

albumin máu thấp gây khó liền vết mổ. Do đó cho thấy với bệnh nhân cắt toàn bộ dạ dày cần nâng đỡ cơ thể thật tốt trước và sau phẫu thuật, sử dụng kháng sinh dự phòng tránh biến chứng nhiễm khuẩn vết mổ.

Thời gian phục hồi lưu thông sau mổ được đánh giá bằng thời gian xuất hiện trung tiện sau mổ. Trong nghiên cứu của chúng tôi thời gian trung tiện sau mổ là  $4,11 \pm 1,10$  ngày. Kết quả này phù hợp với nghiên cứu của Hồ Hữu An là  $3,5 \pm 8$  ngày; của Đinh Quang Tâm là thời gian trung tiện sau mổ trung bình từ 3 ngày [7]

Thời gian phục hồi lưu thông tiêu hóa của những bệnh nhân mổ mở là  $3,97 \pm 1,03$  ngày, mổ nội soi là  $3,91 \pm 0,83$  ngày. Nghiên cứu của một số tác giả cho thấy thời gian phục hồi lưu thông tiêu hóa của mổ mở dài hơn mổ nội soi với Triệu Triệu Dương mổ mở là  $3,9 \pm 0,9$  ngày, mổ nội soi là  $3,5 \pm 0,7$  ngày [6]; Hồ Hữu An với mổ nội soi là  $3,5 \pm 0,8$  ngày [8]

## V. KẾT LUẬN

Phẫu thuật cắt toàn bộ dạ dày trong điều trị ung thư dạ dày cho thấy có tính khả thi và an toàn. Phẫu thuật cắt toàn bộ dạ dày mở rộng đặt ra khi khối u xâm lấn các cơ quan lân cận để đảm bảo tính triệt để của phẫu thuật. Việc cắt bỏ rộng rãi các cơ quan bị xâm lấn cùng với dạ dày

trong phẫu thuật không còn khó khăn về kỹ thuật cũng như hồi sức sau mổ.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Văn Xuyên (2010), "Ung thư dạ dày", Bệnh học ngoại khoa - giáo trình đại học, Nhà xuất bản Quân Đội - Học Viện Quân Y. Tr. 136-148
2. Adachi Yosuke, Kitano Seigo, Sugimachi Keizo (2001). "Surgery for gastric cancer: 10-year experience worldwide". Gastric Cancer, 4(4): pp. 166-174
3. Japanese Gastric Cancer Association (2017). "Japanese gastric cancer treatment guidelines 2014 (ver. 4)". Gastric Cancer, 20(1): pp. 1-19
4. Bộ Y tế (2013), "Cắt toàn bộ dạ dày do ung thư và vét hạch hệ thống D2", Hướng dẫn quy trình kỹ thuật khám bệnh, chữa bệnh chuyên ngành ung bướu. Tr. 265-272
5. Nguyễn Anh Tuấn (1996), "Nhận xét 62 trường hợp cắt toàn bộ dạ dày do ung thư tại viện quân y 108 trong 2 năm 1994-1995". Luận văn thạc sỹ y học, Học viện Quân y - Hà Nội
6. Triệu Triệu Dương (2008). "Nghiên cứu kỹ thuật cắt dạ dày, vét hạch D2 bằng phẫu thuật nội soi tại bệnh viện 108". Y học TP Hồ Chí Minh, 12(4): Tr. 204-208
7. Đinh Quang Tâm (2010). "Phân tích 58 trường hợp cắt dạ dày toàn phần". Y học TP Hồ Chí Minh, 14(1): Tr. 49-56
8. Hồ Hữu An (2012), "Nghiên cứu kết quả điều trị ung thư 1/3 dưới dạ dày bằng phẫu thuật nội soi cắt đoạn dạ dày vét hạch D2". Luận văn thạc sỹ y học, Học viện Quân y - Hà Nội

## ĐÁNH GIÁ ĐẶC TÍNH SINH HỌC MÀNG TIM VÔ BÀO MÔI TRƯỜNG IN VITRO

Lê Nguyên Lâm<sup>1</sup>, Bùi Cúc<sup>2</sup>

### TÓM TẮT

**Đặt vấn đề:** Màng ngoài tim vô bào là một mô di loại đã được khử tế bào để loại bỏ khả năng gây đáp ứng miễn dịch. Tuy nhiên quá trình khử tế bào có thể tác động đến cấu trúc khung nền ngoại bào, làm biến đổi tính chất cơ lý cũng như độ bền cơ học của mô, gây ra sự phân hủy nhanh chóng sau khi cấy ghép vào trong cơ thể. **Mục tiêu:** đánh giá đặc tính sinh học màng tim vô bào môi trường in vitro. **Đối tượng và phương pháp nghiên cứu:** Đối tượng nghiên cứu: Màng tim vô bào được sản xuất từ màng tim heo. Tiêu chuẩn chọn mẫu màng tim vô bào: được sản xuất từ màng tim heo tại phòng thí nghiệm Vật liệu sinh học –

Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh. Nguyên bào sợi nướu người. Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Vật liệu sinh học – Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh. Thời gian nghiên cứu: từ tháng 7/2021 đến tháng 8/2022 Phương pháp nghiên cứu Thiết kế nghiên cứu: nghiên cứu mô tả thực nghiệm mù đôi. Phương pháp chọn mẫu: chọn mẫu ngẫu nhiên các đối tượng nghiên cứu phù hợp tiêu chuẩn chọn mẫu. **Kết quả:** Tỷ lệ RGB cao hơn 70% ,dịch chiết không gây độc cho tế bào. Sau 12 tuần, khối lượng mảnh ghép không thay đổi so với ban đầu sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê ( $p = 0,407$ , sự tự phân hủy diễn ra rất ít trong mảnh ghép. Tế bào trong nhóm thí nghiệm duy trì hình dạng thon dài, rất ít tế bào bị tróc lên khỏi bề mặt nuôi cấy, giá trị OD cao hơn 90% của nhóm đối chứng âm. **Kết luận:** màng tim vô bào không gây độc cho tế bào nguyên bào sợi nướu.

**Từ khóa:** Màng ngoài tim vô bào, nguyên bào sợi nướu, in vivo

<sup>1</sup>Đại Học Y Dược Cần Thơ

<sup>2</sup>Nha Khoa Thẩm Mỹ Châu Á

Chịu trách nhiệm chính: Lê Nguyên Lâm

Email: lenguyenlam@ctump.edu.vn

Ngày nhận bài: 16.3.2023

Ngày phản biện khoa học: 12.5.2023

Ngày duyệt bài: 23.5.2023

**SUMMARY****ASSESSMENT OF BIOLOGICAL PERFORMANCE IN VITRO**

**Background:** The acellular pericardium is a heterogeneous tissue that has been cellized to eliminate its ability to induce an immune response. However, the process of cell reduction can affect the extracellular matrix structure, change the mechanical properties as well as the mechanical strength of the tissue, causing rapid decomposition after transplantation into the body. **Objective:** To evaluate the biological properties of acellular pericardium in vitro. **Research object and method:** Acellular pericardium produced from pig pericardium. Criteria for selecting acellular pericardium samples: produced from pig pericardium at the Biomaterials Laboratory - University of Natural Sciences, Vietnam National University, Ho Chi Minh City. Human gum fibroblasts. Research location: Biomaterials Laboratory - University of Natural Sciences, Vietnam National University, Ho Chi Minh City. Research period: From July 2021 to August 2022. Research method: Study design: a double-blind experimental descriptive study. Sampling method: randomly select research subjects that meet the sampling criteria. **Result:** RGB ratio is higher than 70%, the extract is not toxic to cells. After 12 weeks, the graft mass did not change from baseline, the difference was not statistically significant ( $p = 0.407$ ), very little autolysis took place in the graft. Cells in the experimental group maintained their elongated shape, very few cells were peeled off the culture surface, the OD value was higher than 90% of the negative control group. **Conclusion:** acellular pericardium is not toxic to gingival fibroblast cells. **Keywords:** Acellular pericardium, gingival fibroblasts, in vivo.

**I. ĐẶT VẤN ĐỀ**

Màng ngoài tim (màng tim) là túi chứa đầy chất lỏng bao quanh tim, có chức năng cố định và bảo vệ tim. Màng tim có bản chất là collagen đặc và là sản phẩm bỏ trong quá trình sản xuất thịt gia súc nên có số lượng dồi dào. Từ nhiều thập kỷ nay, màng tim được dùng rộng rãi trong lĩnh vực tim mạch như làm van tim, miếng vá mạch máu, v.v..., khẳng định tính tương hợp sinh học với cơ thể người. Trên thế giới đã có nhiều nhóm nghiên cứu thu nhận thành công tấm collagen từ màng tim bằng phương pháp khử tế bào, ứng dụng thử nghiệm in vivo trong việc ghép mô xương.

Nhằm khảo sát đặc tính sinh học màng tim vô bào trong môi trường in vivo, chúng tôi thực hiện nghiên cứu với 2 mục tiêu:

1. *Đánh giá khả năng độc tính và phân hủy màng tim vô bào dPP trong môi trường in vitro theo tiêu chuẩn ISO 10993-5.*

2. *Đánh giá độc tính màng tim vô bào dPP trong môi trường in vitro theo phương pháp nhuộm Giemsa và phương pháp MTT.*

**II. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU****2.1. Đối tượng nghiên cứu**

**2.1.1. Đối tượng nghiên cứu:** Màng tim vô bào được sản xuất từ màng tim heo.

**2.1.2. Tiêu chuẩn chọn mẫu**

Màng tim vô bào: được sản xuất từ màng tim heo tại phòng thí nghiệm Vật liệu sinh học – Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Nguyên bào sợi người<sup>1</sup>.

**2.1.3. Địa điểm và thời gian nghiên cứu**

Địa điểm nghiên cứu: Phòng thí nghiệm Vật liệu sinh học – Trường Đại học Khoa Học Tự Nhiên, Đại học Quốc Gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Thời gian nghiên cứu: từ tháng 7/2021 đến tháng 8/2022

**2.2. Phương pháp nghiên cứu**

**2.2.1. Thiết kế nghiên cứu:** nghiên cứu mô tả thực nghiệm mù đôi

**2.2.2. Phương pháp chọn mẫu:** chọn mẫu ngẫu nhiên các đối tượng nghiên cứu phù hợp tiêu chuẩn chọn mẫu.

**2.2.3. Nội dung nghiên cứu**

**Thực nghiệm 1:** Đánh giá khả năng phân hủy màng tim vô bào trong môi trường in vitro.

Mục tiêu: đánh giá hiện tượng tự phân hủy của mảnh ghép trong dung dịch muối sinh lý.

**Bố trí thí nghiệm.** Thí nghiệm được tiến hành với 12 mảnh ghép ở 4 mốc thời gian, mỗi mốc thời gian tiến hành đánh giá 3 mảnh ghép. Mảnh ghép được ngâm trong dung dịch sinh lý ở 37°C liên tục trong 1 hoặc 4 hoặc 8 hoặc 12 tuần, mỗi mốc thời gian tiến hành với 3 mảnh ghép. Sau khi đạt tới mốc thời gian, mảnh ghép được cân lại khối lượng. Tính tỉ lệ khối lượng mảnh ghép ở mốc thời gian so với ban đầu để xác định % còn lại ở từng mốc thời gian.

**Thao tác.** Mảnh ghép dPP 5x5 mm<sup>2</sup> được ngâm trong ống ly tâm 50 ml chứa 10ml dung dịch PBS (phosphate buffer saline) (12 mảnh/12 ống). Ống ly tâm được ủ ở 37°C liên tục trong thời gian thí nghiệm.

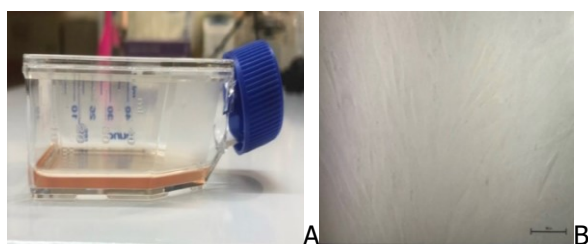
Sau các mốc thời gian 1, 4, 8, 12 tuần, lấy 3 mảnh ghép ra, đông khô, cân khối lượng các mảnh ghép. Công thức tính như sau:

$$\% \text{ khối lượng còn lại} = (m_T/m_0) \times 100$$

Trong đó  $m_T$  là khối lượng ở 1 mốc thời gian cố định (đơn vị mg),  $m_0$  là khối lượng ban đầu (đơn vị mg).

**Thực nghiệm 2:** Đánh giá độc tính màng tim vô bào dPP trong môi trường in vitro

**Mục tiêu:** Đánh giá tác động của màng tim vô bào dPP lên tỉ lệ sống của tế bào nguyên bào sợi người theo tiêu chuẩn ISO 10993-5.<sup>4</sup>



**Hình 2.1. Nguyên bào sợi nướu người**

A: Chai nuôi tế bào flask T25 dùng để nuôi hF, B: tế bào hF chụp dưới kính hiển vi (x200)

**Bố trí thí nghiệm:**

Độc tính đối với tế bào in vitro được đánh giá dựa theo tiêu chuẩn ISO 10993-5 theo phương pháp dịch chiết. Thí nghiệm được chia thành 3 nhóm: nhóm đối chứng âm, nhóm đối chứng dương, nhóm thí nghiệm như bên dưới.

- Nhóm đối chứng (ĐC) âm: tế bào nuôi trong môi trường nuôi cơ bản bCC (6 giếng).

- Đối chứng (ĐC) dương: tế bào nuôi trong môi trường nuôi cơ bản bCC được bổ sung với 10% dimethyl sulfoxide (DMSO) (6 giếng).

- Nhóm thí nghiệm (TN): tế bào nuôi trong môi trường dịch chiết (6 giếng). Môi trường dịch chiết là môi trường nuôi cơ bản bCC đã ngâm màng tim vô bào trong 1 ngày ở 37°C.

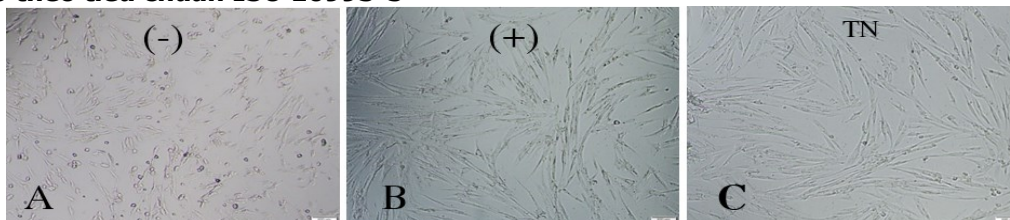
Sau thí nghiệm, sử dụng 3 giếng mỗi nhóm để nhuộm Giemsa, sử dụng 3 giếng mỗi nhóm thực hiện MTT.

**Thao tác.** Tế bào nguyên bào sợi nướu hGF được nuôi trong môi trường nuôi cơ bản bCC ở 37°C, 5%CO<sub>2</sub> để duy trì sự tăng sinh tế bào.

Ngày 1: cấy tế bào: tách tế bào hGF ra khỏi bề mặt nuôi cấy và cấy tế bào vào đĩa 4 giếng với mật độ 4x10<sup>4</sup> tế bào/giếng. Tiến hành tổng cộng 18 giếng, trong đó nhóm ĐC âm 6 giếng, TN 6 giếng và ĐC dương 6 giếng.

### III. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

#### 3.1. Đánh giá khả năng độc tính và phân hủy màng tim vô bào DPP trong môi trường in vitro theo tiêu chuẩn ISO 10993-5



**Hình 3.1. Hình dạng tế bào nguyên bào sợi nướu sau 1 ngày thử nghiệm độc tính (độ phóng đại 100 lần)**

(-): Nhóm đối chứng âm, (+): nhóm đối chứng dương, (TN): nhóm thí nghiệm

**Nhận xét:** Độc tính tế bào được đánh giá theo tiêu chuẩn ISO 10993-5 vật liệu (màng tim vô bào DPP) được ngâm trong môi trường nuôi cơ bản bCC 24 giờ ở 37°C để tạo thành dung dịch gọi là dịch chiết. Dịch chiết sau đó được dùng để nuôi tế bào trong 24 giờ.

Chuẩn bị dịch chiết: ngâm màng DPP trong môi trường nuôi cơ bản bCC ở 37°C trong 24 giờ. Sau 24 giờ, loại bỏ màng ra khỏi môi trường, môi trường còn lại là môi trường dịch chiết.

- Ngày 2: thay hết môi trường trong các giếng tế bào bằng môi trường từng nhóm thí nghiệm. Sau đó tế bào hGF được tiếp tục nuôi ở 37°C, 5%CO<sub>2</sub> trong 24 giờ.

- Ngày 3: loại bỏ môi trường trong tất cả các giếng. Tiến hành nhuộm Giemsa đối với 3 giếng mỗi nhóm và tiến hành phương pháp MTT cho 3 giếng mỗi nhóm.

- Thao tác nhuộm Giemsa: sử dụng bộ kit nhuộm Giemsa và thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất để đánh giá hình dạng và ly giải tế bào.

- Thao tác phương pháp MTT: MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5

diphenyltetrazolium bromide) là chất thường được dùng để đánh giá tỉ lệ sống của tế bào. Trong tế bào sống, MTT sẽ được chuyển hóa thành dạng tinh thể là formazan. Tinh thể được hòa tan và đo giá trị quang (optical density, OD) ở bước sóng 590 nm. Tế bào chết càng nhiều thì OD càng giảm so với ĐC âm. Phương pháp MTT được thực hiện theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Công thức tính tỉ lệ sống của tế bào như sau:

$$\text{RGR (\%)} = (\text{OD}_{590 \text{ TN}} / \text{OD}_{590 \text{ ĐC âm}}) \times 100\%$$

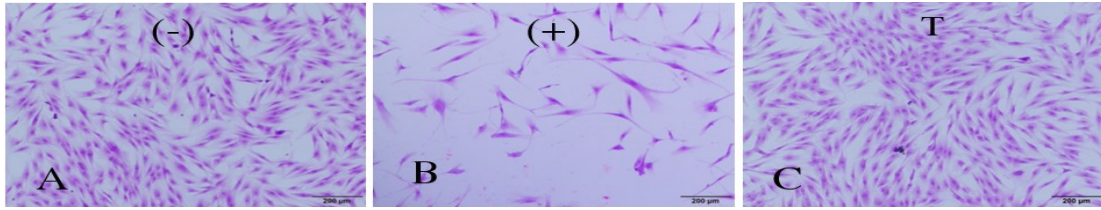
Tỉ lệ lớn hơn 70% có nghĩa là màng DPP không gây độc với tế bào<sup>8,9</sup>

Phương pháp xử lý và phân tích số liệu

- Sử dụng phần mềm thống kê chuyên dụng SPSS 23.0 để phân tích và xử lý số liệu.

- Mã hóa số liệu, nhập số liệu, thống kê và phân tích số liệu.

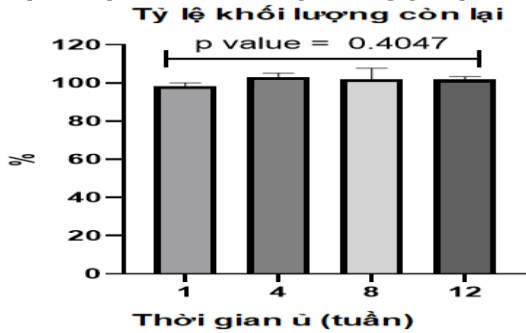
- Sử dụng kiểm định Wilcoxon, kiểm định  $\chi^2$  và kiểm định Fisher, sự khác biệt có ý nghĩa khi  $p \leq 0,05$



**Hình 3.2. Kết quả nhuộm Giemsa tế bào hGF sau khi 1 ngày thử nghiệm độc tính (độ phóng đại 100 lần)**

(-): Nhóm đối chứng âm, (+): nhóm đối chứng dương, (TN): nhóm thí nghiệm

**3.2. Đánh giá độc tính màng tim vô bào dPP trong môi trường in vitro theo phương pháp nhuộm Giemsa và phương pháp MTT**



**Hình 3.3. Sơ đồ biểu thị tỉ lệ % khối lượng của màng tim vô bào ngâm trong dung dịch sinh lý theo các mốc thời gian**

**Nhận xét:** Màng tim vô bào được ngâm trong dung dịch muối đẳng trương PBS (phosphate buffer saline). Khối lượng của màng được cân vào thời điểm trước khi ngâm, sau khi ngâm 1 tuần, 4 tuần, 8 tuần và 12 tuần.

**Bảng 3.1. Kết quả tỉ lệ % khối lượng của màng tim vô bào dPP qua các mốc thời gian**

	Tuần 1	Tuần 4	Tuần 8	Tuần 12
Tỉ lệ % khối lượng mốc thời gian so với ban đầu	99,2 ± 0,4%	102,9 ± 1,7%	102,0 ± 4,6%	101,8 ± 1,3%

**Nhận xét:** Kết quả đánh giá cho thấy sau 12 tuần, khối lượng mảnh ghép không thay đổi so với ban đầu (bảng 3.1), sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p = 0,407). Kết quả cho thấy trong 12 tuần, sự tự phân hủy diễn ra rất ít trong mảnh ghép.

**Bảng 3.2. Giá trị OD trung bình thu được bằng phương pháp MTT**

Nhóm (n=3)	Giá trị OD theo MTT	Tỉ lệ TN/ĐC (-)
TN	0,308 ± 0,032	90,57±10,90 (không gây độc theo ISO 10993-5 >70%)

**Nhận xét:** Kết quả MTT thể hiện bảng 3.2, tỉ lệ RGR là 90,33 ± 11,33%.

**IV. BÀN LUẬN**

**4.1. Đánh giá khả năng độc tính và phân hủy màng tim vô bào dPP trong môi trường in vitro theo tiêu chuẩn ISO 10993-5.** Hiện nay trên thị trường có nhiều loại màng ngăn đang được thương mại hóa và sử dụng các ca phẫu thuật GBR. Thông thường, màng ngăn được chia thành 2 loại: màng ngăn tự tiêu và không tiêu.

Một số loại màng ngăn tồn tại trên thị trường có bản chất PTFE (GTAM, Gore-Tex), collagen (BioMend Extend, BioMend, BioGide), trung bì da khử tế bào (ALLODERM)... Tuy nhiên, hiện nay vẫn chưa có sản phẩm nào được sản xuất bởi công ty Việt Nam.

Theo Anna Gilpin, Yong Yang (2017) một trong những hướng sản phẩm trong lĩnh vực màng ngăn nha khoa hiện nay là sử dụng mô khử tế bào đồng loại hoặc dị loại, ví dụ như Alloderm được chế tạo từ mô da người, CopiOs từ màng tim bò. Phương pháp khử tế bào tận dụng những mô đồng loại hoặc dị loại, đặc biệt là dị loại. Những sản phẩm được tạo ra bằng phương pháp khử tế bào thường có giá thành rẻ, được sản xuất số lượng lớn và có tính an toàn cao cho người bệnh. Nguyên tắc của phương pháp khử tế bào như sau: tất cả các mô, cơ quan trong cơ thể đều được cấu thành từ hai thành phần chính là tế bào và khung nâng đỡ ngoại bào (Extracellular Matrix, ECM). ECM là thành phần không chứa tế bào trong mô, cơ quan do tế bào tổng hợp và tiết ra ngoài. ECM bao gồm 2 thành cấu trúc chính là: proteoglycan và những protein dạng sợi. ECM không những đóng vai trò khung nâng đỡ vật lý mà còn là nguồn lưu trữ tín hiệu hóa học, cơ học cho các chức năng tế bào. Giữa các mô và các cơ quan khác nhau, thành phần tế bào và ECM sẽ không giống nhau<sup>3</sup>. Tế bào là đơn vị cấu trúc và chức năng của mô và cơ quan. Đồng thời, tế bào còn là mục tiêu tấn công của hệ miễn dịch cơ thể chủ

đối với các mảnh ghép đồng loại hoặc khác loại. Phương pháp khử tế bào được tiến hành với mục đích loại bỏ hoàn toàn các tế bào trong mô, cơ quan đồng loại hoặc dị loại để thu nhận một cách toàn vẹn ECM của mô, cơ quan ban đầu. Theo Naoko Nakamura, Tsuyoshi Kimura, Akio Kishida (2017) <sup>7</sup> sản phẩm của quá trình loại tế bào là một khung nâng đỡ ECM tự nhiên của mô. Ưu điểm của phương pháp khử tế bào:

- Tận dụng những sản phẩm bỏ trong quá trình chế biến gia súc. Mặc dù phương pháp khử tế bào có thể áp dụng với mô đồng loại và dị loại, tuy nhiên do hạn chế về số lượng mẫu nên phương pháp này thường được sử dụng đối với mô dị loại từ bò, heo, cừu... Những mô thường được sử dụng để khử tế bào như động mạch cảnh, van tim, da, màng tim... là những sản phẩm bỏ trong quá trình chế biến thịt động vật. Do đó, giá thành sản xuất rẻ, số lượng mẫu dồi dào ECM thu được từ phương pháp này có tính an toàn sinh học tốt do được cấu thành từ các loại protein như collagen type I, elastin.

Theo Vallecillo C, Toledano M, Osorio R (2021) ăng collagen hiện là màng được sử dụng rộng rãi nhất để tái tạo xương có hướng dẫn; tuy nhiên, động học phân hủy nhanh chóng của chúng có nghĩa là chức năng rào cản có thể không duy trì đủ thời gian để cho phép quá trình tái tạo mô diễn ra<sup>9</sup>.

Năm 2016 nhóm tác giả Trần Lê Bảo Hà đã tiến hành thử nghiệm khử tế bào màng tim heo. Về cấu trúc theo lớp, màng ngoài tim được chia thành 3 lớp: ngoại tâm mạc sợi, lá thành và lá tạng. Trong đó, lá thành và ngoại tâm mạc sợi liên kết trực tiếp với nhau và cách lá tạng bởi dịch màng ngoài tim. Thông thường, lớp ngoại tâm mạc sợi và lá thành được thu nhận để khử tế bào tạo tấm collagen. Sau khi khử tế bào, màng tim thu được được xem tấm collagen có khả năng tự phân hủy trong cơ thể. Màng tim sau khi được thu nhận thì được xử lý bằng cách kết hợp hóa chất Tris-HCl và sodium dodecyl sulfate (SDS) với nhiều nồng độ và thời gian khác nhau để tìm ra quy trình tối ưu. Kết quả cho thấy SDS 0,1% trong 12 cho kết quả tối ưu. Sau xử lý, màng tim không còn dấu vết nhân tế bào, lượng DNA còn tồn đọng thấp dưới ngưỡng cho phép ( $40,63 \pm 4,68$  ng/ml) và kết quả thử nghiệm ban đầu cho thấy màng tim vô bào không gây độc với tế bào <sup>1</sup>. Năm 2018, nhóm tác giả Trần Lê Bảo Hà tiếp tục cải thiện thêm quy trình tạo màng tim vô bào bằng cách tiến hành gia cố và khử trùng màng glutaraldehyde. Màng sau khi gia cố bằng glutaraldehyde 0,1% không

làm thay đổi độ dày và cấu trúc của màng. Màng vẫn duy trì cấu trúc các sợi collagen liên kết chặt chẽ với nhau. Sau khi gia cố, độ bền cơ học tăng lên khoảng gấp 2 lần so với ban đầu (10 MPa) <sup>6</sup>. Những kết quả này cho thấy màng tim vô bào là vật liệu sinh học lý tưởng dành cho các ứng dụng phục hồi mô, cơ quan trong cơ thể. Hình dạng tế bào được thể hiện trong hình 3.1 và 3.2. Theo đó, kết quả nhuộm Giemsa mẫu đối chứng âm (tế bào được nuôi trong môi trường nuôi cơ bản), nguyên bào sợi nướu có dạng hình sợi, thuôn dài ở 2 đầu với nhân nhỏ nằm ở vị trí trung tâm (Hình 3.2. A). Đây là hình dạng đặc trưng của tế bào dòng nguyên bào sợi, bao gồm nguyên bào sợi nướu. Đối với mẫu đối chứng dương, DMSO nồng độ 10% là chất gây độc tế bào. Sau 1 ngày nuôi, phần lớn tế bào trong nhóm đối chứng bị chết, co tròn, bong khỏi bề mặt nuôi, còn rất ít tế bào còn bám lại trên đĩa nuôi cấy. Những tế bào còn bám lại trên đĩa nuôi bị biến đổi về hình dạng: tế bào phình to, đẹp hơn, chia nhiều nhánh (Hình 3.2. B). Hai nhóm đối chứng âm và đối chứng dương cho thấy thử nghiệm diễn ra ổn định. Kết quả nhóm thí nghiệm cho thấy rất ít tế bào co tròn, bong tróc khỏi bề mặt nuôi, phần lớn tế bào vẫn tăng sinh tốt, tế bào vẫn duy trì hình dạng thon dài, nhân nhỏ ở vị trí trung tâm tương tự như tế bào trong nhóm đối chứng âm (hình 3.2. C). Kết quả quan sát ban đầu cho thấy dịch chiết không gây độc tế bào.

Với những đặc điểm trên, chúng tôi nhận thấy màng tim vô bào dPP là vật liệu tiềm năng sử dụng làm màng ngăn nha khoa. Do đó, thí nghiệm này được thiết kế để đánh giá tính chất của màng dPP theo các yêu cầu lý tưởng đối với màng ngăn nha khoa.

#### **4.2. Đánh giá độc tính màng tim vô bào dPP trong môi trường in vitro theo phương pháp nhuộm Giemsa và phương pháp MTT**

Nhiều giải thích được sử dụng để định nghĩa về tính tương hợp sinh học của vật liệu. Trong đó định nghĩa thường được sử dụng phổ biến nhất giải thích tương hợp sinh học là khả năng của vật liệu thực hiện chức năng trong đáp ứng tương đối của vật chủ. Định nghĩa cũng được sử dụng bởi Hiệp hội Vật liệu Sinh học Châu Âu (European Society of Biomaterial). Vật liệu sinh học (VLSH) có khả năng chứa độc tố gây ra những tổn thương cho cơ thể nhận. VLSH có khả năng kích thích đáp ứng miễn dịch của cơ thể, điều này dẫn tới kích hoạt quá mức hệ thống miễn dịch của cơ thể nhận, từ đó gây thải loại mảnh ghép và có thể gây hại cho cơ thể. VLSH cũng có khả năng tương tác tốt với cơ thể nhận

hoặc thực hiện chức năng tốt trong cơ thể nhận. Do đó tính tương hợp sinh học thường được đánh giá ở nhiều mức độ và bằng nhiều phương pháp khác nhau. Ở mức độ tế bào, tính tương hợp sinh học được kiểm tra trong điều kiện in vitro bằng cách đánh giá độc tính của VLSH đối với tế bào. Ở mức độ cơ thể, tính tương hợp sinh học được kiểm tra trên cơ thể động vật, thường là cấy dưới da chuột để kiểm tra tác động lẫn nhau của mảnh ghép và cơ thể động vật<sup>5</sup>.

Tính tương hợp sinh học ở mức độ tế bào trong điều kiện in vitro được thực hiện theo tiêu chuẩn ISO 10993-5<sup>4</sup>. Đây là tiêu chuẩn thường được dùng để đánh giá tính tương hợp sinh học ở mức độ tế bào và được chấp nhận rộng rãi trong các đánh giá với mục đích tương tự. Trong nghiên cứu này, tế bào được sử dụng là nguyên bào sợi nướu. Đây là mô sẽ tiếp xúc trực tiếp với mảnh ghép trong trường hợp sử dụng trên người nên tế bào nguyên bào sợi nướu là đối tượng lý tưởng để đánh giá tương hợp sinh học. Nguyên bào sợi nướu người (hF) được phân lập và trữ đông sau 3 lần cấy chuyển. Trước khi tiến hành thí nghiệm khảo sát độc tính tế bào hF được rã đông trong môi trường DMEM/F12 chứa 20%FBS, 1% kháng sinh. Tế bào hF sau khi rã đông vẫn duy trì được tính chất chung của dòng tế bào này: tế bào hình thoi thon dài với nhân nhỏ ở trung tâm và có khả năng tăng trưởng tốt trong môi trường cơ bản bCC ở 37°C, 5%CO<sub>2</sub>. Trong thử nghiệm ISO 10993-5, vật liệu được ngâm vào môi trường nuôi tế bào, lúc này môi trường được gọi là dịch chiết. Những chất gây độc cho tế bào nếu có trong màng tim sẽ hòa tan vào môi trường dịch chiết. Những chất gây độc sẽ tác động làm ảnh hưởng sự tăng sinh tế bào, thậm chí làm tế bào chết và bong ra khỏi bề mặt nuôi cấy. Ví dụ hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) nồng độ thấp sẽ làm biến đổi hình dạng tế bào nguyên bào sợi từ dạng thon dài thành dạng đa giác dẹt với nhân phình to, nồng độ H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> nồng độ cao sẽ gây chết tế bào<sup>4</sup>.

Theo Juan José Barcia (2007), hình dạng tế bào được kiểm tra bằng phương pháp nhuộm Giemsa. Thành phần thuốc nhuộm này là Giemsa và Eosin. Giemsa bắt màu hồng đậm với nhân, eosin bắt màu hồng nhạt với tế bào chất. Do đó, hình dạng tế bào sẽ được nhận diện rõ ràng khi nhuộm với thuốc nhuộm này<sup>2</sup>.

Tỉ lệ sống của tế bào được đánh giá bằng phương pháp MTT. Trong tế bào sống, MTT bị biến đổi bởi enzyme peroxidase trong ti thể để hình thành tinh thể formazan. Tinh thể formazan sau đó được hòa tan trong dung môi DMSO và

được đo giá trị hấp thu OD ở bước sóng 590 nm. Tế bào trong giếng càng ít thì giá trị OD càng thấp và ngược lại<sup>5,8</sup>. Trong thử nghiệm độc tính, ngày đầu tiên tế bào được cấy lượng như nhau trong các giếng (4x10<sup>4</sup> tế bào/giếng). Nếu dịch chiết có độc thì giá trị OD trong giếng thí nghiệm sẽ giảm so với giếng đối chứng âm. Theo tiêu chuẩn ISO 10993-5, tỉ lệ giá trị OD nhóm TN cao hơn 70% của nhóm đối chứng thì vật liệu không độc. Theo kết quả Bảng 3.2. tiêu chuẩn ISO 10993-5, tỉ lệ RGB cao hơn 70% thì dịch chiết không gây độc, kết quả này có nghĩa là dịch chiết không gây độc cho tế bào.<sup>4</sup>

Kết quả nhuộm Giemsa và MTT 2 nhóm đối chứng cho thấy: tế bào trong nhóm đối chứng âm vẫn duy trì hình dạng thon dài, tăng sinh tốt và có giá trị OD cao nhất so với các nhóm còn lại. Tế bào trong nhóm đối chứng dương bị co tròn và bong ra khỏi môi trường nuôi cấy, giá trị OD nhóm đối chứng dương chỉ bằng 30% so với nhóm đối chứng âm. Kết quả này cho thấy thí nghiệm đang tiến hành tốt và kết quả thu được đáng tin cậy. Tế bào trong nhóm thí nghiệm vẫn duy trì hình dạng thon dài, rất ít tế bào bị tróc lên khỏi bề mặt nuôi cấy, giá trị OD cao hơn 90% của nhóm đối chứng âm. Kết quả này giúp kết luận là màng tim vô bào không gây độc cho tế bào nguyên bào sợi nướu.

## V. KẾT LUẬN

Tỉ lệ RGB cao hơn 70% ,dịch chiết không gây độc cho tế bào.

Sau 12 tuần, khối lượng mảnh ghép không thay đổi so với ban đầu sự khác biệt không có ý nghĩa về mặt thống kê (p = 0,407, sự tự phân hủy diễn ra rất ít trong mảnh ghép).

Kết quả nhóm thí nghiệm ít tế bào co tròn, bong tróc khỏi bề mặt nuôi, phần lớn tế bào vẫn tăng sinh tốt, tế bào vẫn duy trì hình dạng thon dài, nhân nhỏ ở vị trí trung tâm tương tự như tế bào trong nhóm đối chứng âm.

Tế bào trong nhóm thí nghiệm vẫn duy trì hình dạng thon dài, rất ít tế bào bị tróc lên khỏi bề mặt nuôi cấy, giá trị OD cao hơn 90% của nhóm đối chứng âm.

## TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. **Trần Lê Bảo Hà, Nguyễn Thị Thanh Giang, Tô Minh Quân, Phan Kim Ngọc** (2009) "Thu nhận khuôn nền ngoại bào từ nguyên bào sợi in vitro". Tạp chí phát triển Khoa học và Công nghệ Y học, 12 (9), 5-11.
2. **Barcia JJ** (2007), "The Giemsa stain: its history and applications", International Journal of Surgical Pathology, Vol. 15 (3), pp. 292 - 296.
3. **Gilpin A, Yang Y** (2017), "Decellularization

- Strategies for Regenerative Medicine: From Processing Techniques to Applications", BioMed Research International, Vol. 2017, pp. 9831534 - 13
4. **ISO** (2009) "10993-5. Biological evaluation of medical devices, Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity". Int Stand. 3, 1-42.
  5. **Kumar P, Nagarajan A, Uchil PD** (2018), "Analysis of Cell Viability by the MTT Assay", Cold Spring Harbor Protocols Vol. 2018 (6), pp. 469 - 471.
  6. **My Thi Ngoc Nguyen, Ha Le Bao Tran** (2018), "Effect of Modified Bovine Pericardium on Human Gingival Fibroblasts in vitro", Cells Tissues Organs, Vol. 206 (6), pp. 296 - 307
  7. **Nakamura N, Kimura T, Kishida A** (2017), "Overview of the Development, Applications, and Future Perspectives of Decellularized Tissues and Organs", ACS Biomaterials Science & Engineering, Vol. 3 (7), pp. 1236-1244.
  8. **Tolosa. L, Donato. M. T, Gómez-Lechón. M. J** (2018) "General Cytotoxicity Assessment by Means of the MTT Assay". Methods Mol Biol, 1250, 333-48MTT9.Vallecillo-Rivas M, Toledano-Osorio M, 9.Vallecillo C, Toledano M, Osorio R (2021), "The Collagen Origin Influences the Degradation Kinetics of Guided Bone Regeneration Membranes", Polymers, Vol. 13 (17), pp. 3007.

## NGHIÊN CỨU XỬ TRÍ THIỂU ỒI Ở TUỔI THAI ĐỦ THÁNG TẠI BỆNH VIỆN TRUNG ƯƠNG THÁI NGUYÊN

Cần Bá Quát<sup>1</sup>, Hoàng Thị Ngọc Trâm<sup>1</sup>, Trương Văn Vũ<sup>1</sup>,  
Nguyễn Thị Mơ<sup>1</sup>, Chu Tiểu Yến<sup>1</sup>

### TÓM TẮT

Thiểu ối làm tăng nguy cơ suy thai và đẻ khó vì chèn ép dây rốn và thai khó bình chỉnh tốt trong chuyển dạ. **Mục tiêu:** Đánh giá kết cục thai kỳ của các thai phụ thiểu ối ở tuổi thai đủ tháng tại bệnh viện Trung ương Thái Nguyên năm 2022. **Tiêu chuẩn lựa chọn:** Có 1 thai, tuổi thai từ 37 tuần trở lên được chẩn đoán thiểu ối khi siêu âm có chỉ số AFI < 5cm. **Tiêu chuẩn loại trừ:** Thai phụ đang mắc bệnh cấp tính: nhiễm khuẩn toàn thân, lao phổi, viêm gan, không đẻ tại viện, ối ít do rỉ ối, ối vỡ. **Thiết kế nghiên cứu:** mô tả, cắt ngang. **Kết quả:** Tuổi mẹ trung bình là 27,7 ± 5 tuổi. Nhóm thai quá ngày dự kiến sinh chiếm 7,5%. Tỷ lệ thai phụ khi nhập viện chưa chuyển dạ chiếm 35,8%. Nhóm chỉ số ối ở mức 21 – 40mm chiếm 64,18%, nhóm có chỉ số ối ≤ 20mm chiếm 19,4%. Tỷ lệ mổ lấy thai là 85,1%. Chỉ định mổ lấy thai là do chỉ số ối ≤ 20mm chiếm 27,2%. 9,7% trường hợp hồi cứu không có nước ối sau đẻ.

**Từ khóa:** Thiểu ối, kết quả xử trí sản khoa

### SUMMARY

#### AN INVESTIGATION OF TREATMENT OF OLIGOHYDRAMNIOS IN PREGNANCY FULL-TERM AT THAI NGUYEN NATIONAL HOSPITAL

Oligohydramnios increases the risk factors for fetal distress and difficult delivery because of umbilical cord compression and the fetus is difficult to adjust well during labor. **Objective:** To evaluate treatment outcomes of pregnant women with oligohydramnios with pregnancy full-term at Thai Nguyen National Hospital in 2022. **Selection criteria:** Pregnant

woman has a fetus, gestation age from 37 weeks or more, diagnosed with oligohydramnios on ultrasound with AFI < 5cm. **Exclusion criteria:** Pregnant women with acute diseases: systemic infections, tuberculosis, hepatitis, not giving birth at the hospital, low amniotic fluid due to amniotic fluid leakage, ruptured of the membranes. **Study methods:** Description, cross section. **Result:** Mean age of samples 27,7 ± 5.0 years old. The group of estimated due date beyond accounted for 7.5%. The rate of pregnant women who did not go into labor when admitted to the hospital accounted for 35.8%. The group with amniotic fluid index at 21 – 40mm accounted for 64.18%, the group with amniotic fluid index ≤ 20mm accounted for 19.4%. The rate of cesarean section accounted for 85.1%. Indication for cesarean section is due to amniotic index ≤ 20mm accounting for 27.2%. 9.7% of the retrospective cases did not have amniotic fluid after delivery.

**Keywords:** Oligohydramnios, Result of obstetric

### I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Thiểu ối luôn là vấn đề được nhiều nhà sản khoa quan tâm nghiên cứu. Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu về mối liên quan của thiểu ối và thai nghén cũng như ảnh hưởng của thiểu ối với thai nghén. Tại Israel, năm 2015 một nghiên cứu phân tích trên gần 36.000 phụ nữ có thai nhận thấy có khoảng 6.7% phụ nữ gặp thiểu ối không rõ nguyên nhân, trong đó tỷ lệ mổ lấy thai cao hơn 2,07 lần, và tỷ lệ trẻ sơ sinh phải nằm điều trị tại các đơn vị điều trị tích cực cũng cao hơn gấp 1,47 lần so với nhóm có chỉ số nước ối bình thường[7]. Tại bệnh viện Phụ sản Trung ương (2017), Hoàng Phương Thảo nghiên cứu kết quả thai nghén của các trường hợp thiểu ối từ 22 đến 37 tuần nhận thấy tuổi thai trung bình kết thúc thai nghén là 32,5 tuần [5]. Thiểu

<sup>1</sup>Trường Đại học Y Dược Thái Nguyên  
Chịu trách nhiệm chính: Cần Bá Quát  
Email: quatsantn1@gmail.com  
Ngày nhận bài: 16.3.2023  
Ngày phản biện khoa học: 11.5.2023  
Ngày duyệt bài: 23.5.2023