủy xương của người có chứa các TBG đa tiềm năng thường gọi là TBG trung mô tủy xương (TBGTMTX). Mặc dù TBGTMTX người có tính không đồng nhất nhưng chúng có khả năng phát triển và hoạt hoá thành các mô liên kết khác nhau. Ngoài ra, trong nghiên cứu in vivo về TBGTMTX cho thấy xương được hình thành mạnh mẽ, và là nguồn TBG phù hợp cho việc điều trị tái tạo xương.²

Tuy nhiên, các TBGTMTX người có thể cần được phân lập, nuôi cấy tại một cơ sở độc lập hoặc bảo quản đợi điều kiện phù hợp để sử dụng trên lâm sàng. Vì vậy, việc bảo quản TBGTMTX người là một nhu cầu cần thiết, thực tế và sẽ ứng dụng rộng rãi trong tương lai. Trong các phương pháp bảo quản TBGTMTX người, đông lạnh bằng nitơ lỏng là phương pháp phổ biến, dễ thực hiện và có tính kinh tế cao.³ Hiện nay, số lượng công trình báo cáo về tiềm năng sử dụng TBGTMTX người sau đông lạnh còn hạn chế tại Việt Nam. Vì vậy, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này với mục tiêu khảo sát khả năng tăng sinh, di cư và biệt hoá xương của TBGTMTX người sau bảo quản đông lạnh với nitơ lỏng.

II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

Mẫu nghiên cứu. Mẫu nghiên cứu là TBGTMTX người thể hệ P3 được đông lạnh trong tủ nitơ lỏng ở -196°C trong 12 tháng. Các TBGTMTX được phân lập và nuôi cấy từ nguồn xương hàm người theo quy trình của Trường đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia TP. Hồ Chí Minh. Các mẫu xương hàm người được thu thập tại Khoa Răng Hàm Mặt, Đại học Y Dược

TP. Hồ Chí Minh.

Phương pháp nghiên cứu

Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu in vitro.

Quy trình nghiên cứu. Địa điểm và thời gian thực hiện. Nghiên cứu được tiến hành tại Phòng thí nghiệm Kỹ nghệ mô và vật liệu y sinh và Phòng thí nghiệm Di truyền người, trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh. Thời gian nghiên cứu là từ tháng 11 năm 2023 đến tháng 07 năm 2024.

Rã đông tế bào. Tế bào được rã đông trong bể ủ nhiệt ở nhiệt độ 37°C. Sau khi tan hết tinh thể đá, tế bào được chuyển vào tủ an toàn sinh học cấp 2, chuyển toàn bộ dung dịch trong ống sang falcon 15mL và thêm môi trường DMEM/F12 theo tỉ lệ 1:4. Thực hiện quay li tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút, hút loại bỏ dịch để thu cận tế bào bên dưới. Các tế bào được huyền phù đều và cho vào môi trường nuôi cấy DMEM/F12 bổ sung 10% FBS và cho vào tủ ủ tế bào ở 37°C, 5% CO₂. Thay môi trường nuôi cấy 2 ngày/lần.

Cấy chuyển tế bào sau rã đông. Theo dõi sự tăng sinh của tế bào đến khi chúng trải thành một lớp đơn, phủ kín bề mặt roux. Hút bỏ môi trường cũ trong bình roux. Rửa bề mặt 2 lần với 2 mL PBS. Bổ sung 1 mL Trypsin/EDTA 0,25%, ủ trong tủ ủ tế bào ở 37°C, 5% CO₂ trong 1 phút. Lắc nhẹ roux theo chiều ngang và kiểm tra trên kính hiển vi đảo ngược để đảm bảo toàn bộ tế bào tách ra khỏi bề mặt roux. Bổ sung 1 mL môi trường DMEM/F12 bổ sung 10% FBS để bất hoạt dung dịch Trypsin/EDTA. Hút toàn bộ dung dịch trong roux cho vào ống falcon 15 mL. Quay li tâm với tốc độ 3000 vòng/phút trong 5 phút. Hút loại bỏ dịch, thu tế bào. Bổ sung 2 mL môi trường nuôi cấy, lắc nhẹ huyền phù đều, cho vào 2 roux nuôi cấy đã được chuẩn bị sẵn, bổ sung 2 mL môi trường DMEM/F12 bổ sung FBS 10% cho mỗi roux và nuôi trong tủ nuôi tế bào ở nhiệt độ 37°C, 5% CO₂, thay môi trường nuôi cấy 2 ngày 1 lần.

Chuẩn bị tế bào và môi trường cho thí nghiệm. TBGTMTX người ở thế hệ P4 được nuôi cấy đạt mật độ 85 – 90%, được sử dụng quy trình tương tự để cấy vào các đĩa nuôi cấy phù hợp với các thí nghiệm tiếp theo.

Xác định mật độ tế bào và cấy TBGTMTX người (P4) lên các đĩa nuôi cấy. Thực hiện tách tế bào từ roux nuôi cấy và đếm mật độ tế bào bằng buồng đếm Neubauer. Từ đó tính ra thể tích môi trường cần thêm vào để đạt mật độ tế bào cần có trong từng thí nghiệm. Tùy theo thí nghiệm, TBGTMTX người được nuôi cấy trong môi trường chuẩn (nhóm P) và môi trường chúng (nhóm N, nếu cần).

Thí nghiệm MTT đánh giá tăng sinh. Thí nghiệm MTT dựa trên sự phân cắt muối tetrazolium màu vàng của thuốc nhuộm MTT để tạo thành formazan màu tím. Sự giảm số lượng tế bào sống làm giảm hoạt động trao đổi chất, liên quan trực tiếp đến lượng formazan màu tím được tạo thành, được đánh giá bằng cách đo mật độ quang ở bước sóng 570 nm. Thí nghiệm MTT trong nghiên cứu này được thực hiện trên 2 nhóm môi trường nuôi cấy, mỗi nhóm 3 giếng, đo lường lặp lại 3 lần. Các TBGTMTX thế hệ P4 đã chuẩn bị được cấy thành 2 đĩa 96 giếng ứng với 2 nhóm, mỗi nhóm 3 giếng, mật độ mỗi giếng 3 x 10³ tế bào trong 100 µL môi trường và thay môi trường mỗi 2 ngày theo các nhóm thí nghiệm. Tại các thời điểm ngày 1, 3, 5, 7 và 9, thực hiện thí nghiệm MTT để khảo sát khả năng sinh của TBGTMTX người.

Thí nghiệm đường rạch đánh giá di cư. Các TBGTMTX thế hệ P4 đã chuẩn bị được cấy vào đĩa 6 giếng đến khi tế bào đạt độ bao phủ lớn hơn 80% bề mặt đĩa nuôi cấy thì loại bỏ môi trường. Thay môi trường nuôi cấy không huyết thanh, để qua đêm nhằm bỏ đói tế bào. Loại bỏ môi trường trong giếng và tạo vùng trống vô bào bằng cách rạch một đường thẳng ở giữa giếng bằng một đầu tip pipette p200 vuông góc với đáy, chia đôi giếng. Rửa bằng PBS 1 lần. Quang trường được chọn đo đặc là quang trường chứa tế bào điển hình và vùng rạch thẳng đều, dùng bút lông để đánh dấu điểm tham chiếu tại đáy của giếng. Chụp ảnh thời điểm 0 giờ với điểm tham chiếu trên. Sau đó đưa đĩa nuôi cấy trở lại tủ, ủ ở 37°C, 5% CO₂. Chụp ảnh tại thời điểm 8 giờ và 24 giờ tại vị trí trên quang trường theo mốc tham chiếu đã đánh dấu. Đánh giá định lượng bằng cách so sánh hình ảnh các đĩa nuôi cấy bằng phần mềm ImageJ 1.53e, với phần bổ trợ "wound_healing_size_tool" được phát triển bởi Alejandra Suarez-Arnedo và cộng sự⁴ để tính ra được diện tích vùng vô bào. Mỗi hình ảnh dùng phần mềm đo diện tích vùng vô bào 3 lần. Tiến hành quy đổi diện tích vùng vô bào tại các thời điểm tham chiếu 0 giờ là 100%, tính phần trăm diện tích vùng vô bào còn lại tại thời điểm 8 giờ và 24 giờ. Từ đó, đánh giá mức độ di chuyển của TBGTMTX người.

Thí nghiệm realtime RT-PCR đánh giá biệt hóa. Các TBGTMTX người thế hệ P4 được nuôi cấy chuyển trên các đĩa petri 35 mm, với mật độ 10⁵ tế bào/đĩa. Sau đó, thêm môi trường biệt hoá tương ứng. Sau 21 ngày, thu nhận huyền phù tế bào, cấy chuyển huyền phù tế bào ra 3 tube 1,5 mL được bổ sung thêm 10% PBS và 3 tube là nhóm tế bào ngày 0 nhằm làm mẫu kiểm

soát nội bộ để thực hiện các bước tiếp theo. Realtime RT-PCR được tiến hành với các TBGTMTX sau nuôi cấy được thực hiện với hệ thống Realtime PCR LineGene 9600 (FDQ-96A, BIOER). GAPDH được sử dụng làm gen tham chiếu để chuẩn hoá và định lượng biểu hiện gen. Các tác nhân đích được đánh giá là: RUNX2 – dấu hiệu biệt hoá nguyên bào xương sớm, collagen tuýp 1 (COL1A1) – dấu hiệu hình thành chất nền ở giai đoạn giữa, Osteocalcin (OC) – dấu hiệu biệt hoá nguyên bào xương muộn.

Định nghĩa các biến số trong nghiên cứu. Mật độ quang (OD). Là mật độ quang đo tại các thời điểm ngày 1, 3, 5, 7 và 9.

Diện tích đường rạch. Là diện tích đường rạch chưa được tế bào bao phủ tại các thời điểm 8 giờ và 24 giờ.

Mức độ biểu hiện RUNX2. Là mức độ biểu hiện tương đối RUNX2 tính tại thời điểm ngày thứ 21.

Mức độ biểu hiện COL1A1. Là mức độ biểu hiện tương đối COL1A1 tính tại thời điểm ngày thứ 21.

Mức độ biểu hiện OC. Là mức độ biểu hiện tương đối OC tính tại thời điểm ngày thứ 21.

Xử lý và phân tích số liệu. Nhập và xử lý số liệu bằng phần mềm JASP 0.18.3 với phép kiểm phù hợp. Phép kiểm có ý nghĩa thống kê khi giá trị $p < 0,05$.

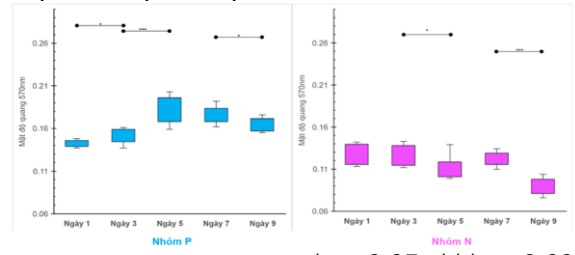
III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

Có 3 mẫu TBGTMTX người được bảo quản đông lạnh trong nơ lỏng tại thể hệ P3 và sử dụng để thực hiện các thí nghiệm tăng sinh, di cư và biệt hóa. Mật độ quang đo được của hai nhóm qua thời gian đánh giá được thể hiện trong Bảng 1. Kết quả của thí nghiệm tăng sinh cho thấy ở nhóm P có số lượng tế bào dựa trên mật độ quang trung bình tăng dần từ ngày 1 đến ngày 3 và đạt đỉnh tại ngày 5, sau đó giảm dần qua ngày 7 và ngày 9. Đối với nhóm N, mật độ quang giảm dần từ ngày 1 đến ngày 9 (Biểu đồ 1). Tại các thời điểm khảo sát, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh mật độ quang OD 570nm giữa nhóm P và nhóm N (phép kiểm Mann-Whitney, $p < 0,05$).

Bảng 1. Mật độ quang OD 570nm đo được tại các thời điểm đánh giá

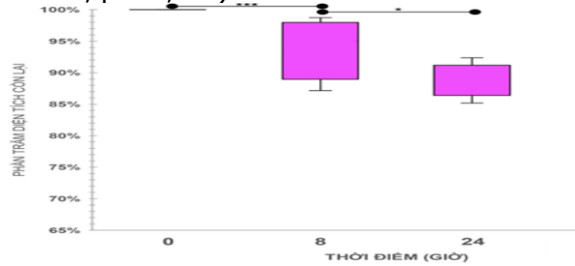
	Nhóm P	Nhóm N	p*
Ngày 1	0,143 ± 0,004	0,128 ± 0,011	< 0,010
Ngày 3	0,152 ± 0,009	0,128 ± 0,012	< 0,010
Ngày 5	0,186 ± 0,024	0,113 ± 0,012	< 0,001
Ngày 7	0,175 ± 0,009	0,122 ± 0,008	< 0,001
Ngày 9	0,164 ± 0,003	0,090 ± 0,009	< 0,001
p**	< 0,001	< 0,001	

p*: Phép kiểm Mann-Whitney;
p**: Phép kiểm phi tham số Friedman ANOVA



* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$
Biểu đồ 1. Sự thay đổi mật độ quang của các nhóm qua thời gian đánh giá

Biểu đồ 2 thể hiện sự thay đổi phần trăm diện tích vùng vô bào của TBGTMTX người trong 24 giờ sau khi thực hiện thử nghiệm đường rạch. Phần trăm diện tích vùng vô bào tại thời điểm 8 giờ và 24 giờ lần lượt là $93,93 \pm 4,50$ và $89,12 \pm 2,60$. Phần trăm diện tích vùng vô bào có xu hướng giảm có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm đo đạc (Phép kiểm phi tham số Friedman ANOVA, $p = 0,001$).



* $p < 0,05$; *** $p < 0,001$
Biểu đồ 2. Phần trăm diện tích đường rạch tại các thời điểm khảo sát

Bảng 2 trình bày biểu hiện mRNA của gen RUNX2, COL1A1 và OC của TBGTMTX người sau 21 ngày tiếp xúc với môi trường biệt hoá. Kết quả cho thấy TBGTMTX người sau khi đã biệt hoá có thể hiện xu hướng biệt hoá thành xương. Tuy nhiên, các marker thể hiện chưa rõ ràng và không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê khi so sánh giữa nhóm P và nhóm N (phép kiểm Mann-Whitney, $p > 0,05$).

Bảng 2. Biểu hiện mRNA các gen RUNX2, COL1A1 và OC tại các thời điểm khảo sát

Gen	Nhóm P	Nhóm N	p
RUNX2	25,18 ± 2,16	32,67 ± 0,43	0,100
COL1A1	25,11 ± 4,85	32,14 ± 0,33	0,700
OC	35,77 ± 0,98	35,94 ± 1,41	1,000

IV. BÀN LUẬN

TBGTMTX người là các tế bào đóng vai trò quan trọng trong việc sửa chữa và tái tạo mô xương. Các tế bào này có khả năng định hướng,

ngĩa là có thể di chuyển vào các vị trí tổn thương, sau đó tăng sinh và biệt hoá thành các tế bào chuyên biệt giúp sửa chữa, tái tạo mô.¹ Vì vậy, TBGTMTX người là loại TBG được dùng nhiều trong nghiên cứu in vitro mô phỏng lại và đánh giá quá trình hỗ trợ tái tạo mô của vật liệu. Kết quả cấy chuyển trong nghiên cứu chúng tôi thể hiện, khi vừa rã đông và cấy chuyển các tế bào P3, các tế bào có dạng tròn và lơ lửng, không bám vào bề mặt roux nuôi cấy. Sau 6 ngày cấy chuyển, các tế bào P4 đã trải kín bề mặt roux nuôi cấy, có hình dạng đặc trưng dạng hình thoi của nguyên bào sợi, đã có thể sẵn sàng để thực hiện các thí nghiệm tiếp theo.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng phương pháp MTT vì nó có nhiều ưu điểm và phù hợp với điều kiện thực tế tại cơ sở thí nghiệm. So với các phương pháp định lượng khác, phương pháp MTT có quy trình đơn giản hơn và chi phí phù hợp, thời gian thực hiện thí nghiệm ngắn trong vòng 24 giờ. Bên cạnh đó, thí nghiệm MTT có độ nhạy cao trong việc phát hiện các tế bào sống, phù hợp cho TBGTMTX và đo đặc màu của sản phẩm formazan được thực hiện bằng máy có tính ổn định, tin cậy và khách quan. Hiện nay, phương pháp MTT là một trong những phương pháp phổ biến để thực hiện khảo sát tăng sinh tế bào trong các nghiên cứu in vitro. Kết quả của thí nghiệm MTT cho thấy số lượng tế bào dựa trên mật độ quang trung bình ở nhóm P tăng dần từ thời điểm bắt đầu, đạt đỉnh ở ngày 5 và sau đó giảm dần ở ngày 7 và ngày 9. Ngược lại, đối với nhóm N, số lượng tế bào giảm dần theo thời gian quan sát. Nguyên nhân vì môi trường nuôi cấy của nhóm N chỉ có DMEM/F12 cơ bản chứa glucose, amino acids và vitamin nhưng không có các thành phần dinh dưỡng cần thiết khác để tế bào có thể tăng sinh như protein, lipid và các yếu tố tăng trưởng. Trong khi đó, ở nhóm P, môi trường nuôi cấy có bổ sung 10% FBS có các yếu tố tăng trưởng, acid béo không bão hòa có tác dụng lên sự tăng sinh của tế bào. Vì vậy, sự thay đổi số lượng tế bào ở nhóm P vẫn thể hiện hình ảnh đặc trưng của một quần thể TBG. Giai đoạn hồi phục sau cấy chuyển và bắt đầu tăng sinh từ ngày đầu tiên đến khi đạt đỉnh ở ngày 5, đây là giai đoạn hồi phục và tăng sinh, quá trình trao đổi chất diễn ra mạnh mẽ nhất ở giai đoạn này. Sau thời điểm đạt số lượng cực đại, quần thể sẽ bắt đầu vào giai đoạn cân bằng từ sau ngày thứ 5, khi mà tốc độ phân chia cũng như trao đổi chất của quần thể giảm, số lượng tế bào chết bằng với số lượng tế bào mới sinh ra. Số lượng tế bào bắt đầu giảm dần ở nhóm P từ sau ngày thứ 7, khi

mà diện tích bề mặt nuôi cấy không đổi, tế bào tiếp tục tăng sinh gây ra hiện tượng kim hãm tiếp xúc, tế bào bắt đầu chết đi, số tế bào chết cao hơn số tế bào sinh ra, đây là giai đoạn suy vong. Sự thay đổi số lượng của tế bào ở nhóm P phù hợp với các nghiên cứu trước đây về mô hình tăng trưởng của TBGTMTX, khi các tác giả cũng nhận thấy quần thể tế bào nhanh chóng tăng số lượng từ ngày 1 đến ngày 5 và giảm dần từ ngày thứ 7. Điều này chứng tỏ, quần thể TBGTMTX sau rã đông phát triển tốt trong điều kiện nghiên cứu đặt ra.

Trong nghiên cứu này, chúng tôi sử dụng thí nghiệm đường rạch để xác định khả năng di cư của TBGTMTX sau bảo quản với một số cải tiến nhằm tăng hiệu quả phân tích. Ở thí nghiệm này, bằng cách bỏ đói tế bào, chúng tôi đã làm cho các tế bào trong đĩa nuôi cấy trở lại giai đoạn G0, không phân chia tế bào. Theo tác giả Rodriguez và cộng sự (2005),⁵ một thí nghiệm theo dõi đường rạch dài hạn trên 24 giờ không thể phân biệt sự tăng sinh tế bào với sự di chuyển của tế bào. Ngoài ra, nghiên cứu của Achille và cộng sự (2011)⁶ cho thấy các TBG trung mô nuôi cấy mất khoảng 27 đến 28 giờ để bước từ G0 vào giai đoạn phân chia. Vì vậy, để giảm yếu tố gây nhiễu từ sự tăng sinh trên TBGTMTX, chúng tôi chọn mốc thời gian khảo sát là 8 giờ và 24 giờ, vừa phù hợp cho quá trình ghi nhận hình ảnh, vừa là lúc quá trình phân chia của tế bào chưa diễn ra, sự giảm diện tích vùng vô bào trong thí nghiệm là do sự di cư của TBGTMTX. Các cải tiến trên nhằm tăng độ chính xác của phương pháp mà vẫn phù hợp với trang thiết bị của phòng thí nghiệm có sẵn cũng như chi phí nghiên cứu. Như vậy, kết quả nghiên cứu thu nhận có độ chính xác chấp nhận được và khách quan. Sự giảm diện tích vùng vô bào có ý nghĩa thống kê sau 8 và 24 giờ cho thấy sự di cư vào vùng vết thương của tế bào. Điều này giúp tế bào có thể đến vùng vết thương sau đó tăng sinh cũng như biệt hoá để thực hiện quá trình lành thương trên mô hình in vivo. Ở mốc 8 giờ, qua thí nghiệm có thể thấy phần trăm diện tích vô bào có sự giảm nhẹ. Ở mốc 24 giờ có thể thấy lúc này phần trăm diện tích vùng vô bào bắt đầu giảm mạnh hơn. Điều này cho thấy, trước khi vào giai đoạn tăng sinh tế bào, các TBGTMTX có sự di cư vào vùng vết thương.

Ở người, sự phiên mã của gen RUNX2 có vai trò cảm ứng cho sự biệt hoá nguyên bào xương và kiểm soát sự biểu hiện osteocalcin. RUNX2 được coi là dấu hiệu chỉ thị sớm nhất và đặc hiệu nhất cho sự tạo xương ở giai đoạn sớm. Vì vậy, RUNX2 được nhất trí cao là dấu ấn sinh học chủ

chốt để đánh giá mức độ và chất lượng biệt hoá nguyên bào xương của tế bào gốc trung mô.⁷ Đối với sự biểu hiện của gen RUNX2 trong nghiên cứu này, chúng tôi ghi nhận nhóm P sự biểu hiện gen RUNX2 trong khi không ghi nhận được biểu hiện này ở nhóm N. COL1A1 là sản phẩm của quá trình hình thành chất nền ở giai đoạn giữa của quá trình biệt hoá TBGTMTX thành nguyên bào xương.⁷ Do đó, chúng tôi thực hiện khảo sát biểu hiện COL để đánh giá giai đoạn giữa quá trình biệt hoá nguyên bào xương của TBGTMTX. Đối với biểu hiện này trong nghiên cứu của chúng tôi cũng ghi nhận nhóm P biểu hiện gen, trong khi nhóm N không biểu hiện gen này. OC là protein chế tiết đặc hiệu chỉ biểu hiện ở các nguyên bào xương đã biệt hoá đến giai đoạn cuối, tức là sản phẩm cuối của quá trình biệt hoá TBGTMTX thành nguyên bào xương.⁷ Do đó, chúng tôi thực hiện khảo sát biểu hiện OC để đánh giá giai đoạn cuối của quá trình biệt hoá nguyên bào xương của TBGTMTX. Đối với sự biểu hiện của OC trong nghiên cứu này, chúng tôi không ghi nhận được sự biểu hiện gen này ở cả 2 nhóm.

V. KẾT LUẬN

Sau khi bảo quản đông lạnh bằng nitrơ lỏng, TBGTMTX người vẫn thể hiện được khả năng tăng sinh và di cư. Đối với khả năng biệt hoá xương, cần có thêm các thí nghiệm với thời gian đặc hiệu cho từng marker biểu hiện để khảo sát

chính xác hơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Margiana R, Markov A, Zekiy AO, et al. Clinical application of mesenchymal stem cell in regenerative medicine: a narrative review. *Stem Cell Res Ther.* Jul 28 2022;13(1):366. doi:10.1186/s13287-022-03054-0
2. Lee RH, Kim B, Choi I, et al. Characterization and expression analysis of mesenchymal stem cells from human bone marrow and adipose tissue. *Cell Physiol Biochem.* 2004;14(4-6):311-24. doi:10.1159/000080341
3. Bahsoun S, Coopman K, Akam EC. The impact of cryopreservation on bone marrow-derived mesenchymal stem cells: a systematic review. *J Transl Med.* Nov 29 2019;17(1):397. doi:10.1186/s12967-019-02136-7
4. Suarez-Arnedo A, Torres Figueroa F, Clavijo C, Arbeláez P, Cruz JC, Muñoz-Camargo C. An image J plugin for the high throughput image analysis of in vitro scratch wound healing assays. *PLoS One.* 2020;15(7):e0232565. doi:10.1371/journal.pone.0232565
5. Rodriguez LG, Wu X, Guan JL. Wound-healing assay. *Methods Mol Biol.* 2005;294:23-9. doi:10.1385/1-59259-860-9:023
6. Achille V, Mantelli M, Arrigo G, et al. Cell-cycle phases and genetic profile of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells expanded in vitro from healthy donors. *J Cell Biochem.* Jul 2011;112(7):1817-21. doi:10.1002/jcb.23100
7. Kulterer B, Friedl G, Jandrositz A, et al. Gene expression profiling of human mesenchymal stem cells derived from bone marrow during expansion and osteoblast differentiation. *BMC Genomics.* Mar 12 2007;8:70. doi:10.1186/1471-2164-8-70

ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG CUỘC SỐNG THEO THANG ĐIỂM SF-12 Ở BỆNH NHÂN VIÊM LOÉT ĐẠI TRỰC TRÀNG CHẢY MÁU

Nguyễn Hoài Nam^{1,2}, Nguyễn Thị Soan², Nguyễn Thị Thu Hiền¹, Nguyễn Văn Hiếu¹, Nguyễn Công Long^{1,2}

TÓM TẮT

Bệnh viêm loét đại trực tràng chảy máu (VLDTTTCM) là bệnh mạn tính, có thể ảnh hưởng đến chất lượng sống của bệnh nhân (BN). **Mục tiêu nghiên cứu** là "Đánh giá chất lượng sống của bệnh nhân viêm loét đại trực tràng chảy máu theo thang điểm SF-12 và một số yếu tố liên quan". **Đối tượng và phương pháp:** nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 60 BN được theo dõi điều trị tại Trung tâm Tiêu hoá –

Gan mật, Bệnh viện Bạch Mai trong thời gian từ 01/2024 đến 04/2024. **Kết quả:** theo thang điểm SF-12, điểm trung bình sức khoẻ thể chất (PCS) của BN là $35,5 \pm 8,4$, điểm trung bình sức khoẻ tâm thần (MCS) của BN là $43,6 \pm 11,9$ và điểm chất lượng cuộc sống chung là $48,9 \pm 22,2$. Không có sự khác biệt giữa điểm PCS và MCS với tuổi, giới, nơi sống, nghề nghiệp, BMI, thời gian bị bệnh và mức độ lan rộng tổn thương theo phân loại Montreal. Có sự giảm điểm PCS với mức độ nặng của hoạt động bệnh có ý nghĩa thống kê với $p < 0,05$. **Kết luận:** VLDTTTCM có ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống của BN bao gồm cả sức khoẻ thể chất và sức khoẻ tinh thần.

Từ khóa: chất lượng cuộc sống, thang điểm SF-12, viêm loét đại trực tràng chảy máu

SUMMARY

EVALUATION OF QUALITY OF LIFE USING THE SF-12 SCALE IN PATIENTS WITH

¹Bệnh viện Bạch Mai

²Trường Đại học Y Dược – Đại học Quốc Gia Hà Nội

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Hoài Nam

Email: namthbm@gmail.com

Ngày nhận bài: 5.2.2025

Ngày phản biện khoa học: 18.3.2025

Ngày duyệt bài: 11.4.2025