

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

---

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Tâm Long**

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG NGÂN HÀNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ  
TỪ MÔ DÂY RÓN CHO TRỊ LIỆU TẾ BÀO VÀ ỨNG DỤNG BƯỚC ĐẦU  
TRONG ĐIỀU TRỊ THOÁI HOÁ KHỚP GỐI TẠI BỆNH VIỆN  
ĐA KHOA TÂM ANH**

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH SINH HỌC**

*Hà Nội - 2023*

**BỘ GIÁO DỤC  
VÀ ĐÀO TẠO**

**VIỆN HÀN LÂM KHOA HỌC  
VÀ CÔNG NGHỆ VIỆT NAM**

**HỌC VIỆN KHOA HỌC VÀ CÔNG NGHỆ**



**Nguyễn Tâm Long**

**NGHIÊN CỨU XÂY DỰNG NGÂN HÀNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ  
TỪ MÔ DÂY RÓN CHO TRỊ LIỆU TẾ BÀO VÀ ỨNG DỤNG BƯỚC ĐẦU  
TRONG ĐIỀU TRỊ THOÁI HOÁ KHỚP GỐI TẠI BỆNH VIỆN  
ĐA KHOA TÂM ANH**

Chuyên ngành: Sinh học thực nghiệm

Mã số: 8420114

**LUẬN VĂN THẠC SĨ NGÀNH SINH HỌC**

NGƯỜI HƯỚNG DẪN KHOA HỌC:

1. TS. Thẩm Thị Thu Nga
2. TS. Nguyễn Trung Nam

*Hà Nội - 2023*

## LỜI CAM ĐOAN

*Tôi xin cam đoan đề tài nghiên cứu trong luận văn này là công trình nghiên cứu của tôi dựa trên những tài liệu, số liệu do chính tôi tự tìm hiểu và nghiên cứu. Chính vì vậy, các kết quả nghiên cứu đảm bảo trung thực và khách quan nhất. Đồng thời, kết quả này chưa từng xuất hiện trong bất cứ một nghiên cứu nào. Các số liệu, kết quả nêu trong luận văn là trung thực nếu sai tôi hoàn toàn chịu trách nhiệm trước pháp luật.*

Hà Nội, ngày 14 tháng 4 năm 2023

Nguyễn Tâm Long

## LỜI CẢM ƠN

Lời đầu tiên, tôi xin chân thành cảm ơn ban Lãnh đạo Học viện, phòng Đào tạo và các phòng ban chức năng, các thầy cô của khoa Công nghệ Sinh học - Học viện Khoa học và Công nghệ, Viện Hàn lâm Khoa học và Công nghệ Việt Nam, mặc dù gặp những khó khăn nhất định do tình hình dịch bệnh COVID – 19, nhưng đã tạo những điều kiện thuận lợi nhất cho tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đến TS. Thẩm Thị Thu Nga, TS. Nguyễn Trung Nam là những người thầy đã trực tiếp hướng dẫn tôi trong suốt quá trình học tập và hoàn thành luận văn này.

Tôi cũng xin bày tỏ lời cảm ơn sâu sắc tới Ban lãnh đạo Bệnh viện đa khoa Tâm Anh, các thầy, cô và toàn thể y bác sỹ khoa Cơ xương khớp, các khoa - phòng chức năng: Trung tâm Chẩn đoán hình ảnh, Khoa Xét nghiệm, Trung tâm sản phụ khoa đã tạo điều kiện và giúp đỡ tôi trong quá trình thực hiện đề tài và hoàn thành luận văn.

Tôi xin bày tỏ lòng biết ơn đặc biệt tới những đồng nghiệp của tôi tại Trung tâm Tế bào gốc - Bệnh viện đa khoa Tâm Anh, đã luôn đồng viên, giúp đỡ tận tình trong quá trình làm việc, tạo điều kiện tốt nhất để tôi yên tâm học tập, nghiên cứu và hoàn thành luận văn này. Tôi cũng gửi lời cảm ơn sâu sắc tới gia đình, bạn bè, những người ở bên tôi, truyền cho tôi động lực để hoàn thành quá trình học tập và có được kết quả như ngày hôm nay.

## MỤC LỤC

<b>DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT .....</b>	<b>i</b>
<b>DANH MỤC CÁC BẢNG .....</b>	<b>iii</b>
<b>DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ .....</b>	<b>iv</b>
<b>MỞ ĐẦU .....</b>	<b>1</b>
<b>NỘI DUNG.....</b>	<b>3</b>
<b>Chương 1 : TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>3</b>
<b>1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH THOÁI HOÁ KHỚP.....</b>	<b>3</b>
1.1.1. Định nghĩa thoái hoá khớp.....	3
1.1.2. Cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp .....	4
1.1.3. Điều trị thoái hóa khớp .....	6
<b>1.2. TỔNG QUAN VỀ TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ.....</b>	<b>6</b>
1.2.1. Tế bào gốc trung mô .....	6
1.2.2. Đặc điểm tế bào gốc trung mô .....	7
<b>1.3. TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ DÂY RÓN.....</b>	<b>9</b>
<b>1.4. ỨNG DỤNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TRONG ĐIỀU TRỊ     THK GỐI .....</b>	<b>10</b>
<b>1.5. VẤN ĐỀ ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC.....</b>	<b>13</b>
<b>Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. ĐỐI TƯỢNG VÀ VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>15</b>
2.1.1. Đối tượng thu nhận mẫu hiến mô dây rón .....	15
2.1.2. Đối tượng tham gia nghiên cứu điều trị thoái hoá khớp gối bằng tế bào gốc trung mô từ mô dây rón. ....	15
2.1.3. Hoá chất, dụng cụ, vật tư tiêu hao.....	16
2.1.4. Trang thiết bị nghiên cứu chính sử dụng trong nghiên cứu .....	16
<b>2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU .....</b>	<b>16</b>
2.2.1. Tuyển chọn sản phụ, thu nhận và sàng lọc mẫu mô dây rón. ....	16
2.2.2. Phân lập, nuôi cấy tăng sinh và bảo quản tế bào gốc trung mô từ mô dây rón.....	17
2.2.3. Đánh giá chất lượng và tiêu chuẩn hóa các mẫu tế bào gốc trung mô từ mô dây rón theo tiêu chuẩn áp dụng cho các mẫu tế bào gốc sử dụng cho cấy ghép trên người. ....	17
2.2.4. Ứng dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rón trong điều trị thoái hóa khớp gối và đánh giá bước đầu về độ an toàn. ....	18
<b>2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU.....</b>	<b>18</b>
2.3.1. Tuyển chọn sản phụ, thu nhận và sàng lọc mẫu mô dây rón. ....	18
2.3.2. Phân lập, nuôi cấy tăng sinh và bảo quản tế bào gốc trung mô từ mô dây rón.....	19
2.3.3. Đánh giá chất lượng và tiêu chuẩn hóa các mẫu tế bào gốc trung mô từ mô dây rón theo tiêu chuẩn áp dụng cho các mẫu tế bào gốc sử dụng cho cấy ghép trên người. ....	20
2.3.4. Xác định thời gian bảo quản tối ưu cho sản phẩm tế bào sau khi thu hoạch. ....	23

2.3.5. Ứng dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn trong điều trị thoái hóa khớp gối và đánh giá bước đầu về độ an toàn.....	23
<b>Chương 3 : KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1. TUYÊN CHỌN SẢN PHẨM, THỰC HIỆN SÀNG LỌC VÀ THU NHẬN MẪU MÔ DÂY RÓN.....</b>	<b>25</b>
<b>3.2. PHÂN LẬP, NUÔI CÂY TĂNG SINH TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ DÂY RÓN.....</b>	<b>28</b>
3.2.1. Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn.....	28
3.2.2. Nuôi cấy tăng sinh tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn.....	30
<b>3.3. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG TẾ BÀO.....</b>	<b>32</b>
3.3.1. Đánh giá tỷ lệ sống chết của tế bào.....	32
3.3.2. Đánh giá kiểu hình miễn dịch của tế bào gốc trung mô .....	33
3.3.3. Nhiễm sắc thể đồ.....	36
3.3.4. Xác định khả năng biệt hoá đa dòng của tế bào gốc.....	37
3.3.5. Xét nghiệm endotoxin, mycoplasma và vô khuẩn.....	39
<b>3.4. XÁC ĐỊNH THỜI GIAN BẢO QUẢN TỐI ƯU CHO SẢN PHẨM TẾ BÀO TRƯỚC KHI THỰC HIỆN TRỊ LIỆU .....</b>	<b>41</b>
<b>3.5. BÁO CÁO CA BỆNH ỨNG DỤNG CỦA TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ DÂY RÓN TRONG ĐIỀU TRỊ THOÁI HOÁ KHỚP GỐI.....</b>	<b>43</b>
3.5.1. Một vài đặc điểm sinh học của bệnh nhân trước ghép .....	43
3.5.2. Đặc điểm của tế bào gốc trung mô dùng cho bệnh nhân .....	44
3.5.3. Theo dõi bệnh nhân sau tiêm, và đánh giá tại các thời điểm theo đề cương nghiên cứu.....	46
<b>KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ .....</b>	<b>54</b>
<b>DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO.....</b>	<b>55</b>
<b>PHỤ LỤC .....</b>	<b>63</b>

## DANH MỤC CÁC KÝ HIỆU, CÁC CHỮ CÁI VIẾT TẮT

AABB	Association for the Advancement of Blood & Biotherapies (Hiệp hội vì sự tiến bộ của Y học truyền máu và Liệu pháp sinh học)
BMI	Body Mass Index (Chỉ số khối cơ thể)
CD	Cluster of Differentiation (cụm biệt hoá)
CRP	C-reactive protein (protein C phản ứng)
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's – Medium (môi trường nuôi cấy cải tiến của Dulbecco)
EBV	Epstein – Barr Virus
GF	Growth Factor (yếu tố tăng trưởng)
HTLV	Human T-lymphotropic virus (Virus bạch cầu T loại I)
ICRS	International Cartilage Regeneration and Joint Preservation Society (Hiệp hội tái tạo sụn và bảo tồn khớp quốc tế)
IGF	Insulin-like Growth Factor (yếu tố tăng trưởng giống Insulin)
IKDC	International Knee Documentation Committee (Ủy ban tài liệu đầu gối Quốc tế)
ISCT	International Society for Cellular Therapy (Hiệp hội Quốc tế về Liệu pháp Tế bào)
KOOS	Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (Thang điểm kết quả Thoái hoá và Chấn thương khớp gối)
MRI	Magnetic resonance imaging (Ảnh cộng hưởng từ)
MSC	Mesenchymal Stem Cell (Tế bào gốc trung mô)

TBG	Tế bào gốc
THK	Thoái hoá khớp
TNF- $\alpha$	Tumor Necrosis Factor – $\alpha$ (yếu tố hoại tử khối u)
VAS	Visual Analogue Scale (Thang điểm tương tự trực quan)
WHO	World Health Organization (Tổ chức Y tế thế giới)
WOMAC	The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index (thang điểm đánh giá thoái hoá khớp)



## DANH MỤC CÁC BẢNG

<b>Bảng</b>	<b>Tên bảng</b>	<b>Trang</b>
<b>Bảng 2.1</b>	Danh mục các xét nghiệm dùng trong nghiên cứu	18
<b>Bảng 2.2</b>	Danh mục các xét nghiệm đánh giá chất lượng tế bào gốc	20
<b>Bảng 3.1</b>	Danh sách các sản phụ hiến mẫu mô dây rốn	25
<b>Bảng 3.2</b>	Kết quả xét nghiệm sàng lọc của các sản phụ	26
<b>Bảng 3.3</b>	Đặc điểm các mẫu mô dây rốn	27
<b>Bảng 3.4</b>	Kết quả kiểm tra sống chết của tế bào trước khi đưa vào lưu trữ	33
<b>Bảng 3.5</b>	Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch của TBG tại thời điểm cất đông	34
<b>Bảng 3.6</b>	Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch của TBG tại thời điểm điều trị cho bệnh nhân	34
<b>Bảng 3.6</b>	Kết quả kiểm tra mycoplasma và endotoxin của mẫu TBG	41
<b>Bảng 3.8</b>	Các chỉ số sinh học của bệnh nhân trước ghép TBG	43
<b>Bảng 3.9</b>	Kết quả đánh giá chất lượng của mẫu TBG ở lần tiêm thứ hai	45

## DANH MỤC CÁC HÌNH VẼ, ĐỒ THỊ

<b>Hình</b>	<b>Tên hình vẽ, biểu đồ</b>	<b>Trang</b>
<b>Hình 3.1</b>	Phân lập nuôi cấy TBGTM từ mô dây rốn	29
<b>Hình 3.2</b>	Tế bào gốc trung mô ở giai đoạn nuôi cấy thứ cấp thế hệ P1	30
<b>Hình 3.3</b>	Kết quả kiểm tra tỷ lệ sống chết của tế bào	33
<b>Hình 3.4</b>	Kết quả nhuộm sắc thể đồ	36
<b>Hình 3.5</b>	Hình ảnh tế bào biệt hoá sau khi nhuộm	38
<b>Hình 3.6</b>	Mối liên hệ giữa độ sống chết của TBG với thời gian bảo quản	42
<b>Hình 3.7</b>	Kết quả các dấu ấn của TBG sử dụng cho bệnh nhân	44
<b>Hình 3.8</b>	Thang điểm Lequesne theo thời gian	47

## MỞ ĐẦU

Trong những năm gần đây, trị liệu tế bào bằng cách sử dụng tế bào gốc trung mô đang thu hút sự chú ý lớn bởi tiềm năng điều trị rộng rãi của chúng. Trên chuyên trang về thử nghiệm lâm sàng [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov), đã có hơn 1400 thử nghiệm lâm sàng ứng dụng loại tế bào gốc này trong điều trị, và những nghiên cứu này liên quan tới các loại bệnh và chấn thương khác nhau như bệnh phổi [1], bệnh tim [2], các bệnh về thần kinh [3], u thần kinh đệm [4], đái tháo đường [5], xương khớp [6].... Tất cả những nghiên cứu này, đưa cho chúng ta một triển vọng về ngành công nghệ tái tạo cực kỳ tiềm năng và nó tạo nên một nhu cầu lớn về việc sử dụng các nguồn tế bào gốc chất lượng để phục vụ điều trị.

Thoái hóa khớp là dạng rối loạn khớp phổ biến nhất, đặc trưng bởi sự thoái hóa của sụn khớp và sự hình thành xương ở rìa khớp gây đau và cứng khớp. Cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp là đa yếu tố, liên quan đến các quá trình cơ học và sinh hóa, di truyền. Điều trị thoái hóa khớp bằng các phương pháp hiện tại đã mang lại những hiệu quả nhất định. Song, khoa học kỹ thuật vẫn không ngừng phát triển với mong muốn mang lại liệu pháp trị liệu hoàn hảo hơn nữa. Nghiên cứu bệnh sinh và cơ chế tác động của các liệu pháp sẽ mở ra các hướng điều trị hiệu quả tốt nhất cho người bệnh.

Các phương pháp không dùng thuốc thường được xem xét trong giai đoạn đầu của viêm khớp. Các phương pháp dùng thuốc điều trị nội khoa có ưu điểm như không xâm lấn, chi phí thấp, ít biến chứng, do đó bệnh nhân dễ chấp nhận. Tuy nhiên, nhược điểm của phương pháp này là không điều trị tận gốc, không giải quyết được các vấn đề cơ học của hư tổn sụn và về lâu dài sẽ có biến chứng do sử dụng thuốc quá lâu. Điều trị ngoại khoa can thiệp bằng phẫu thuật thường được chỉ định cho các trường hợp thoái hóa khớp độ 4. Sử dụng huyết tương giàu tiểu cầu cải thiện khá tốt cho các trường hợp thoái hóa khớp, tuy nhiên, sau một thời gian bệnh vẫn có thể tái phát. Thực tế, không có phương pháp nào được chứng minh là bảo vệ sụn khớp và ngăn chặn sự tiến triển của viêm khớp [7]. Việc tìm ra phương pháp mới thực sự tác động tới quá trình phục hồi sụn là cần thiết trong điều trị bệnh.

Trên thế giới đã có nhiều nghiên cứu chứng minh được tính an toàn và hiệu quả của liệu pháp tế bào gốc trung mô trong điều trị thoái hóa khớp. Các

cơ chế tác dụng của liệu pháp này cũng dần dần được làm sáng tỏ. Việc ứng dụng tế bào gốc trong điều trị bệnh lý khớp gối là một chọn lựa tối ưu cho các bệnh nhân. Đó là một điều trị không phẫu thuật và có thể thực hiện trong ngày. Bệnh nhân có thể thực hiện các công việc hàng ngày ngay sau điều trị tế bào gốc, không còn tình trạng phải chịu đựng những cơn đau sau mổ và thời gian hồi phục kéo dài sau mổ.

Tại Việt Nam, hướng ứng dụng tế bào gốc trong điều trị thoái hóa khớp đang thu hút sự quan tâm của các nhà nghiên cứu, các bác sĩ lâm sàng. Số lượng bệnh nhân có nhu cầu điều trị ngày càng tăng. Từ lâu hướng điều trị sử dụng tế bào gốc trung mô từ mô mỡ và tuỷ xương đã được ứng dụng tại nước ta, đem lại những hiệu quả nhất định. Tuy nhiên, trở ngại lớn của phương pháp sử dụng tế bào trung mô từ mô mỡ là đối với một số bệnh nhân lớn tuổi, việc hút mỡ để phân lập tế bào gốc khá là khó khăn và chất lượng tế bào gốc giảm theo tuổi tác. Đối với việc sử dụng tế bào gốc trung mô từ tuỷ xương, thủ thuật xâm lấn là một e ngại của bệnh nhân. Ứng dụng tế bào gốc trung mô đồng loài có nguồn gốc từ mô dây rốn có nhiều ưu việt: không cần thủ thuật xâm lấn để thu tế bào, tế bào gốc non trẻ, khả năng tăng sinh và biệt hóa tốt, khả năng điều hòa miễn dịch. Việc đưa liệu pháp tế bào gốc vào ứng dụng tạo cho người bệnh cơ hội tiếp cận với công nghệ hiện đại, mang lại cho họ các lựa chọn điều trị tối ưu. Tại Việt Nam, chưa có công bố nào liên quan tới việc sử dụng tế bào gốc trung mô đồng loài từ mô dây rốn cho việc điều trị thoái hoá khớp gối. Cùng với đó, việc xây dựng quy trình thu thập và xử lý tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn để thu nhận được nguồn tế bào gốc đủ tiêu chuẩn cho trị liệu tế bào cũng là một câu hỏi cần được nghiên cứu chuyên sâu. Chính vì vậy, chúng tôi tiến hành thực hiện đề tài: **“Nghiên cứu xây dựng ngân hàng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn cho trị liệu tế bào và ứng dụng bước đầu trong điều trị thoái hoá khớp gối tại Bệnh viện đa khoa Tâm Anh”** nhằm các mục tiêu:

- Xây dựng được ngân hàng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn đạt tiêu chuẩn trong trị liệu tế bào.
- Bước đầu đánh giá tính an toàn và hiệu quả trong điều trị bệnh thoái hóa khớp gối bằng tế bào gốc trung mô đồng loài từ mô dây rốn tại bệnh viện Đa khoa Tâm Anh – Hà Nội.

## NỘI DUNG

### Chương 1 : TỔNG QUAN NGHIÊN CỨU

#### 1.1. TỔNG QUAN VỀ BỆNH THOÁI HOÁ KHỚP

##### 1.1.1. Định nghĩa thoái hoá khớp

Thoái hóa khớp (THK) là hậu quả của quá trình cơ học và sinh học làm mất cân bằng giữa tái tạo và phá hủy của sụn và xương dưới sụn. Thoái hóa khớp gây đau và cứng khớp cho người bệnh do hư hỏng phần sụn, đệm giữa hai đầu xương có kèm theo phản ứng viêm và giảm tiết dịch nhờn bôi trơn. Thoái hóa khớp liên quan đến hầu hết các mô của khớp động, cuối cùng biểu hiện bởi các sự thay đổi về hình thái, sinh hóa, cơ sinh học của tế bào và chất cơ bản của sụn dẫn đến nhuyễn hóa, nứt loét và mất sụn khớp, phá hủy xương dưới sụn, tạo gai xương và hốc xương dưới sụn [8].

Trên thế giới, bệnh thoái hóa khớp là bệnh khớp rất phổ biến ở các nước phát triển và đang phát triển [9]. Thống kê của WHO cho thấy có 0,3 – 0,5% dân số bị bệnh khớp lý về khớp thì trong đó có 20% bị thoái hóa khớp. Ở Mỹ: 80% người trên 55 tuổi bị thoái hóa khớp. Ở Pháp: Thoái hóa khớp chiếm 28% số bệnh về xương khớp. Ở Việt Nam: thoái hóa khớp chiếm 10,41% các bệnh về xương khớp.

Thoái hóa khớp thường gặp ở các khớp chịu lực: khớp gối, khớp háng hoặc thoái hóa cột sống. Ngoài ra cũng gặp thoái hóa ở các khớp nhỏ ngoại vi có chức năng vận động cơ học nhiều như khớp bàn ngón cái và các khớp ngón xa ở tay, chân. Trong đó bệnh thoái hóa khớp gối rất hay gặp ở nước ta (thường gặp hơn ở nữ giới) với chi phí xã hội cho chẩn đoán, phòng và điều trị bệnh ngày càng tăng cao [10, 11].

Tại Hoa Kỳ, tỷ lệ mắc THK cao hơn ở người da trắng so với người da đen [12, 13]. Độ tuổi mắc các hội chứng cơ xương khớp cũng có sự phân hóa rõ rệt, từ 7,1% với độ tuổi 18 - 44, 29,3% ở độ tuổi 45 - 64 và trên 49% ở độ tuổi trên 65 [14].

Bệnh THK là một gánh nặng kinh tế tại Hoa Kỳ vì chi phí cho việc điều trị. Số liệu năm 2011 là 14,810 tỷ đô la, chiếm 3.8% thu nhập quốc dân, đứng thứ hai trong danh sách chi trả cho việc khám chữa bệnh [15-17]. Tại Việt Nam, không có một nghiên cứu cụ thể nào chỉ ra những số liệu cụ thể về tỉ lệ mắc cũng như tác động của căn bệnh này tới chúng ta.

### **1.1.2. Cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp**

Thoái hóa khớp là một sự tương tác phức tạp về giữa các yếu tố về mặt cơ học, tế bào và hóa sinh dẫn tới bệnh lý ở giai đoạn muộn [18]. Có nhiều yếu tố đóng vai trò quan trọng trong cơ chế bệnh sinh của thoái hóa khớp, bao gồm các yếu tố cơ sinh học, các chất tiền viêm và protease. Bằng cách tìm hiểu các cơ chế thúc đẩy sự phá hủy mô khớp trong thoái hóa khớp và xác định các yếu tố chính liên quan, các mục tiêu mới cho trị liệu đang xuất hiện sẽ vượt ra ngoài việc giảm triệu chứng để làm chậm hoặc ngăn chặn sự tiến triển của thoái hóa khớp [19].

Các yếu tố nguy cơ có liên quan tới thoái hóa khớp và cơ chế tác động của chúng tới bệnh được liệt kê ra như dưới đây:

#### **1.1.2.1. Tuổi tác**

Có thể thấy rõ ràng thoái hóa khớp có liên quan đến sự lão hóa [20]. Lão hóa của các mô khớp và sự phát triển của thoái hóa khớp là hai quá trình riêng biệt. Sự lão hóa làm cho khớp dễ bị tổn thương hơn và thúc đẩy sự tiến triển THK. Sự lão hóa khớp được chia thành lão hóa của chất ngoại bào và lão hóa tế bào. Thay đổi chất ngoại bào bao gồm làm mỏng sụn khớp theo tuổi, giảm hydrat hóa và tích lũy protein có chứa AGEs (Advanced Glycation End-các sản phẩm glycat hoá) [21]. AGEs làm tăng liên kết ngang của collagen, dẫn đến tính chất cơ sinh học bị thay đổi, đặc trưng bởi sự "giòn" tăng [22].

Có nhiều thay đổi tế bào có thể liên kết lão hóa và thoái hóa khớp, bao gồm rối loạn chức năng ty thể liên quan đến stress oxy hóa và tổn thương DNA ty thể, giảm khả năng đáp ứng với yếu tố kích thích tăng trưởng đồng hóa bao gồm yếu tố tăng trưởng giống như insulin IGF-1 và yếu tố tăng trưởng TGF- $\beta$ , lão hóa tế bào dẫn đến lão hóa kiểu hình bài tiết, và giảm quá trình autophagy - một cơ chế bảo vệ chịu trách nhiệm cho sự thoái hóa và loại bỏ các thành phần tế bào bị hư hỏng [21]. Những thay đổi tế bào này góp phần làm mất cân bằng giữa hoạt động đồng hóa qua trung gian bởi các yếu tố tăng trưởng cần thiết để sản xuất và sửa chữa ma trận bị hư hỏng và hoạt động dị hóa được trung gian bởi các yếu tố tiền viêm và protease thúc đẩy phá hủy mô khớp.

#### **1.1.2.2. Giới tính**

Nữ giới có tỷ lệ mắc thoái hóa khớp cao hơn nam giới. Phụ nữ có nguy cơ mắc thoái hóa khớp gối, tay và hông cao hơn so với nam giới [23]. Phụ nữ

ở sau tuổi mãn kinh có nguy cơ mắc bệnh thoái hóa khớp gối nghiêm trọng hơn nam giới [24]. Lý do làm tăng nguy cơ thoái hóa khớp ở phụ nữ vẫn chưa rõ ràng, nhưng nó có thể liên quan tới hooc-môn, di truyền hoặc các yếu tố không xác định khác.

### ***1.1.2.3. Các yếu tố di truyền***

Khoảng 30% nguy cơ mắc thoái hóa khớp liên quan đến di truyền đa gen, các yếu tố di truyền mạnh hơn đôi với thoái hóa khớp tay và háng [25]. Ảnh hưởng của các yếu tố di truyền chiếm khoảng 40% đối với thoái hóa khớp gối, 60% đối với thoái khớp háng, 65% đối với thoái hóa khớp bàn tay và khoảng 70% đối với thoái khớp cột sống. Nhiều gen đóng vai trò trong khởi phát bệnh (ví dụ, gen mã hóa cho thụ thể vitamin D, yếu tố tăng trưởng giống insulin-1 (IGF-1), collagen loại II, yếu tố biệt hóa tăng trưởng 5) [26]. Các dạng di truyền của thoái hóa khớp do một số đột biến hiếm gặp ở collagen loại II, IX hoặc XI, là các collagen cấu trúc trong sụn khớp, dẫn đến thoái hóa khớp sớm, có thể từ tuổi thiếu niên, một dạng thoái hóa khớp nghiêm trọng, ảnh hưởng đến nhiều khớp [27]. Chính vì thủy tinh thể của mắt cũng chứa các loại collagen này, một số bệnh nhân mắc thoái hóa khớp cũng bị bệnh về mắt. Những đột biến này là nguyên nhân của hội chứng Stickler ảnh hưởng đến 1/7500 ÷ 1/9000 trẻ sơ sinh.

### ***1.1.2.4. Chấn thương***

Khớp gối là khớp hay bị chấn thương, ví dụ: đứt dây chằng chéo trước có liên quan đến thoái hóa khớp khởi phát sớm trong 13% trường hợp sau 10-15 năm [26]. Khoảng 5% trường hợp thoái hóa khớp gối mới có liên quan tới chấn thương gối trước đó, tránh chấn thương có thể ngăn ngừa 5% trường hợp thoái hóa khớp mới [28].

Thoái hóa khớp sau chấn thương thường xuất hiện trong vòng 10 năm sau chấn thương, thời gian khởi phát ảnh hưởng một phần bởi tuổi của cá nhân tại thời điểm bị thương [29]. Thoái hóa khớp có thể phát triển sau những chấn thương dẫn đến dây chằng và hỏng sụn chêm, hoặc sau những chấn thương như gãy xương liên quan đến khớp. Sự bị hỏng kích thích viêm cấp tính với sưng khớp đặc biệt nghiêm trọng khi một dây chằng chính, chẳng hạn như dây chằng chéo trước, bị rách. Các chất tiền viêm TNF- $\alpha$  và IL-6 đóng vai trò quan trọng trong quá trình viêm do chấn thương [30]. Nguy cơ phát triển thoái hóa khớp sau khi rách dây chằng chéo trước là như nhau cho dù

dây chằng có được sửa chữa hay không [31]. Điều này cho thấy rằng cấu trúc cơ học của khớp không được phục hồi hoàn toàn sau khi tái tạo dây chằng chéo trước hoặc viêm cấp tính xảy ra với vết rách làm cho quá trình thoái hóa khớp tiến triển và nó không bị dừng lại bởi quá trình tái tạo dây chằng. Các nghiên cứu gần đây chứng minh rằng các dấu hiệu thoái hóa collagen và proteoglycan hiện diện rõ ràng sau chấn thương và duy trì theo thời gian. [32]

### **1.1.3. Điều trị thoái hóa khớp**

Trên thế giới, trong điều trị thoái hóa khớp, phương pháp phổ biến nhất là dùng thuốc chống viêm, giảm đau non-steroid, corticosteroid và các thuốc ức chế miễn dịch. [33], hoặc phẫu thuật: cắt gai xương, sửa chữa bề mặt khớp, thay khớp [34]. Gần đây, thuốc ức chế TNF- $\alpha$  đã được sử dụng bởi có các nghiên cứu đã chứng minh được vai trò quan trọng của TNF- $\alpha$  trong việc đóng góp vào cơ chế bệnh sinh của viêm khớp [35]. Các phương pháp điều trị nói trên đã được chứng minh có hiệu quả giảm đau, sưng nề, phục hồi chức năng khớp. Tuy nhiên hạn chế lớn nhất của các phương pháp trên là chỉ điều trị triệu chứng mà không tái tạo được sụn.

Trong những năm gần đây, với những tiến bộ của khoa học kỹ thuật, nhiều phương pháp mới đã được phát triển và ứng dụng trong điều trị thoái hóa khớp gối. Nổi trội là các phương pháp sử dụng huyết tương giàu tiểu cầu tự thân [36] hoặc đồng loài [37]. Mặc dù tiêm PRP nội khớp tỏ ra có hiệu quả, song, một số nghiên cứu chỉ ra hiệu quả chỉ kéo dài trong khoảng ba tuần và giảm dần theo thời gian. Các triệu chứng của viêm khớp sẽ lại xuất hiện sau khoảng thời gian một năm.

## **1.2. TỔNG QUAN VỀ TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ**

### **1.2.1. Tế bào gốc trung mô**

Vào những năm 1970, Alexander Friedenstein đã ghi nhận sự phát hiện của tế bào gốc trung mô và mô tả nó như là các tế bào nguyên bào sợi có khả năng tăng sinh tạo ra một quần thể tế bào, cư trú trong tủy xương chuột và các cơ quan tạo máu khác [38]. Những tế bào này phân biệt với đa số tế bào tạo máu bởi sự bám dính nhanh chóng lên bề mặt và có dạng giống nguyên bào sợi trong khi nuôi cấy.

Thuật ngữ “Tế bào gốc trung mô” được đặt ra vào năm 1991 bởi Arnold Caplan để mô tả các tế bào này với đặc tính tương tự như đã nêu từ khi được phát hiện [39]. Trong đó “trung mô” là thuật ngữ để chỉ mô liên kết



thừa đang phát triển của một phôi, chủ yếu bắt nguồn từ trung bì, và tạo ra phần lớn các tế bào của mô liên kết ở cơ thể trưởng thành. Định nghĩa thường được mở rộng để bao hàm các tế bào mô liên kết ở mô trưởng thành như mô nguyên bào sợi (cơ), xương, sụn, mỡ, ... [40].

Định nghĩa về tế bào gốc trung mô (MSC) được xác định bởi Hiệp hội Quốc tế về Liệu pháp tế bào (ISCT) năm 2006, theo đó xác định tế bào gốc trung mô bao gồm ba tiêu chí tối thiểu: thứ nhất, tế bào gốc trung mô bám dính lên bề mặt trong điều kiện nuôi cấy *in vitro* tạo thành quần thể tế bào có hình thái tương tự nguyên bào sợi. Thứ hai, tế bào gốc trung mô có khả năng biệt hóa thành tế bào xương, tế bào mỡ và tế bào sụn trong điều kiện nuôi cấy thích hợp. Thứ ba, tế bào gốc trung mô có biểu hiện các phân tử chỉ thị bề mặt bao gồm dương tính với CD105, CD73, và CD90 đồng thời âm tính với CD45, CD34, CD14 hoặc CD11b, CD79a hoặc CD19 và HLA-DR [41].

Trước đây, nguồn thu nhận chủ yếu của tế bào gốc trung mô là tủy xương. Tuy nhiên, việc phân lập tế bào từ tủy xương gây đau đớn cho bệnh nhân và dễ gặp những rủi ro như nhiễm khuẩn, tiềm năng của tế bào gốc trung mô bị giảm dần theo tuổi tác của bệnh nhân. Do vậy, việc nghiên cứu tìm ra các nguồn thu nhận mới hiệu quả khắc phục được những nhược điểm của tế bào gốc trung mô phân lập từ tủy xương là một vấn đề cần thiết và đang được phát triển mạnh mẽ hiện nay. Đã có nhiều báo cáo công bố về việc phân lập tế bào gốc trung mô từ nhiều nguồn khác nhau như máu ngoại vi, mô mỡ, dây rốn, màng hoạt dịch, tuỷ răng,... Trong đó, dây rốn là nguồn thu nhận tế bào gốc trung mô số lượng lớn và ít gây tranh cãi trong cộng đồng vì dây rốn là rác thải y tế, nay được biết đến là nguồn cung cấp tế bào gốc trung mô lý tưởng bởi có nhiều ưu điểm: dễ thu nhận, không gây tranh cãi về mặt đạo đức, nguồn cung cấp dồi dào, tiềm năng biệt hóa và tăng sinh cao,...[42]. Tế bào gốc trung mô có thể được phân lập từ các phần khác nhau của dây rốn, trong đó thành phần chất nền Wharton hay còn gọi là chất nền của dây rốn, là nguồn thu nhận rất được quan tâm do sở hữu nhiều đặc tính giữa của tế bào gốc phôi và tế bào gốc trưởng thành [43] đồng thời có tỷ lệ tăng sinh và khả năng tự đổi mới cao hơn so với tế bào gốc trưởng thành [44].

## **1.2.2. Đặc điểm tế bào gốc trung mô**

### **1.2.2.1. Khả năng tự đổi mới**

Một trong những đặc trưng của tế bào gốc là khả năng tự đổi mới. Đó là quá trình mà trong đó một tế bào gốc phân chia đối xứng hoặc không đối xứng để tạo ra một hoặc hai tế bào con có tiềm năng phát triển tương tự như tế bào mẹ. Khả năng tự đổi mới là điều cần thiết cho tế bào gốc để mở rộng số lượng của chúng trong quá trình phát triển và duy trì trong các mô trưởng thành hay khôi phục lại tế bào gốc sau khi bị tổn thương [45].

Khả năng tự đổi mới của tế bào gốc dùng để chỉ những con đường và cơ chế sinh học giúp bảo tồn tình trạng gốc không biệt hóa của tế bào gốc. Nhìn chung những cơ chế này đều có liên quan đến quá trình điều hòa sự phân chia và tăng sinh của tế bào [46].

#### **1.2.2.2. Tiềm năng biệt hóa**

Ngay từ những năm 1960, sau khi có phát hiện về tế bào gốc trung mô, người ta đã bắt đầu nghiên cứu về tiềm năng biệt hóa của nó trong *in vitro*. Trong những nghiên cứu ban đầu này, các nhà khoa học đã chứng minh được rằng MSC phân lập từ tủy xương người, chó, thỏ, chuột có khả năng biệt hóa thành các tế bào có nguồn gốc trung bì [47] [48]. Các nghiên cứu gần đây của các nhà khoa học cho thấy, MSC không chỉ có khả năng biệt hóa thành các tế bào có nguồn gốc từ trung bì mà còn có thể biệt hóa thành nhiều loại tế bào có nguồn gốc nội bì và ngoại bì, chẳng hạn như tế bào gan [49], tế bào thần kinh [50], tế bào cơ tim [51]. Tiềm năng biệt hóa đa năng của tế bào gốc trung mô thường được kiểm tra *in vitro* bằng cách sử dụng môi trường nuôi cấy đặc biệt kích thích tế bào biệt hóa thành dòng chức năng mong muốn.

#### **1.2.2.3. Khả năng điều biến miễn dịch của tế bào gốc trung mô**

Ngoài tiềm năng biệt hóa đa dạng, tế bào gốc trung mô hiện nay được biết đến là một công cụ hứa hẹn trong y học là nhờ đến khả năng điều biến miễn dịch khi được đưa vào cơ thể. Nhiều báo cáo chỉ ra rằng tế bào gốc trung mô trưởng thành có thể ảnh hưởng tới đáp ứng miễn dịch tế bào T và tế bào B: (1) tế bào gốc trung mô trưởng thành ức chế sự tăng sinh của tế bào T, sự tiết các cytokine, chất độc tế bào và điều hòa sự cân bằng của Th1/Th2 [52]; (2) tế bào gốc trung mô trưởng thành điều hòa chức năng của tế bào T<sub>reg</sub> [53], (3) tế bào gốc trung mô tăng khả năng sống của tế bào B nhưng cũng có khả năng ức chế sự tăng sinh của chúng, ảnh hưởng lên sự tiết kháng thể và sản xuất các phân tử đồng kích thích của tế bào B [54]; (4) tế bào gốc trung mô ức chế sự trưởng thành, hoạt động và trình diện kháng nguyên của tế bào

tua [55] và ức chế interleukin-2 (IL-2) cảm ứng tế bào giết tự nhiên (NK) hoạt động [56].

#### **1.2.2.4. Khả năng di trú**

Một số nghiên cứu đã chỉ ra rằng tế bào gốc trung mô có khả năng di chuyển đến các vị trí viêm và vi môi trường khối u. Mặc dù các cơ chế chính xác làm cơ sở di chuyển của tế bào gốc trung mô vẫn chưa được làm sáng tỏ, một số báo cáo đã cho thấy rằng sự di chuyển của tế bào gốc trung mô phụ thuộc vào các tương tác của chemokine và thụ thể khác nhau [57, 58]. Các cặp thụ thể chemokine và cytokine này có vai trò quan trọng trong bạch cầu trong việc đáp ứng với tổn thương và phản ứng viêm hoặc tế bào gốc máu (HSC) và được cho là hoạt động tương tự trong tế bào gốc trung mô. Một vết thương không lành liên tục tạo ra các chất trung gian gây viêm, bao gồm các cytokine, chemokine và các phân tử hóa học khác. Các tín hiệu viêm liên tục này có thể trở thành đích cho việc di chuyển của tế bào gốc trung mô.

### **1.3. TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ DÂY RỖN**

Dây rốn chứa hai động mạch rốn và một tĩnh mạch rốn, cả hai được nằm trong một mô liên kết chất nhầy cụ thể, được gọi là Wharton's Jelly (WJ), được bao phủ bởi biểu mô màng ối. Dây rốn được coi là chất thải y tế và việc thu thập tế bào gốc trung mô từ dây rốn là không xâm lấn; hơn nữa, việc sử dụng tế bào gốc trung mô từ dây rốn không bị vướng mắc với các vấn đề đạo đức. Các tế bào gốc trung mô từ dây rốn, tương tự như các tế bào gốc trung mô có nguồn gốc từ các nguồn khác, có khả năng tự đổi mới riêng biệt trong khi duy trì tính đa năng của chúng, nghĩa là khả năng biệt hóa thành các tế bào mỡ, tế bào xương, tế bào sụn, tế bào thần kinh và tế bào gan, mặc dù một số khả năng biệt hóa được biết đến là một phần [59-61]. Hơn nữa, tế bào gốc trung mô từ dây rốn cũng đã thu hút được sự quan tâm lớn vì các đặc tính điều hòa miễn dịch của chúng. Ngày nay, tế bào gốc trung mô từ dây rốn được đề xuất như một công cụ linh hoạt có thể cho y học tái tạo và liệu pháp miễn dịch.

Tế bào gốc trung mô từ dây rốn có những ưu điểm nổi bật so với tế bào gốc từ các nguồn khác đó là (1) một quy trình thu thập không xâm lấn để sử dụng tự thân (autologous) hoặc đồng loài (allogenic); (2) nguy cơ nhiễm trùng thấp hơn; (3) Tiềm năng biệt hóa cao; và (4) Tính sinh miễn dịch thấp cùng với khả năng điều biến miễn dịch tốt.

#### 1.4. ỨNG DỤNG TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TRONG ĐIỀU TRỊ THK GỐI

Điều trị thoái hóa khớp nói chung, thoái hóa khớp gối nói riêng bằng phương pháp nội khoa, acid hyaluronic, huyết tương giàu tiểu cầu, can thiệp nội soi hoặc phẫu thuật đã được chứng minh là có hiệu quả giảm đau, chống viêm, cải thiện chức năng vận động, cải thiện chất lượng cuộc sống của người bệnh [59]. Những phương pháp nói trên là những tiến bộ y học lớn trong vòng 50 năm qua đối với căn bệnh thoái hóa khớp. Tuy nhiên, điểm hạn chế lớn nhất và không thể khắc phục được của những phương pháp này là không tái tạo được sụn khớp, do đó khi sụn khớp đã bị tổn thương nhiều, bệnh không thể phục hồi được. Nói cách khác, những phương pháp điều trị nói trên chỉ giải quyết phần “ngọn”. Trái lại, trị liệu tế bào gốc trung mô là giải pháp duy nhất hiện nay có thể giải quyết được gốc rễ của bệnh sinh là có thể tái tạo được sụn khớp. Những thử nghiệm lâm sàng đã tiến hành đã chứng minh điều này.

Năm 2006, Hiệp hội Quốc tế về Liệu pháp Tế bào (ISCT) đã công bố các tiêu chí cho định nghĩa về các tế bào gốc trung mô [41]. Sau đó các thử nghiệm lâm sàng trong lĩnh vực y học tái tạo gia tăng chủ yếu là liên quan đến thử nghiệm sử dụng tế bào này, do có nhiều chỉ định và nguồn cung cấp chính là các mô dây rốn. Hầu hết các phương pháp sử dụng liệu pháp tế bào đều đang được thực hiện ở các bước thử nghiệm lâm sàng ở các pha khác nhau. Nhiều báo cáo chi tiết về hiệu quả trong việc giảm đau, giảm triệu chứng và một số trường hợp có báo cáo cải thiện hình thái của sụn khớp.

Theo một đánh giá tổng quan về tình hình nghiên cứu ứng dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn trong thập kỷ 2007-2017, chỉ ra rằng trong số 178 thử nghiệm lâm sàng đã đăng ký, có 20% đã có bài công bố được xuất bản. Nghiên cứu trên 98 bài công bố liên quan đến tế bào gốc trung mô mô dây rốn (bao gồm cả 36 bài có đăng ký thử nghiệm lâm sàng), 18% có báo cáo tế bào gốc trung mô an toàn khi sử dụng và 74% trong số các công bố chứng minh được sự cải thiện về điều trị. Có 75% trong số 36 ấn phẩm có đăng ký thử nghiệm lâm sàng là ở giai đoạn I/II. Các ấn phẩm không liên quan đến thử nghiệm thường là báo cáo các trường hợp hoặc mô tả về nghiên cứu thí điểm [62]. Điều này cho thấy tế bào gốc trung mô nguồn gốc mô dây rốn đặc biệt nhận được sự quan tâm của các nhà nghiên cứu. Mặc dù vậy, số

lượng các công bố liên quan đến điều trị thoái hóa khớp còn chưa nhiều. Dưới đây là một số nghiên cứu điển hình.

Về tính *an toàn* của liệu pháp sử dụng tế bào gốc trung mô, Lalu và cộng sự đã tiến hành đánh giá một cách có hệ thống các thử nghiệm lâm sàng kiểm tra việc sử dụng MSC để xem xét sự an toàn của chúng. Tổng cộng có 36 nghiên cứu có 1012 người tham gia với các điều kiện lâm sàng khác nhau đã được tác giả thống kê đánh giá. Tám nghiên cứu là các thử nghiệm ngẫu nhiên và có đối chứng, có 321 người tham gia. Nghiên cứu chỉ phân tích các thử nghiệm lâm sàng sử dụng đường tiêm tĩnh mạch ở các nhóm tuổi khác nhau. Phân tích tổng hợp không phát hiện ra mối liên quan nào giữa việc tiêm truyền tế bào gốc trung mô và độc tính cấp tính do tiêm truyền, các biến chứng, nhiễm trùng và tử vong. Có một mối liên quan đáng kể giữa các tiêm tế bào gốc trung mô và sốt thoáng qua tại hoặc ngay sau khi tiêm tế bào gốc nhưng không có liên quan đến di chứng lâu dài. Quan trọng nhất, phân tích tổng hợp cho thấy không có sự kiện bất lợi nghiêm trọng nào do việc sử dụng các tế bào gốc trung mô và đặc biệt không tìm thấy mối liên hệ nào giữa các tế bào gốc trung mô và sự hình thành khối u [63].

Một nghiên cứu tương tự được thực hiện với các công bố sử dụng tế bào gốc trung mô tiêm nội khớp điều trị viêm khớp gối. Khác với các bệnh đe dọa đến tính mạng thường được chỉ định sử dụng liệu pháp tế bào gốc như suy tim, ghép chống chủ, thì các bệnh trong lĩnh vực chỉnh hình hay cơ xương khớp, việc theo dõi chuyên sâu về tính an toàn thậm chí còn quan trọng hơn. Qua 844 trường hợp điều trị tiêm nội khớp bằng tế bào gốc được phân tích, bốn cá nhân đã bị biến chứng nghiêm trọng. Hai trong số bốn biến chứng nghiêm trọng có lẽ liên quan đến thủ thuật: nhiễm trùng tại vị trí hút tủy xương (Bone Marrow Aspiration-BMA) và tắc mạch phổi 2 tuần sau hút tủy xương. Hai khối u không phải tại vị trí tiêm được báo cáo là không liên quan. Các tác dụng phụ không nghiêm trọng cũng được phân tích và báo cáo là đau và sưng. Tuy nhiên rất khó để quy các tác dụng phụ có liên quan đến sản phẩm tế bào gốc này vào cùng một nguyên nhân. Số lượng tế bào, số lần cấy chuyển, thành phần của dung dịch huyền phù tế bào, đều có thể ảnh hưởng đến sự xuất hiện của các tác dụng phụ. Họ cũng nhận thấy phương pháp điều trị nội khớp với tế bào gốc nuôi tăng sinh có ít nhất một số lượng tương đương các tác dụng phụ so với phương pháp điều trị bằng Hyaluronic acid và

Hylan. Nhóm nghiên cứu khẳng định không có bằng chứng thuyết phục nào chống lại việc sử dụng tế bào gốc trung mô tiêm nội khớp cho các bệnh nhân viêm khớp [64].

Về *hiệu quả* của liệu pháp tế bào gốc trong điều trị viêm khớp gối, nhiều thử nghiệm lâm sàng sử dụng tế bào đơn nhân từ tủy xương, phân đoạn mạch nền từ mô mỡ (SVF), tế bào trung mô từ mô mỡ... đã được sử dụng. Gần đây, liệu pháp tế bào sử dụng tế bào gốc trung mô từ nhiều nguồn khác nhau cho điều trị viêm khớp được sử dụng phổ biến.

Tại Việt Nam, đề tài cấp Nhà nước về ứng dụng tế bào gốc trung mô tự thân từ mô mỡ điều trị thoái hóa khớp gối mã số ĐTĐL.2012-G/21, chủ nhiệm đề tài PGS. TS. Trần Việt Tiến. Đề tài đã hoàn thành quy trình phân lập, xử lý và bảo quản tế bào gốc từ mô mỡ tự thân; Quy trình sử dụng tế bào gốc mô mỡ tự thân trong điều trị bệnh thoái hóa khớp gối. Báo cáo hiệu quả và tính an toàn trên 42 bệnh nhân thoái hóa khớp gối điều trị bằng tế bào gốc mô mỡ tự thân và PRP (so sánh với nhóm chứng 42 bệnh nhân điều trị bằng tiêm Sodium hyaluronat vào khớp) cho thấy triệu chứng đau và chức năng vận động cải thiện như nhau ở hai nhóm; Độ dày sụn và chỉ số circurity có cải thiện rõ sau điều trị 6 và 12 tháng điều trị.

Tác giả Bùi Hồng Thiên Khanh và cộng sự đã báo cáo 21 trường hợp THK gối giai đoạn II và III được điều trị bằng cách sử dụng TBG từ mô mỡ tự thân. Thời gian theo dõi trung bình là 8,5 tháng (6-18 tháng), kết quả cho thấy chức năng khớp bước đầu được cải thiện, thể hiện qua thang điểm Lysoe trung bình từ  $61 \pm 11$  trước mổ, tăng lên  $82 \pm 8,1$  điểm sau mổ. Lớp sụn bị tổn thương dày lên. Không có các biến chứng liên quan đến thủ thuật như nhiễm trùng hay các biến chứng về thải ghép hay tạo khối u [65].

Mai Trọng Khoa và cộng sự điều trị 48 khớp gối thoái hóa giai đoạn II và III bằng tiêm vào khớp gối TBG trung mô lấy từ mô mỡ tự thân cùng dung dịch HA, thời gian đánh giá sau điều trị 6 tháng, điểm VAS trung bình giảm từ  $6,8 \pm 0,7$  xuống  $2,4 \pm 1,3$ , điểm WOMAC trung bình giảm từ  $45,1 \pm 7,8$  xuống  $13,1 \pm 10,1$ . Bề dày sụn khớp trung bình trên siêu âm tăng từ  $2,02 \pm 0,3$ mm lên  $2,3 \pm 0,4$ mm [66].

Có nhiều con đường phân phối tế bào gốc trung mô để điều trị bệnh. Với bệnh thoái hóa khớp, con đường hiệu quả nhất và được áp dụng chủ yếu là tiêm nội khớp. Liều lượng tế bào cho mỗi lần tiêm, số lần tiêm và thời gian

giữa các lần tiêm theo các báo cáo khác nhau là rất đa dạng. Về số lượng tế bào cho một lần tiêm, số lần tiêm và giai đoạn bệnh cho liệu pháp tế bào gốc và chiến lược phân phối hỗn hợp tế bào cần được nghiên cứu sâu và rộng hơn để đạt được đáp ứng tối ưu.

### **1.5. VẤN ĐỀ ĐẠO ĐỨC TRONG NGHIÊN CỨU Y SINH HỌC**

Đề tài thuộc nhiệm vụ nghiên cứu khoa học của bệnh viện đa khoa Tâm Anh và sở Khoa học công nghệ Hà Nội với tên: “Nghiên cứu ứng dụng tế bào gốc trung mô đồng loài từ mô dây rốn điều trị bệnh thoái hóa khớp gối”, có mã số 01C-08. Đây là một nghiên cứu lâm sàng có can thiệp, ứng dụng một kỹ thuật mới để điều trị bệnh thoái hóa khớp, nhằm chứng minh tính an toàn, hiệu quả của phương pháp. Nghiên cứu tuân thủ các quy định về đạo đức trong nghiên cứu y-sinh, đảm bảo không vi phạm các tiêu chuẩn đạo đức đã được Bộ y tế ban hành (phù hợp với các tiêu chuẩn của WHO), cụ thể là:

- Đề cương nghiên cứu được sự đồng ý của Hội đồng xét duyệt đề cương nghiên cứu và hội đồng đạo đức của bệnh viện đa khoa Tâm Anh và sở Khoa học Công nghệ thành phố Hà Nội.

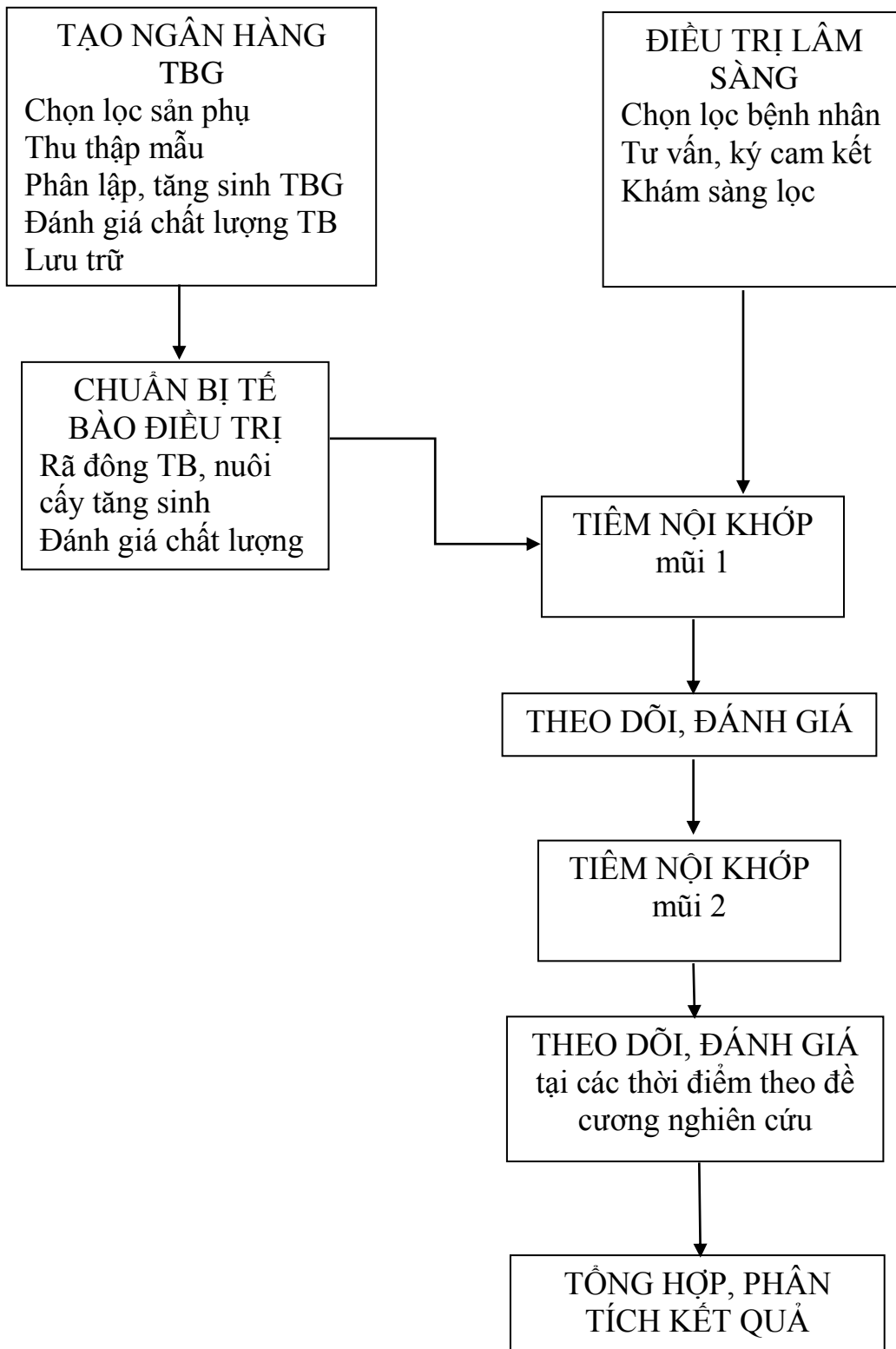
- Các phác đồ điều trị được tiến hành với sự cho phép của Bộ Y tế, sở Y tế, Bệnh viện đa khoa Tâm Anh và khoa Cơ xương khớp.

- Trước khi tiến hành thu thập thông tin cho nghiên cứu, các đối tượng nghiên cứu được thông báo về mục đích, quy trình nghiên cứu và ký Bản chấp nhận tham gia nghiên cứu, và chỉ tiến hành nghiên cứu đối với những người tự nguyện tham gia nghiên cứu; nghiên cứu không ảnh hưởng gì đến quyền lợi của người bệnh trong quá trình khám và chữa bệnh.

- Người bệnh có thể ngừng tham gia nghiên cứu vào bất cứ thời điểm nào.

- Các thông tin về bệnh và cá nhân đối tượng nghiên cứu được giữ bí mật.

### Sơ đồ nghiên cứu





## **Chương 2. ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU**

### **2.1. ĐỐI TƯỢNG VÀ VẬT LIỆU NGHIÊN CỨU**

#### **2.1.1. Đối tượng thu nhận mẫu hiến mô dây rốn**

Các sản phụ được tư vấn tham gia hiến mô dây rốn cho nghiên cứu (theo Phụ lục 1). Các sản phụ này được khám sàng lọc, để đảm bảo không bị mắc các bệnh lý di truyền. Sau đó, sản phụ sẽ được ký về việc xác nhận hiến mô cho nghiên cứu (theo phụ lục 2). Bên cạnh đó, mẫu mô được thu nhận cũng đi kèm một số tiêu chuẩn lựa chọn :

- Sản phụ không có bệnh lý kèm theo như bệnh di truyền, bệnh truyền nhiễm, không có tai biến sản khoa,
- Thai nhi trên 36 tuần, cân nặng trên 2600g.
- Dây rốn nguyên vẹn không dập nát, không có nghi ngờ nhiễm trùng.

#### **2.1.2. Đối tượng tham gia nghiên cứu điều trị thoái hoá khớp gối bằng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn**

##### *Tiêu chuẩn lựa chọn*

Bệnh nhân được chẩn đoán xác định bệnh thoái hóa khớp gối (một hoặc cả hai bên) theo tiêu chuẩn của Hội thập khớp học Hoa Kỳ (1991) [67].

- Đau khớp gối một hoặc hai bên.
- Có gai xương ở rìa khớp trên phim X quang khớp gối.
- Dịch khớp (nếu có): là dịch thoái hóa ( $<2000$  tế bào/ $1\text{ mm}^3$ )
- Tuổi  $\geq 38$
- Cứng khớp buổi sáng dưới 30 phút.
- Có tiếng lạo xạo khớp khi cử động.

Chẩn đoán xác định khi:

- Có các triệu chứng 1 và 2
- Hoặc có ít nhất 4 triệu chứng, trong đó triệu chứng 1,5,6 là bắt buộc.

*Tiêu chuẩn loại trừ:*

- Dị ứng với các thành phần của thuốc
- Nhiễm khuẩn tại khớp và/hoặc nhiễm khuẩn toàn thân.
- Bệnh lý nội khoa nặng: tăng huyết áp chưa điều trị, đái tháo đường chưa quản lý, suy tim, suy gan, suy thận, rối loạn đông

máu...

- Bệnh nhân đã hoặc đang dùng thuốc chống viêm không steroid trong vòng 7 ngày do có khả năng làm sai lệch kết quả nghiên cứu.
- Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu

### **2.1.3. Hoá chất, dụng cụ, vật tư tiêu hao**

Môi trường nuôi cấy không chứa bất kỳ thành phần nào có nguồn gốc động vật được cung cấp bởi hãng có uy tín, đảm bảo tiêu chuẩn dùng cho thử nghiệm trên người. Chai nuôi cấy được sử dụng là loại T – flask 75cm<sup>2</sup> CellBIND (Corning, Mỹ), các bộ kit sinh phẩm: Lonza MycoAlert™ PLUS Kit (Lonza, Thụy Sĩ), Human MSC Analysis Kit (ThermoFisher Scientific, Mỹ), DPBS (Gibco, ThermoFisher Scientific, Mỹ), TrypLE (Gibco, ThermoFisher Scientific, Mỹ),... các hoá chất và vật tư tiêu hao khác được cung cấp bởi các hãng đủ tiêu chuẩn phân tích.

### **2.1.4. Trang thiết bị nghiên cứu chính sử dụng trong nghiên cứu**

Trang thiết bị thiết yếu cho phòng thí nghiệm tế bào và các hệ thống phân tích hiện đại như: Tủ an toàn sinh học cấp II (ESCO), Tủ nuôi cấy tế bào (Thermo, Mỹ), Hệ thống phân tích tế bào theo dòng chảy Navios EX (Beckman Coulter, Mỹ), hệ thống phân tích hình ảnh huỳnh quang EVOS M5000 (Thermo, Mỹ), máy đọc đĩa đa năng Synergy HTX (Biotek, Mỹ), Kính hiển vi soi ngược Olympus kèm máy ảnh (Nikon, Nhật Bản), máy đếm tế bào tự động Countess II (Thermo, Mỹ), máy ly tâm Eppendorf (Thermo, Mỹ)... đặt trong phòng sạch ISO6 và ISO7.

- Trang thiết bị sử dụng cho xét nghiệm: hệ thống nuôi cấy tự động BACT/ALERT® 3D (Biomérieux - Pháp), máy xét nghiệm máu COBAS 6000 (Roche – Thụy Sĩ), máy phân tích huyết học XN-1000 R™ (Sysmex – Nhật Bản)

- Các trang thiết bị cho lâm sàng: Máy siêu âm, máy chụp X quang DR, máy chụp MRI 1.5T Siemens đời Sempra.

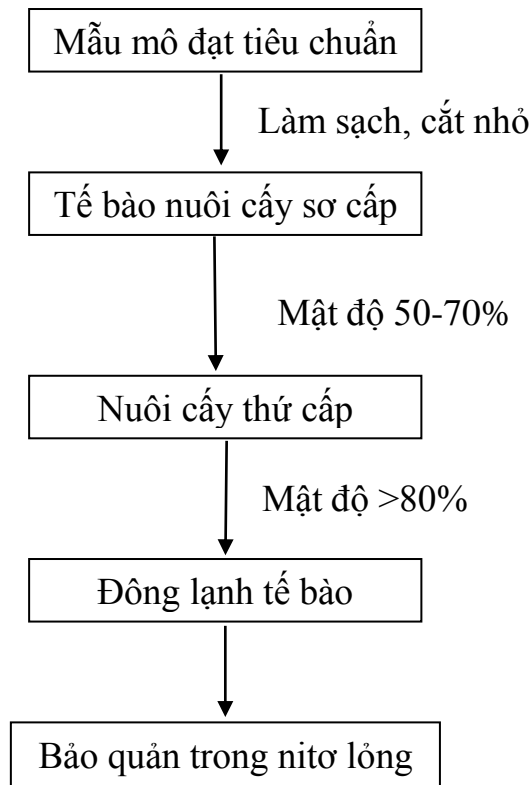
## **2.2. NỘI DUNG NGHIÊN CỨU**

### **2.2.1. Tuyển chọn sản phụ, thu nhận và sàng lọc mẫu mô dây rốn**

Các sản phụ tới khám tại bệnh viện đa khoa Tâm Anh, sẽ được nghe tư vấn hiến mô dây rốn cho nghiên cứu. Sau khi sản phụ đồng ý và ký cam kết hiến mẫu, các xét nghiệm sàng lọc sẽ được thực hiện tại thời điểm 7 ngày

trước hoặc sau khi sinh. Tại thời điểm sinh, chỉ những sản phụ không gặp bất kỳ tai biến sản khoa mới tiến hành thu mẫu mô. Các mẫu mô khi thu nhận cũng được tuyển chọn chặt chẽ, theo các tiêu chí của các tổ chức về tế bào gốc uy tín. Sau khi thu nhận, mẫu mô dây rốn được chuyển về Lab nơi tiến hành phân lập và xử lý tế bào.

### 2.2.2. Phân lập, nuôi cấy tăng sinh và bảo quản tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn



### 2.2.3. Đánh giá chất lượng và tiêu chuẩn hóa các mẫu tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn theo tiêu chuẩn áp dụng cho các mẫu tế bào gốc sử dụng cho cấy ghép trên người

Các tế bào trước khi bảo quản lạnh sâu trong ni tơ lỏng và sử dụng để điều trị cho bệnh nhân, được thực hiện các đánh giá chất lượng theo tiêu chuẩn của hiệp hội Trị liệu tế bào quốc tế, các tiêu chí này bao gồm:

- Định danh TBG trung mô, đếm số lượng, đánh giá tỷ lệ sống của tế bào sau khi phân lập, nuôi cấy tăng sinh và bảo quản đông lạnh tế bào.
- Đánh giá độ vô khuẩn, mycoplasma, nội độc tố và kiểm tra nhiễm sắc thể đồ.
- Đánh giá khả năng biệt hóa đa dòng của tế bào: khả năng biệt hóa tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn thành tế bào giống tế bào sụn, xương, mỡ.

### 2.2.4. Ứng dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn trong điều trị thoái hóa khớp gối và đánh giá bước đầu về độ an toàn

- Xây dựng quy trình tuyển chọn và điều trị thoái hóa khớp gối bằng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn (thông qua Hội đồng đạo đức ở cấp có thẩm quyền).
- Tiến hành điều trị bằng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn cho bệnh nhân thoái hóa khớp gối nhằm đánh giá tính an toàn của liệu pháp dựa trên TBG trung mô.

## 2.3. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

### 2.3.1. Tuyển chọn sản phụ, thu nhận và sàng lọc mẫu mô dây rốn

#### 2.3.1.1. Tiêu chí sàng lọc người hiến

Liệu pháp tế bào có khả năng lây truyền các bệnh truyền nhiễm cho người nhận. Tuổi, cách thức sinh và tình trạng sức khỏe của người hiến có thể ảnh hưởng đến chất lượng và chức năng của tế bào gốc từ mô dây rốn [68]. Do đó, cần phải thực hiện sàng lọc người hiến một cách nghiêm ngặt trước khi thu thập mẫu, bao gồm khai thác bệnh sử chi tiết, khám sức khỏe và xét nghiệm bệnh lây truyền qua đường máu. Đối với việc xác định các bệnh lây truyền qua đường máu, các virus được xét nghiệm bao gồm virus viêm gan B (HBV), virus viêm gan C (HCV), virus HIV, bệnh giang mai, cytomegalovirus (CMV) và Rubella được phát hiện bằng phương pháp ELISA hoặc phương pháp phát hiện axit nucleic tại thời điểm thu thập mẫu hoặc trong vòng 7 ngày trước khi thu thập.

**Bảng 2.1.** Danh mục các xét nghiệm dùng trong nghiên cứu

STT	Danh mục xét nghiệm	Tiêu chuẩn	Máy/ Phương pháp
1	CMV IgM miễn dịch tự động	Âm tính	Cobas 6000
2	HBc IgM miễn dịch tự động	Âm tính	Cobas 6000
3	HbsAg miễn dịch tự động	Âm tính	Cobas 6000

4	HCVAb miễn dịch tự động	Âm tính	Cobas 6000
5	HIVAg/Ab miễn dịch tự động	Âm tính	Cobas 6000
6	Rubella virus IgM miễn dịch tự động	Âm tính	Cobas 6000
7	Treponema pallidum TPHA định tính và định lượng xoắn khuẩn giang mai	Âm tính	Cobas 6000
8	Tổng phân tích tế bào máu ngoại vi bằng máy laser		Sysmex XN 1000
9	Định nhóm máu hệ ABO, Rh(D)		Scangel/Gelcard

### **2.3.1.1. Tiêu chí sàng lọc mô dây rốn**

Sau khi được sản phụ đồng ý hiến, ngay sau khi sinh con, kỹ thuật viên sẽ thu nhận một đoạn dây rốn tươi dài khoảng 15 cm và đặt vào 1 cốc chứa dung dịch bảo quản. Dung dịch bảo quản này gồm Lactate ringer vô trùng có bổ sung gentamicin (Fresenius Kabi, Đức). Mẫu sau thu thập ngay lập tức được chuyển đến phòng lab. Dây rốn chỉ được tuyển chọn với những điều kiện sau: Sản phụ không có bệnh lý kèm theo như bệnh di truyền, bệnh truyền nhiễm, không có tai biến sản khoa, thai nhi trên 36 tuần, cân nặng trên 2600g, dây rốn nguyên vẹn không dập nát, không có nghi ngờ nhiễm trùng. Tại phòng lab, tế bào gốc từ mô dây rốn được phân lập sơ cấp bằng phương pháp nuôi cấy mảnh mô [69].

### **2.3.2. Phân lập, nuôi cấy tăng sinh và bảo quản tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn**

Dây rốn sau khi được đưa về phòng lab, được rửa sạch bằng dung dịch đệm đẳng trương có bổ sung kháng sinh, sau đó loại bỏ động mạch, tĩnh mạch. Mô dây rốn sau đó được cắt thành mảnh rất nhỏ (kích thước 1mm x1mm x1mm) bằng dao phẫu thuật (Aesculap, Đức). Đặt mảnh mô vào chai nuôi cấy, bổ sung môi trường. Nuôi trong điều kiện 37°C, 5% CO<sub>2</sub>, độ ẩm bão hòa. Định kỳ bổ sung môi trường, khi quan sát thấy xuất hiện tế bào [70, 71]. Khi độ che phủ của tế bào đạt  $\geq 50\%$  bề mặt chai nuôi cấy, tế bào được cấy

chuyển sang giai đoạn thứ cấp sử dụng enzyme TrypLE theo hướng dẫn của nhà sản xuất để tách tế bào cho quá trình cấy chuyển. Tế bào gốc sau khi tăng sinh đủ số lượng, được thu lại theo quy trình thường quy và đựng trong cryotube, hạ lạnh nhiệt độ theo chu trình bằng hệ thống hạ lạnh tự động (Thermo Fisher Scientific, Mỹ) và lưu trữ đông trong nitơ lỏng. Mỗi ống tế bào chứa  $1 \times 10^6$  tế bào/ml.

Khi sử dụng cho trị liệu, tế bào được rã đông theo quy trình thường quy. Nuôi cấy tới đời cấy chuyển thứ 3 (P3), tế bào này sau đó được sử dụng để điều trị cho bệnh nhân và thực hiện các xét nghiệm đánh giá chất lượng.

### 2.3.3. Đánh giá chất lượng và tiêu chuẩn hóa các mẫu tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn theo tiêu chuẩn áp dụng cho các mẫu tế bào gốc sử dụng cho cấy ghép trên người

**Bảng 2.2.** Danh mục các xét nghiệm đánh giá chất lượng tế bào gốc

STT	Danh mục xét nghiệm	Tiêu chuẩn	Máy/ Phương pháp
1	Vi khuẩn nuôi cấy, định danh và kháng thuốc hệ thống tự động (dịch nuôi tế bào)	Không phát hiện	BacT/ ALERT 3D
2	Vi nấm nuôi cấy, định danh và kháng thuốc hệ thống tự động (dịch nuôi tế bào)	Không phát hiện	BacT/ ALERT 3D
3	Xác định tỷ lệ sống chết của tế bào MSCs	$\geq 80\%$	CountessII
4	Xét nghiệm nhiễm sắc thể tế bào MSCs (nhiễm sắc thể đồ)	Không có bất thường NST ảnh hưởng đến kiểu hình	G band
5	Xét nghiệm mycoplasma	Âm tính	Hóa phát quang Synergy HTX

6	Biệt hóa tế bào MSCs thành tế bào giống tế bào sụn	Có	
7	Biệt hóa tế bào MSCs thành tế bào giống tế bào xương	Có	
8	Biệt hóa tế bào MSCs thành tế bào giống tế bào mỡ	Có	
9	Hàm lượng endotoxin	< 5 EU/kg	Endosafe
10	Kiểm tra markers bề mặt tế bào MSCs	$\geq 95\%$ CD73 <sup>+</sup> , CD90 <sup>+</sup> , CD105 <sup>+</sup> $\leq 2\%$ CD44 <sup>+</sup> , CD11b <sup>+</sup> , CD19 <sup>+</sup> , CD34 <sup>+</sup> , CD45 <sup>+</sup>	Navios EX

### 2.3.3.1. Định danh tế bào gốc

*Xác định dấu ấn (marker) bề mặt:*

Sử dụng các marker theo tiêu chuẩn tối thiểu của ISCT [41]: Dương tính với CD105, CD73, CD90  $\geq 95\%$ , các marker CD14 hoặc CD11b, CD34, CD45, CD79a hoặc CD19, HLA-DR dương tính  $\leq 2\%$  [72]. Tế bào được thu hoạch và huyền phù trong FBS, sau đó được nhuộm bằng các kháng thể đơn dòng bằng fluroisothiocyanate (FITC) hoặc phycoerythrin (PE) : CD34, CD11b, CD45, CD19, CD73, CD105, CD90 và HLA-DR (BD, Hoa Kỳ). Sau khi ủ trong tối trong 30 phút ở nhiệt độ phòng, tế bào được rửa ba lần bằng FBS và phân tích trên máy flow cytometry Navios EX, phân tích dữ liệu bằng phần mềm Kaluza được cung cấp kèm theo. Biểu hiện marker bề mặt được đánh giá tại đời cấy chuyên tương đương với thời điểm sử dụng tế bào cho trị liệu (P3).

*Xác định khả năng biệt hóa thành tế bào giống tế bào xương, mỡ, sụn sử dụng kit StemPro™ Osteogenesis Differentiation, StemPro® Adipogenesis Differentiation, và StemPro™ Chondrogenesis Differentiation (Gibco, Mỹ):*

Tế bào được thu hoạch ở P3 theo quy trình thu hoạch tế bào, cấy chuyển sang đĩa 24 giếng. Sau 24 giờ, tế bào bám dính vào bề mặt, tiến hành thay môi trường biệt hoá tương ứng và tiếp tục nuôi theo hướng dẫn của bộ kit từ 14-18 ngày. Tế bào biệt hoá được nhuộm với Alizarin Red, Oil Red O, và Alican Blue. Các loại thuốc nhuộm này được cung cấp cùng bộ kit. Hình ảnh được quan sát dưới kính hiển vi điện tử EVOS M5000 (Thermo, Mỹ)

### **2.3.3.2. Kiểm tra độ nhiễm vi khuẩn và nấm**

Phát hiện ngoại nhiễm vi khuẩn, vi nấm được thực hiện dựa trên xét nghiệm vi khuẩn vi nấm nuôi cấy định danh và kháng thuốc trên hệ thống tự động theo khuyến cáo của Bộ Y tế. Dịch nuôi tế bào được nuôi cấy vào hai loại môi trường lỏng khác nhau BacT/ALERT® FA Plus và BacT/ALERT® FN Plus (BioMérieux, Pháp) trên hệ thống nuôi cấy tự động BACT/ALERT® 3D (BioMérieux, Pháp) trong thời gian 14 ngày. Hệ thống cấy tự động đánh giá sự thay đổi nồng độ CO<sub>2</sub> và N<sub>2</sub> cũng như độ đục trong chai cấy mỗi 15 phút. Khi hệ thống báo dương tính hoặc âm tính, các chai được đánh giá độ đục bằng mắt thường và nhuộm Gram để phát hiện sự hiện diện của tế bào vi khuẩn, vi nấm sau nuôi cấy trên hệ thống. Trong trường hợp hệ thống báo dương tính hoặc phát hiện tế bào vi khuẩn, vi nấm bằng nhuộm Gram, môi trường lỏng được chuyển sang môi trường đặc gồm Thạch máu (Blood Agar Base + 5% Sheep Blood), thạch Chocolate, MacConkey, Chapman, Sabouraud (MELAB, Việt Nam) để phát hiện sự hiện diện của khuẩn lạc vi khuẩn, vi nấm trong thời gian 2 ngày. Khi có khuẩn lạc vi khuẩn vi nấm trên môi trường đặc được định danh và thử nghiệm nhạy kháng sinh bằng hệ thống tự động VITEK 2 (BioMérieux, Pháp).

Xét nghiệm vô khuẩn được làm tại đời tế bào cất đông và đời tế bào cấy chuyển dùng để ghép cho bệnh nhân. Bổ sung 10 mL dịch nuôi cấy vào mỗi chai môi trường lỏng : BacT/ALERT® FA Plus và BacT/ALERT® FN Plus (BioMérieux, Pháp) bằng ống tiêm vô trùng và ủ ở 37°C trong 14 ngày.

**2.3.3.3. Xác định nội độc tố endotoxin:** bằng phương pháp end-point theo bộ kit của Endosafe® Nexgen-PTS (Charles River, Mỹ). Dịch nuôi tế bào được ly tâm thu dịch nổi, pha loãng với nước không chứa endotoxin theo hướng dẫn của kit. Xét nghiệm được thực hiện tại đời tế bào sử dụng cho trị liệu.



**2.3.3.4. Xác định mycoplasma:** sử dụng kit MycoAlert™ PLUS (Lonza, Thụy sĩ) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. Tóm tắt: Thủy phân mycoplasma, giải phóng enzyme đặc hiệu cho mycoplasma, bổ sung cơ chất, dưới tác dụng của enzyme sẽ chuyển ADP thành ATP và được phát hiện trên máy đo mật độ quang. Xét nghiệm mycoplasma được làm tại đời tế bào cất đông và tế bào dùng để ghép cho bệnh nhân.

**2.3.3.4. Xác định nhiễm sắc thể đồ (karyotyping)** được thực hiện theo phương pháp thường quy và sử dụng phần mềm DRAWID. Tế bào được nuôi cấy và làm ngừng phân bào tại pha metaphase bằng colchicin. Sau đó, nhuộm với thuốc nhuộm Giemsa và trải tế bào trên lam kính. Quan sát và chụp hình nhiễm sắc thể (NST), sắp xếp các bộ NST sử dụng phần mềm DRAWID để so sánh và kiểm tra đột biến (nếu có). Tế bào được xét nghiệm karyotype sau khi rửa đông và cấy chuyển tới đời P5.

#### **2.3.4. Xác định thời gian bảo quản tối ưu cho sản phẩm tế bào sau khi thu hoạch**

Tế bào sau khi thu hoạch, được pha với NaCl 0.9% (B Braun, Đức) với nồng độ  $8 \times 10^6$  tế bào/mL. Phần tế bào này, được chia thành 2 phần, bảo quản tại 2 nhiệt độ khác nhau: nhiệt độ phòng (22°C) và 4°C.

Sau mỗi 60p, đếm tế bào để xác định mức độ sống/chết bằng máy đếm tế bào chuyên dụng Countess II FL.

Kết quả được xử lý bằng phần mềm xử lý số liệu SPSS.

#### **2.3.5. Ứng dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn trong điều trị thoái hóa khớp gối và đánh giá bước đầu về độ an toàn**

Các bệnh nhân được lựa chọn theo tiêu chuẩn ở mục 2.1.1, bệnh nhân được lập hồ sơ bệnh án tham gia nghiên cứu và được điều trị theo phác đồ đã được hội đồng Đạo đức thông qua.

##### **2.3.5.1. Chuẩn bị tế bào gốc trước tiêm**

- Trước khi tiêm 10 -12 ngày, tế bào gốc lưu trữ được rửa đông (P1), sau đó được nuôi cấy đến khi đủ số lượng tế bào cho trị liệu.
- Khi thu hoạch tế bào, tiến hành đánh giá chất lượng tế bào theo nội dung 2.3.3 ở trên.

##### **2.3.5.2. Cách thức tiến hành tiêm tế bào gốc vào khớp gối**

- Tiêm 2 mũi, mỗi mũi cách nhau 1 tháng ( $\pm$  1 tuần), mỗi lần tiêm 2.5ml dịch chứa tế bào, số lượng tế bào đạt 20 triệu tế bào/khớp gối/lần tiêm.

- Vị trí tiêm: dưới ngoài khớp gối, theo hướng dẫn của siêu âm
- Quy trình tiêm và theo dõi bệnh nhân sau tiêm được thực hiện bởi bác sĩ chuyên khoa Cơ xương khớp, bệnh viện đa khoa Tâm Anh.

**2.3.5.3. Đánh giá độ an toàn và bước đầu hiệu quả của liệu pháp điều trị thoái hoá khớp bằng tế bào gốc trung mô**

- Thời điểm đánh giá:
  - T0: trước khi tiêm lần đầu tiên.
  - T4: Sau 4 tuần điều trị
  - T8: Sau 8 tuần điều trị.
  - T12: Sau 12 tuần điều trị.
  - T24: Sau 24 tuần điều trị.
- Các chỉ tiêu đánh giá độ an toàn:
  - TPT máu 24 chỉ số.
  - Máu lắng, CRP.
  - Chức năng thận: ure, creatinine
  - Chỉ số về chuyển hóa
  - Chức năng gan: GOT, GPT, GGT
- Độ hài lòng và cải thiện chất lượng cuộc sống của bệnh nhân: đánh giá trên thang điểm VAS, Lequesne và Kanofski (xem phụ lục 3, 4, 5)

Mức độ cải thiện và các chỉ tiêu đánh giá độ an toàn cũng như hình ảnh siêu âm và MRI khớp, được đánh giá bởi các bác sĩ lâm sàng khoa cơ xương khớp và khoa chẩn đoán hình ảnh, bệnh viện đa khoa Tâm Anh.

### Chương 3 : KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

#### 3.1. TUYỂN CHỌN SẢN PHỤ, THỰC HIỆN SÀNG LỌC VÀ THU NHẬN MẪU MÔ DÂY RÓN

Sau khi vận động từ các sản phụ tới thăm khám tại bệnh viện đa khoa Tâm Anh, kết quả sau sàng lọc sơ bộ đã vận động được 07 sản phụ đồng ý hiến dây rốn cho nghiên cứu và ký cam kết tình nguyện hiến mẫu mô dây rốn sau khi sinh con. Chi tiết trong bảng 3.1.

**Bảng 3.1.** Danh sách các sản phụ hiến mẫu mô dây rốn

STT	Họ và tên	Mã mẫu	PID
1	Phạm Thị Hạnh N	UCT21001	21xxxx32
2	Đỗ Thị H	UCT21002	19xxxx39
3	Lê Thu P	UCT21003	21xxxx79
4	Nguyễn Thị D	UCT21004	21xxxx97
5	Nguyễn Thuỳ D	UCT21005	18xxxx56
6	Bùi Thị H	UCT21006	18xxxx69
7	Trịnh Thị Q	UCT23001	20xxxx81

Để thực hiện việc bảo mật thông tin của cá nhân tham gia vào nghiên cứu, các sản phụ được mã hoá tên theo các chữ cái đầu tiên, mã mẫu là số thứ tự thu thập mẫu, PID là mã số của bệnh nhân khi nhập viện tại Bệnh viện đa khoa Tâm Anh.

Thực hiện xét nghiệm miễn dịch để sàng lọc đối với các sản phụ hiến mẫu, kết quả được ghi nhận trong bảng 3.2. Tất cả các xét nghiệm đều được thực hiện tại thời điểm 3-5 ngày trước khi sinh.

**Bảng 3.2.** Kết quả xét nghiệm sàng lọc của các sản phụ

Tên xét nghiệm	Sản phụ 1	Sản phụ 2	Sản phụ 3	Sản phụ 4	Sản phụ 5	Sản phụ 6	Sản phụ 7
CMV IgM miễn dịch tự động	Âm tính	Âm tính	Âm tính	<b>Dương tính</b>	Âm tính	Âm tính	Âm tính
HBc IgM miễn dịch tự động	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
HbsAg miễn dịch tự động	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
HCVAb miễn dịch tự động	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
HIVAg/Ab miễn dịch tự động	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
Rubella virus IgM miễn dịch tự động	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính
<i>Treponema pallidum</i> TPHA định tính và định lượng xoắn khuẩn giang mai	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính

Theo kết quả xét nghiệm sàng lọc, có 6/7 sản phụ tham gia vào nghiên cứu có đủ điều kiện hiến mẫu cho ngân hàng tế bào gốc. Sản phụ không đủ tiêu chuẩn do kết quả xét nghiệm CMV IgM dương tính. Tại thời điểm sinh con, mẫu mô dây rốn được thu nhận, bảng 3.3 thể hiện kết quả của mẫu mô

dây rốn sau khi thu nhận :

**Bảng 3.3.** Đặc điểm các mẫu mô dây rốn

STT mẫu	Tuổi mẹ tại thời điểm sinh con (tuổi)	Tuổi thai tại thời điểm sinh (tuần tuổi)	Cân nặng thai nhi (gam)	Giới tính thai nhi	Hình thức sinh	Thời gian từ khi vỡ ối tới khi sinh (h)
UCT21001	31	40	3300	Nam	Mổ	x
UCT21002	31	37	3000	Nữ	Thường	3
UCT21003	31	39	3200	Nam	Mổ	x
UCT21005	32	38	3000	Nam	Mổ	x
UCT21006	28	39	3700	Nữ	Mổ	x
UCT23001	27	37	2600	Nam	Thường	2

Cả 6 sản phụ trong quá trình sinh đều không ghi nhận các sự cố hay tai biến sản khoa. Các mẫu mô được thu nhận đều đạt tiêu chuẩn ngoại quan, không có dấu hiệu dập nát, không có dấu hiệu nghi ngờ nhiễm khuẩn, đạt tiêu chuẩn để đưa vào xử lý.

Tiêu chuẩn của tổ chức AABB (Hiệp hội vì sự tiến bộ của Y học truyền máu và Liệu pháp sinh học) tiền thân là Hiệp hội các Ngân hàng máu Hoa Kỳ quy định việc xét nghiệm tầm soát các bệnh lây truyền qua đường máu bao gồm HIV, HCV, HBV, CMV, Rubella, và giang mai. Các xét nghiệm này thực hiện trước hoặc sau khi sinh 7 ngày [73]. Các bệnh lây truyền qua đường máu có thể truyền từ mẹ sang con trong quá trình mang thai hoặc trong quá trình sinh nở, khiến cho sản phẩm thu thập cũng sẽ mang virus, điều này ảnh hưởng tới việc sử dụng sản phẩm cho điều trị sau này.

Hội đồng Châu Âu cũng ban hành chỉ thị về việc quy định các tiêu chuẩn cho hiến tặng các mô và tế bào người dùng cho ứng dụng trên người. Theo đó, ngoài những bệnh lây truyền qua đường máu, còn có đề cập tới một

số bệnh di truyền khác, như HTLV, Creutzfeldt-Jakov (bệnh não xốp), *Trypanosoma cruzi*,... Tuy nhiên, chỉ thị này cũng nêu rõ, với những bệnh như HTLV, Creutzfeldt-Jakov,... mà người hiến tặng sống ở những khu vực có tỉ lệ mắc thấp thì chỉ cần thực hiện sàng lọc qua bảng hỏi (theo phụ lục 1) mà không nhất thiết phải làm xét nghiệm.

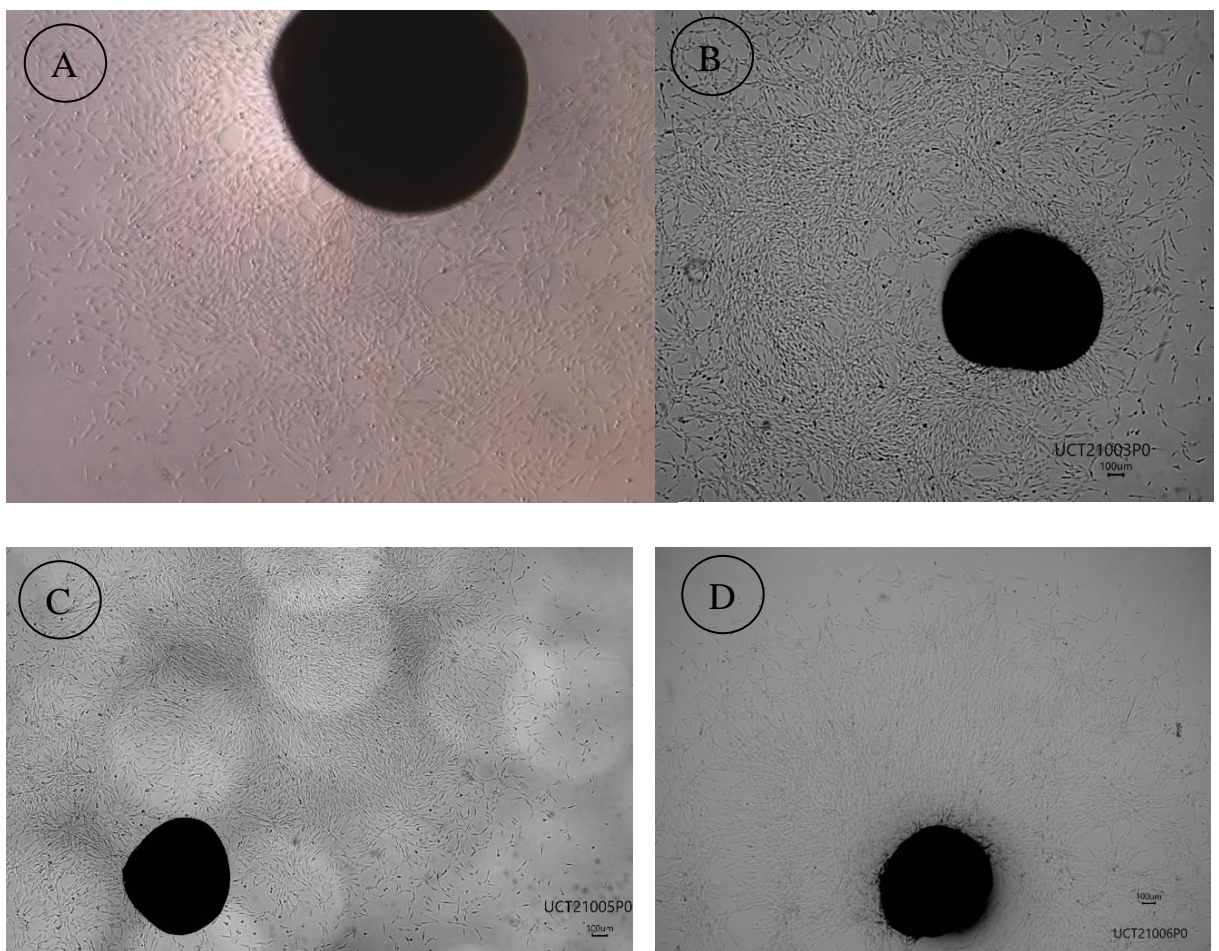
Về các phương pháp để xét nghiệm virus, tổ chức châu Âu nêu rõ các xét nghiệm tối thiểu để sàng lọc bệnh lây truyền qua đường máu bao gồm HIV 1&2 (xét nghiệm kháng nguyên Anti-HIV-1,2), viêm gan B ( HbsAg, Anti HBc), Viêm gan C (anti-HCV-Ab), giang mai (có thể thực hiện bằng phương pháp đặc hiệu hoặc không đặc hiệu), cũng tùy theo khu vực sinh sống của người hiến mà có thể thực hiện thêm các xét nghiệm khác như RhD, HLA, sốt rét, toxoplasma, EBV, *Trypanosoma cruzi* [74]. Đối với CMV, theo thống kê tại các nước đang phát triển trong đó có Việt Nam, tỷ lệ nhiễm CMV lên tới 90%, nên chúng tôi chỉ thực hiện xét nghiệm kháng nguyên CMV IgM, để xác định tại thời điểm mang thai, sản phụ có nhiễm CMV hay không. Việc tuân thủ nghiêm ngặt các quy định của các tổ chức uy tín như AABB hay Nghị viện châu Âu cũng là một cách để nâng cao hiệu quả cho việc sàng lọc và lưu trữ tế bào gốc, phù hợp với tiêu chuẩn quốc tế, và là tiền đề cho việc sử dụng có hiệu quả tế bào gốc trong trị liệu. Trong khuôn khổ đề tài, cần nhắc các điều kiện liên quan tới chi phí, cũng như thời gian thực hiện xét nghiệm, các phương pháp xét nghiệm được đề xuất như bảng 2.1. Các xét nghiệm được thực hiện tại khoa Xét nghiệm, bệnh viện đa khoa Tâm Anh.

### **3.2. PHÂN LẬP, NUÔI CẤY TĂNG SINH TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ DÂY RÓN**

#### **3.2.1. Phân lập và nuôi cấy tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn**

Sau quá trình thu nhận, 6 mẫu dây rốn đạt tiêu chuẩn ngoại quan được sử dụng cho nghiên cứu. Các mẫu dây rốn này sau khi thu nhận từ ca sinh, được chuyển ngay về Lab của Trung tâm Tế bào gốc để tiến hành xử lý, phân lập và nuôi cấy. Các mẫu dây rốn được rửa sạch, loại bỏ động mạch và tĩnh mạch, sau đó được cắt nhỏ thành các mảnh mô có kích thước 1x1x1 (mm) bằng dao phẫu thuật. Sau khi được chia nhỏ, mảnh mô được đưa vào các chai nuôi cấy (số lượng từ 60-70 mảnh mô/chai nuôi cấy 75cm<sup>2</sup>). Chai nuôi cấy được sử dụng là loại đã xử lý bề mặt, phù hợp với nuôi cấy tế bào bám dính mà không cần coating. Bổ sung môi trường nuôi cấy chọn lọc dành cho tế bào

gốc trung mô. Chai nuôi cấy được đưa vào tủ nuôi đã cài đặt ở nhiệt độ thích hợp (37 °C, 5% CO<sub>2</sub>, độ ẩm bão hòa). Trong quá trình nuôi, các tế bào sẽ kết dính trên bề mặt đĩa nuôi cấy, tiến hành quan sát sau 7 ngày nuôi, đã thấy có sự xuất hiện của các tế bào di cư tại rìa các mảnh mô. Môi trường nuôi cấy ban đầu được thay sau khoảng 7-10 ngày nuôi cấy, tùy thuộc vào tốc độ mọc nhanh hay chậm của tế bào. Quần thể tế bào gốc thu được từ mẫu mô dây rốn có khả năng bám dính vào bề mặt chai nuôi cấy, có hình dạng thuôn dài gần giống với hình dạng của nguyên bào sợi. Đây là hình dạng đặc trưng của tế bào gốc trung mô.



**Hình 3.1:** Phân lập nuôi cấy TBGTM từ mô dây rốn sau 10 ngày nuôi cấy- 4x  
(A: Loạt UCT21001 , B: Loạt UCT21003,  
C: Loạt UCT21005, D: Loạt UCT21006)

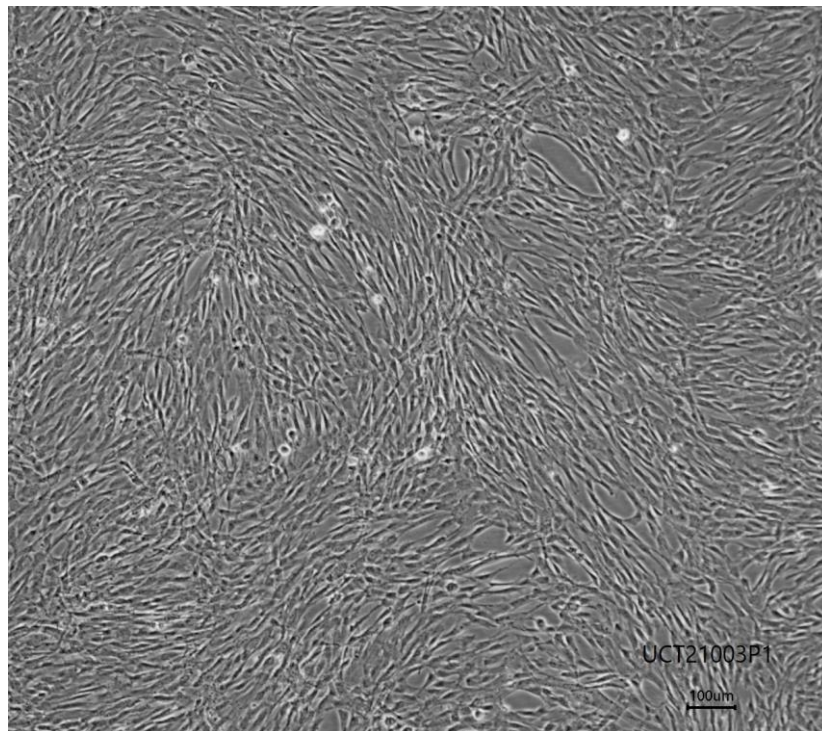
Kết quả sau khi phân lập, các mảnh mô đã có tế bào di cư ra khỏi mảnh mô. Với các mảnh mô khác nhau trong cùng một chai nuôi cấy, sự phát triển của tế bào tại mỗi mảnh mô là không giống nhau: đa số các mảnh mô, tế bào



di cư ra khá nhanh (sau từ 5-7 ngày nuôi cấy), có những mảnh mô tế bào di cư ra chậm hơn, thậm chí, có những mảnh mô không có tế bào “bò ra”.

### 3.2.2. Nuôi cấy tăng sinh tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn

Sau 12-14 ngày nuôi cấy sơ cấp, tế bào trong chai nuôi cấy trải đều trên bề mặt, mật độ đạt từ 50-70% là thời điểm thích hợp cho việc đợt cấy chuyển sơ cấp sang thứ cấp (từ P0 sang P1). Các tế bào này được chuyển sang chai nuôi cấy mới bằng cách sử dụng enzyme TrypLE – một loại enzyme tái tổ hợp được sản xuất từ hệ thống biểu hiện của vi khuẩn, không có nguy cơ lây nhiễm vi rút ở động vật hoặc người, để tách tế bào ra khỏi bề mặt chai nuôi. Các tế bào sau đó được nuôi trong môi trường nuôi cấy mới, đều đặn thay môi trường sau mỗi 3 ngày nuôi cấy cho tới khi tế bào phát triển phủ kín bề mặt chai, các tế bào này chính là tế bào ở thế hệ thứ nhất (passage –P1). Các tế bào ở giai đoạn này vẫn giữ được hình dạng đặc trưng. Sau đó, các tế bào được tách ra và lưu trữ đông lạnh. Tất cả các môi trường dùng cho nuôi cấy, cũng như đông lạnh tế bào đều không có nguồn gốc từ động vật, không có huyết thanh, và có đầy đủ chứng nhận để sử dụng trên lâm sàng. Đây chính là các tế bào sử dụng cho trị liệu tế bào sau này.



**Hình 3.2:** Tế bào gốc trung mô ở giai đoạn nuôi cấy thứ cấp thế hệ P1, sau 5 ngày passage – 10X

Trong quá trình nuôi cấy tăng sinh, mẫu UCT21002, ghi nhận trường



hợp nhiễm khuẩn mà không cần tới việc nuôi cấy trên môi trường giàu dinh dưỡng nên mẫu được huỷ, không tiến hành các đánh giá xa hơn với mẫu này. Với trường hợp này, mẫu mô hiến được thu nhận trong quá trình sản phụ sinh thường, trong phòng sinh không vô khuẩn, đây có thể là nguyên nhân dẫn tới mẫu mô bị nhiễm.

Trong thực tế, MSC có thể được phân lập thành công từ rất nhiều phương pháp, tuy nhiên việc lựa chọn phương pháp có thể ảnh hưởng đáng kể đến số lượng và chất lượng tế bào phân lập. Một trong những kỹ thuật đầu tiên được thực hiện trong phòng thí nghiệm để nuôi cấy *in vitro* tế bào gốc là phương pháp nuôi cấy mảnh mô. Phương pháp này được thực hiện dựa trên nguyên lý giảm kích thước mô đủ nhỏ để khí và chất dinh dưỡng khuếch tán trong mảnh mô một cách tự do. Sự thành công của phương pháp phân lập này phụ thuộc chủ yếu vào tính di động của tế bào [75]. Một phương pháp khác cũng thường được sử dụng trong phân lập tế bào gốc là dùng enzyme có khả năng phá vỡ cấu trúc của mô, giải phóng tế bào cần phân lập. Enzyme collagenase thương mại từ *Clostridium histolyticum* là một loại enzyme phổ biến thường được sử dụng trong phân lập tế bào gốc theo cách này [75]. Nguyên tắc trong xử lý với enzyme là giữ cho thời gian ngắn nhất có thể bởi thời gian xử lý mô bằng enzyme là một yếu tố cực kỳ quan trọng, nó có thể phá hủy chất nền ngoại bào và màng tế bào, ngăn ngừa không cho tế bào dính vào bề mặt nuôi cấy khi phân lập [75]. Nghiên cứu của Salehinejad và cộng sự khi phân lập MSC từ chất nền Wharton của mô dây rốn cho thấy MSC thu nhận được từ WJ-MSCs bằng phương pháp nuôi cấy mảnh mô so với phương pháp sử dụng 2 enzyme collagenase và trypsin có tính đồng nhất về hình thái tế bào cao hơn. Cũng theo nghiên cứu này, mất khoảng 4 tuần kể từ khi bắt đầu nuôi cấy sơ cấp đến lần cấy chuyển đầu tiên của quy trình nuôi cấy mô, và thời gian này nhóm sử dụng enzyme là 10 ngày. Thời gian nuôi cấy cho các tế bào sơ cấp, của phương pháp sử dụng enzyme collagenase/trypsin ngắn hơn do đó kết quả thu được số lượng tế bào lớn hơn trong thời gian ngắn. Do vậy, phương pháp sử dụng enzyme là phương pháp được sử dụng phổ biến hơn cả trong tất cả các phương pháp. Tuy nhiên bên cạnh đó, việc xử lý mô với enzyme như collagenase, trypsin, hyaluronidase có thể phá hủy chất nền ngoại bào, màng tế bào dẫn đến làm giảm sức sống và khả năng tăng sinh của tế bào [75]. Trong một số nghiên cứu khác, các tác giả cũng chỉ ra rằng, mặc

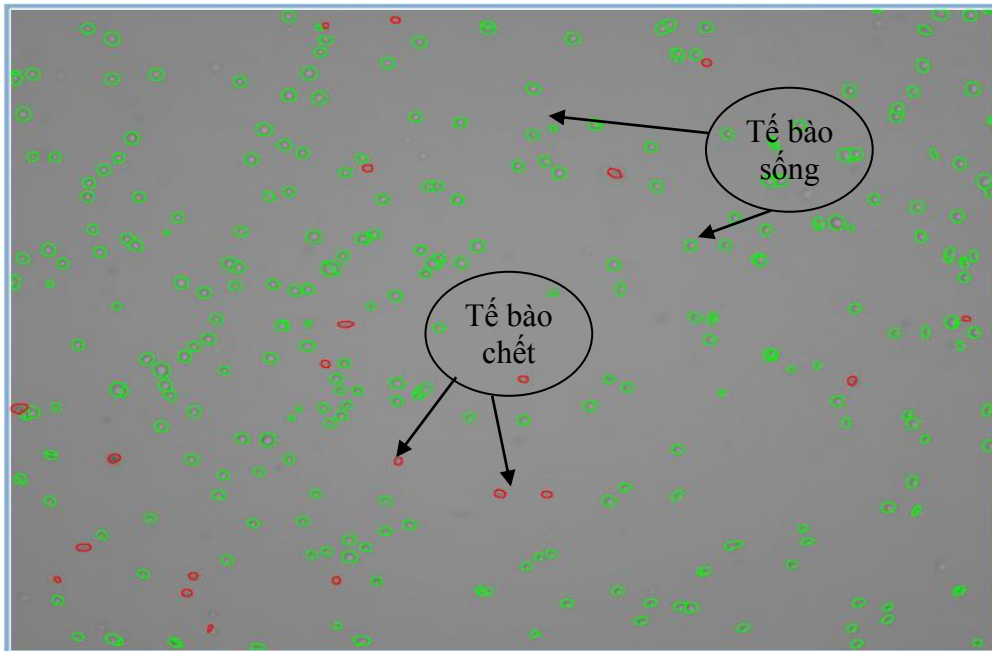
dù việc phân lập tế bào gốc trung mô bằng enzyme là nhanh nhất, tuy nhiên việc thực hiện phân lập tế bào gốc bằng mảnh mô lại có những ưu điểm hơn như dễ thực hiện, thao tác đơn giản, cho kết quả tinh sạch cao hơn. Do vẫn chưa có quy trình chuẩn và thuần nhất dành cho việc phân lập các tế bào gốc trung mô từ chất nền Wharton của mô dây rốn [75], trong nghiên cứu này, phương pháp phân lập tế bào gốc sử dụng là nuôi cấy mảnh mô nhằm thu được quần thể đồng nhất hơn. Kết quả nuôi cấy cho thấy sự vượt trội so với cùng phương pháp của nghiên cứu trước, cụ thể, sử dụng phương pháp nuôi cấy mảnh mô, tổng thời gian nuôi cấy sơ cấp và thứ cấp chỉ là 20 ngày.

### **3.3. ĐÁNH GIÁ CHẤT LƯỢNG TẾ BÀO**

Tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn sau khi được phân lập, nuôi cấy sẽ được đông lạnh, lưu trữ trong nitơ lỏng, ở nhiệt độ  $-196^{\circ}\text{C}$ . Khi điều trị, tế bào sẽ được rã đông, nuôi cấy và sử dụng cho bệnh nhân ở đời cấy chuyển P3. Chất lượng của TBG sau khi phân lập, nuôi cấy và bảo quản, có ý nghĩa quan trọng trong việc trị liệu tế bào. Mẫu tế bào trước khi truyền cho bệnh nhân, được kiểm tra qua các tiêu chí: Tỷ lệ sống chết, dấu ấn miễn dịch (định danh MSCs), nhiễm sắc thể đồ, nội độc tố, mycoplasma, và kiểm tra vô khuẩn (vi khuẩn, vi nấm).

#### **3.3.1. Đánh giá tỷ lệ sống chết của tế bào**

Việc kiểm tra sống chết của tế bào được thực hiện bằng phương pháp nhuộm với thuốc nhuộm là trypan blue, đọc kết quả bằng máy đếm chuyên dụng Countess II FL. Trên màn hình máy đếm tế bào Countess, kết quả hiển thị tế bào được khoanh màu xanh là các tế bào sống, màu đỏ là các tế bào chết. Việc đánh giá tỷ lệ sống chết của tế bào gốc được thực hiện tại 2 thời điểm, khi thu hoạch tế bào để đưa vào lưu trữ và sau khi rã đông để nuôi cấy tăng sinh dùng cho trị liệu.



**Hình 3.3:** Kết quả kiểm tra tỷ lệ sống chết của tế bào

**Bảng 3.4:** Kết quả kiểm tra sống chết của tế bào trước khi đưa vào lưu trữ

Loại	Tổng số lượng tế bào	Tỷ lệ sống
UCT21001	$97 \times 10^6$	93%
UCT21003	$107 \times 10^6$	95%
UCT21005	$112 \times 10^6$	96%
UCT21006	$122 \times 10^6$	97%
UCT23001	$216 \times 10^6$	96%

Sau quá trình nuôi cấy tăng sinh, từ 5 mẫu mô hiển đạt tiêu chuẩn thu được được tổng cộng 650 ống tế bào, mỗi ống chứa khoảng 1 triệu tế bào. Các mẫu đã lưu trữ trong nitơ lỏng sẽ được rã đông sử dụng cho đánh giá chất lượng và trị liệu tế bào trong các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.3.2. Đánh giá kiểu hình miễn dịch của tế bào gốc trung mô

Trong nghiên cứu này, việc đánh giá kiểu hình miễn dịch của tế bào gốc trung mô được thực hiện tại thời điểm cất đông và khi rã đông sử dụng cho trị liệu tế bào bằng hệ thống flow cytometry của Beckman Coulter. Các panel chạy được thiết kế theo tiêu chuẩn của Hiệp hội liệu pháp tế bào quốc tế với các marker CD73, CD90, CD105, CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR. Tế bào với mật độ khoảng  $10 \times 10^6$  (TB/mL) được ủ với kháng thể đặc

hiệu với từng marker có gắn chất huỳnh quang theo hướng dẫn của kit sau đó được phân tích trên hệ thống flow cytometry Navios EX của Beckman Coulter. Kết quả được phân tích bằng phần mềm Kaluza kèm theo.

Kết quả cho thấy, sự biểu hiện của tế bào gốc trung mô, dương tính cao trên 97% với các marker CD73, CD105, CD90, và âm tính (dưới 2%) với các marker CD34, CD11b, CD19, CD45 và HLA – DR. Kết quả được đo trên các mẫu tại thời điểm cất đông (bảng 3.5) và tại thời điểm sử dụng cho trị liệu (bảng 3.6).

**Bảng 3.5:** Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch của TBG tại thời điểm cất đông

Chỉ tiêu đánh giá		UCT21001	UCT21003	UCT21005	UCT21006	UCT23001
Chỉ thị bề mặt	CD90	99,9%	99,7%	99,6%	99,7%	99,8%
	CD73	99,8%	99,7%	99,4%	99,4%	99,6%
	CD105	99,5%	99,8%	99,5%	99,7%	99,7%
	CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA- DR	0,1%	0,01%	0,1%	0,04%	0,03%

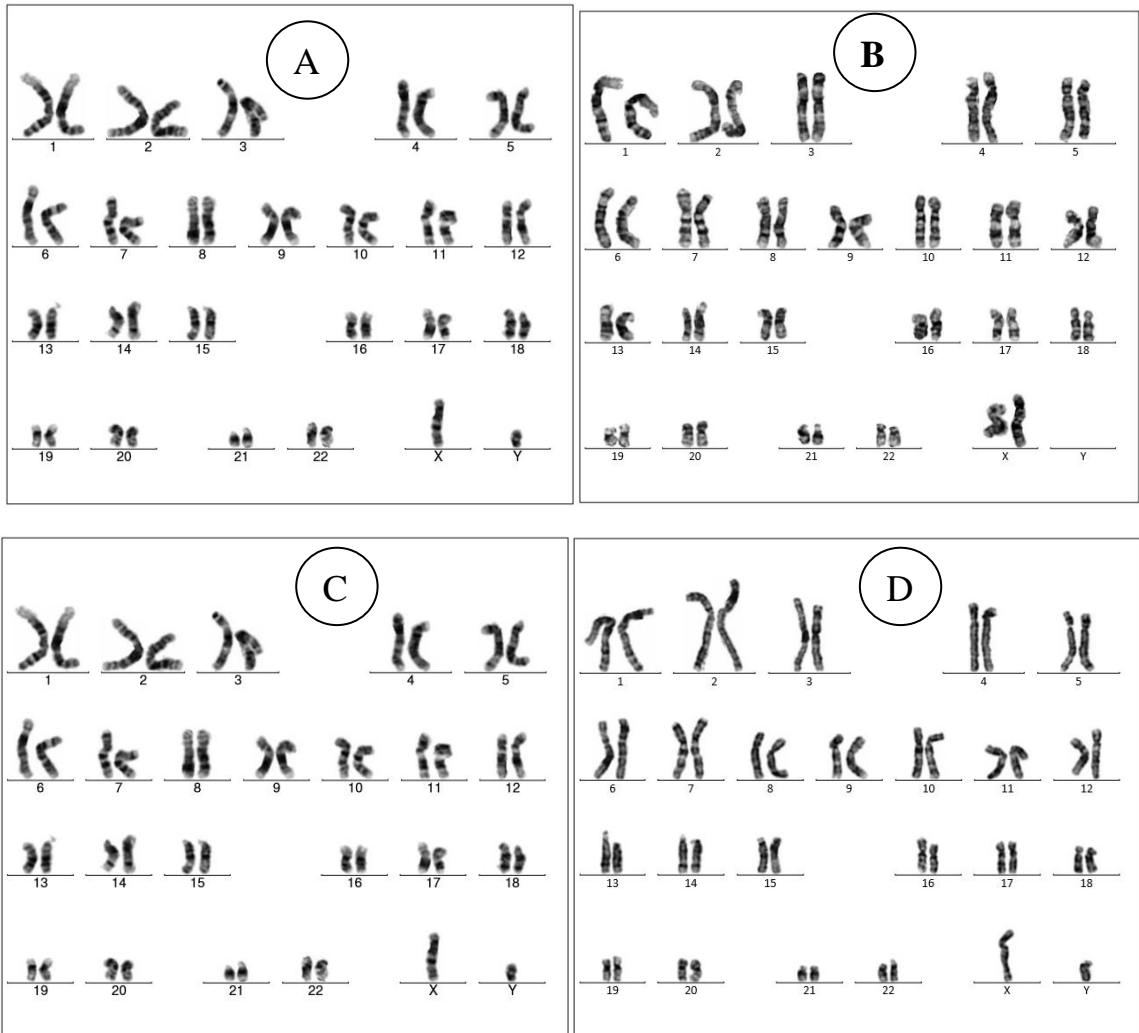
**Bảng 3.6.** Kết quả đánh giá kiểu hình miễn dịch của TBG tại thời điểm sử dụng điều trị cho bệnh nhân

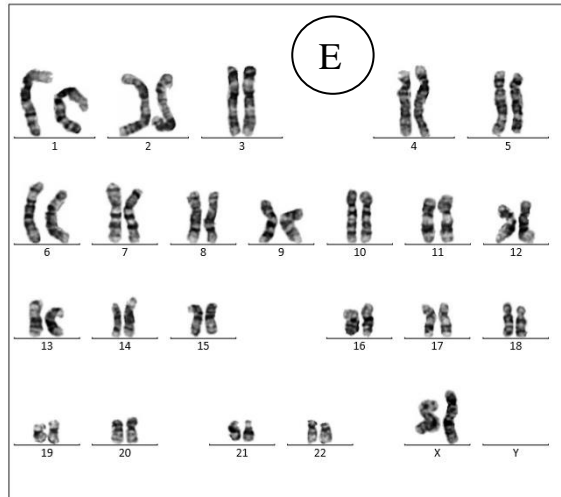
Chỉ tiêu đánh giá		Bệnh nhân 1		Bệnh nhân 2	
		Lần tiêm 1	Lần tiêm 2	Lần tiêm 1	Lần tiêm 2
Chỉ thị bề mặt	CD90	99%	99,95%	97,2%	98,99%
	CD73	98,9%	98,65%	97,52%	99,13%
	CD105	99,0%	99,92%	98,43%	99,59%
	CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR	0,3%	0,81%	0,16%	0,31%

Cũng theo nghiên cứu của tác giả Salehinejad, việc thiếu một phương pháp tiêu chuẩn để phân lập MSC từ dây rốn bắt nguồn từ sự khác biệt giữa các chỉ thị sử dụng để mô tả các tế bào gốc trung mô [75]. Các chỉ thị về CD90, CD73, CD105 và CD44 chỉ là một vài trong số các dấu hiệu được biểu thị trên MSC [76]. Báo cáo của La Rocca và cộng sự vào năm 2009 chỉ ra rằng các quy trình phân lập và nuôi cấy khác nhau có thể dẫn đến các dòng tế bào khác nhau về tính gốc và sự biểu hiện gen [77]. Các chỉ thị bề mặt của tế bào gốc trung mô như đã đề cập trước đây có thể thay đổi biểu hiện do nguồn gốc của mô, cách thức phân lập và phương pháp nuôi cấy [78]. Cũng có thể những loại kháng nguyên đã tìm thấy ở MSC vừa mới phân lập nhưng qua quá trình nuôi cấy, biểu hiện của nó sẽ biến mất [78]. Thêm vào đó, kết quả về độ đồng nhất về mức độ biểu hiện của các dấu ấn bề mặt cho MSC cũng là không giống nhau ở các nhóm nghiên cứu khác nhau. Ví dụ, tỷ lệ các dấu ấn CD105, CD73, CD44 và CD90 lần lượt là 35%, 42%, 48% và 65% trong tế bào gốc trung mô phân lập từ nền dây rốn Wharton bằng phương pháp enzyme collagenase được báo cáo bởi Schugar vào năm 2009 [76]. Mặt khác, 96% và 91% lần lượt là tỷ lệ dương tính với CD44 và CD90 ở các mẫu phân lập từ dây rốn khi sử dụng 3 enzyme là hyaluronidase, trypsin và collagenase trong các chủng phân lập được công bố bởi Weiss năm 2006 [79]. Trong một nghiên cứu khác, kết quả phân lập MSC bằng phương pháp sử dụng enzyme collagenase loại II được thực hiện vào năm 2012 bởi Yongan Xu và cộng sự thông báo kết quả dương tính với các marker CD44, CD90, CD105 lần lượt là 99,24%, 93,34%, 99,47% [80]. Trong nghiên cứu này, MSC thu được bằng cách sử dụng phương pháp nuôi cấy mảnh mô cho kết quả biểu hiện dương tính của các dấu hiệu tế bào gốc trung mô lên tới trên 99% với các marker CD90, CD73 và CD105 tại cả thời điểm cất đông và thời điểm sử dụng cho trị liệu. Kết quả cũng cho thấy, mẫu tế bào sau bảo quản lạnh không có sự thay đổi về biểu hiện của các marker bề mặt với tỷ lệ các marker dương tính biểu hiện cao, các marker không đặc hiệu biểu hiện thấp. Tỷ lệ các dấu ấn đặc trưng cho tế bào gốc trung mô biểu hiện cao, điều này hoàn toàn đáp ứng tiêu chuẩn của ISCT. Tỷ lệ các dấu ấn của tế bào gốc tạo máu thấp, thể hiện quần thể không bị lẫn với các loại tế bào khác. Kết quả này hoàn toàn phù hợp với các nghiên cứu trước đây của Bharti và cộng sự khi phân tích các TBG trung mô từ mô dây rốn trước và sau giải đông [80].

### 3.3.3. Nhiễm sắc thể đồ

Việc xây dựng nhiễm sắc thể đồ (karyotype) của mẫu giúp kiểm tra tính ổn định của bộ nhiễm sắc thể trong mẫu tế bào gốc trung mô. Sử dụng phương pháp nhuộm G – banding để xây dựng nhiễm sắc thể đồ, kết quả cho thấy cả 5 mẫu đã thu đều ghi nhận không có sự bất thường của nhiễm sắc thể. Mỗi mẫu tế bào được nuôi cấy, cố định, nhuộm và tiến hành phân tích nhiễm sắc thể trên 25 tế bào có tạo cụm nhiễm sắc thể (Hình 3.4)





**Hình 3.4:** Kết quả nhiễm sắc thể đồ

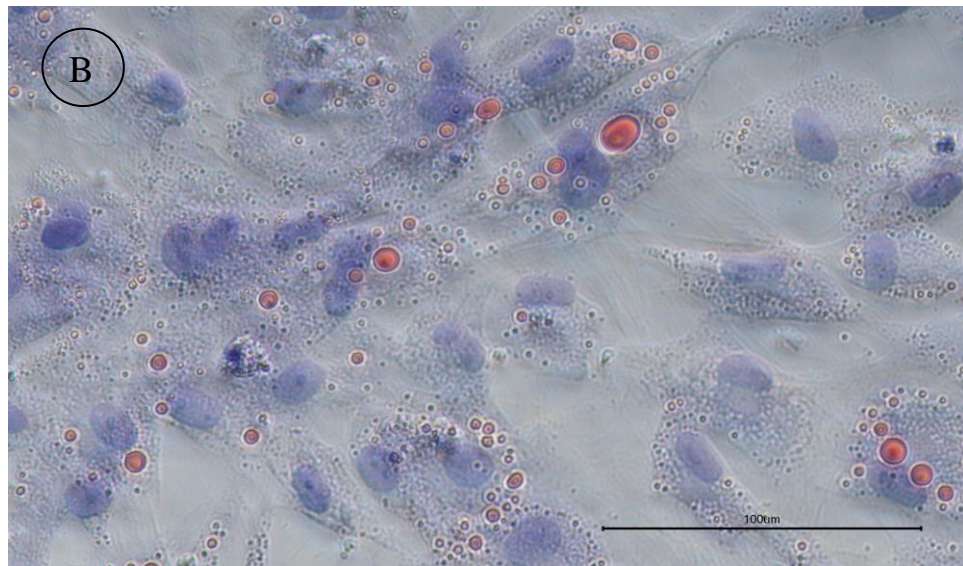
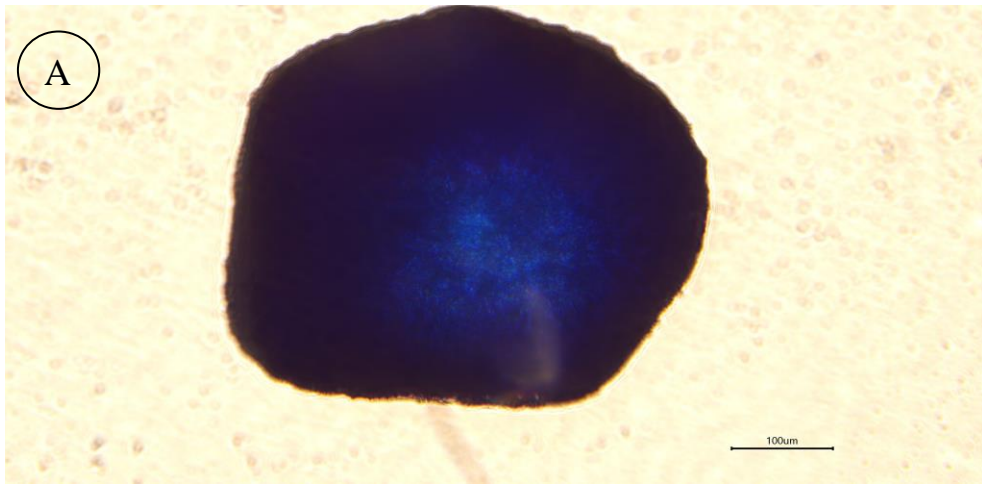
*A- UCT21001, B - UCT21003, C- UCT21005, D – UCT21006, E – UCT23001*

Việc sử dụng TBG ở đời cây chuyển thấp được khuyến cáo là tốt hơn ở các đời cây chuyển cao [81]. Theo kết quả công bố của Hiệp hội liệu pháp tế bào quốc tế, TBG trung mô từ mô dây rốn vẫn giữ được tính gốc tới lần cấy chuyển thứ 15. Nghiên cứu của de Witte và cộng sự chỉ ra rằng tế bào gốc trung mô sau khi quá trình cấy chuyển trong thời gian dài (P4, P8, P12) vẫn giữ được kiểu hình ổn định và các biểu hiện của tính sinh miễn dịch vẫn duy trì như các tế bào ở đời cấy chuyển thấp hơn. Tuy nhiên, đặc tính về điều biến miễn dịch của TBG bị suy giảm [82]. Việc tạo ngân hàng tế bào đầu dòng ở đời cấy chuyển thấp tạo điều kiện cho sử dụng tế bào cho điều trị cũng ở đời cấy chuyển thấp là vấn đề được ưu tiên. Trong khuôn khổ của đề tài, chúng tôi sử dụng tế bào ở đời cấy chuyển thứ 3 (P3) để truyền cho bệnh nhân nhằm duy trì sự ổn định về mặt di truyền của bộ NST. Tất cả các mẫu hiến sau khi được thu cấy chuyển sẽ được tiến hành xét nghiệm nhiễm sắc thể đồ, kết quả cho thấy, cả 5/5 mẫu hiến đều không ghi nhận bất thường về bộ NST, đủ điều kiện cho việc thực hiện trị liệu tế bào.

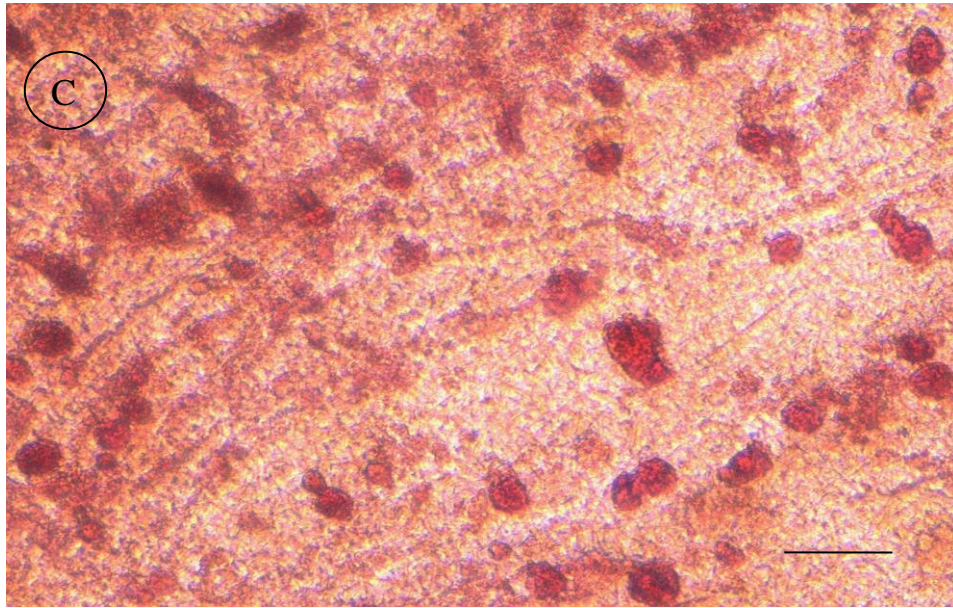
#### **3.3.4. Xác định khả năng biệt hoá đa dòng của tế bào gốc**

Tế bào sau khi nuôi cấy không chỉ được đánh giá bằng hình thái ở mức độ phân tử mà còn được đánh giá chức năng qua khả năng biệt hóa. Khả năng biệt hoá của tế bào được khảo sát tại đời cấy chuyển P3. Tế bào sau khi thu nhận, được cấy chuyển sang đĩa cấy chuyển mới với mật độ 5000 tế bào/cm<sup>2</sup>. Tế bào được nuôi cấy với từng loại môi trường đặc hiệu cho biệt hóa thành

mỡ, sụn và xương theo hướng dẫn của hãng sản xuất. Sau 14 ngày nuôi cấy, tiến hành đánh giá kết quả biệt hóa trên từng môi trường bằng cách nhuộm tế bào với thuốc nhuộm đặc hiệu. Với môi trường biệt hóa sụn, nhận thấy sự hình thành của các cụm tế bào có cấu trúc giống như sụn. Các cụm tế bào này bắt màu xanh khi nhuộm với alcian blue (Hình 3.5A). Tương tự vậy, các giọt mỡ hình thành trong khi biệt hoá được bắt màu đỏ khi nhuộm với oil red O (Hình 3,5B), canxi hình thành trong quá trình biệt hoá xương được ghi nhận bằng cách nhuộm alizarin red. (Hình 3.5C)







**Hình 3.5** : Hình ảnh tế bào biệt hoá sau khi nhuộm

( A - Biệt hoá sụn-40x, B - Biệt hoá mỡ-100x, C – Biệt hoá xương-40x)

Các đặc điểm của tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn sau phân lập và xử lý được xác định. Kết quả cho thấy, tế bào thu nhận được đáp ứng đầy đủ các tiêu chí tối thiểu đối với tế bào gốc trung mô do ISCT đề xuất, về các điều kiện bám dính, các marker dương tính biểu hiện cao, các marker âm tính ở dưới mức quy định, ngoài ra, khả năng biệt hoá của tế bào gốc thành tế bào giống tế bào mỡ, tế bào xương và tế bào sụn cũng được xác nhận. Như vậy, các tế bào gốc từ mô dây rốn hoàn toàn đủ điều kiện để thực hiện trị liệu tế bào.

### 3.3.5. Xét nghiệm endotoxin, mycoplasma và vô khuẩn

- Endotoxin

Nội độc tố vi khuẩn có bản chất là lớp Lipopolysaccharide (LPS) từ lớp màng ngoài của vi khuẩn gram âm, được giải phóng khi vi khuẩn bị chết hoặc ly giải. Nội độc tố được xem là chất kích thích hệ miễn dịch một cách mạnh mẽ. Sự hiện diện của chúng trong máu có thể gây ra các phản ứng nhiễm trùng với nhiều triệu chứng như sốt, hạ huyết áp, buồn nôn, rùng mình và sốc. Nồng độ cao có thể dẫn đến các biến chứng nghiêm trọng như đông máu nội mạch rải rác (DIC), sốc nội độc tố, hội chứng suy hô hấp ở người lớn (ARDS) thậm chí là tử vong. Chính vì vậy, việc kiểm tra sự tồn tại của nội độc tố trong sản phẩm tế bào là vô cùng quan trọng. Thử nghiệm này được thực hiện với mẫu dịch nuôi cấy của tế bào tại đời cấy chuyên tương đương với tế bào dùng

trong điều trị (P3). Dịch nuôi cấy được pha loãng 40 lần, sau đó được kiểm tra bằng bộ kiểm tra nội độc tố của Endosafe (Charles River, Mỹ).

Theo quy định của FDA và dược điển châu Âu, các sản phẩm thuốc hoặc tương đương thuốc phải tuân thủ quy định về ngưỡng endotoxin nhằm đảm bảo sự an toàn trong quá trình tiêm/truyền cho người bệnh. Quy định cũng chỉ ra rằng, ngưỡng endotoxin tối đa dùng cho sản phẩm tế bào dùng trong trị liệu là không lớn hơn 5 EU/kg trọng lượng cơ thể đối với đường tiêm không theo đường nội tủy. Kết quả cho thấy, tất cả các mẫu đều cho kết quả dưới ngưỡng theo khuyến nghị của FDA đối với sản phẩm tế bào dùng cho tiêm/truyền không theo đường nội tủy (bảng 3.7).

- Mycoplasma

Mycoplasma là những sinh vật nhân sơ nhỏ nhất và đơn giản nhất. Mycoplasma, do khả năng sinh tổng hợp giới hạn của chúng, phụ thuộc vào vật chủ cho nhiều chất dinh dưỡng hay không. Chúng từ lâu đã được công nhận là nguồn lây nhiễm phổ biến của các tế bào trong quá trình nuôi cấy liên tục, nhưng sự hiện diện của chúng có thể không bị phát hiện trong nhiều tháng. Khi mycoplasma cạnh tranh với các tế bào về chất dinh dưỡng trong môi trường nuôi cấy, một trong những dấu hiệu đầu tiên là giảm tỷ lệ tăng sinh tế bào và những thay đổi trong đáp ứng của tế bào, bao gồm biểu hiện gen. Nhiễm mycoplasma làm thay đổi biểu hiện gen và chức năng của tế bào. Có thể nói nhiễm mycoplasma là một mối nguy hại với nuôi cấy tế bào nói chung và nuôi cấy tế bào gốc nói riêng.

Xét nghiệm mycoplasma được thực hiện bằng phản ứng giữa cơ chất và thuốc thử và được đọc trên máy đọc đĩa đa năng theo phương pháp hoá phát quang. Phương pháp xác định mycoplasma bằng máy đọc đĩa đa năng, có độ nhạy cao, cho kết quả tự động, bên cạnh đó, các quá trình ủ mẫu, load mẫu được thực hiện bán tự động, giảm tối đa sự nhiễm chéo do thao tác gây ra. Cũng giống như thử nghiệm endotoxin, thử nghiệm mycoplasma cũng được thực hiện trên mẫu dịch nuôi cấy ở đời cấy chuyển tương đương với tế bào dùng trong điều trị. Kết quả cho thấy, tất cả các mẫu dùng trong điều trị đều âm tính với mycoplasma.

**Bảng 3.7.** Kết quả kiểm tra mycoplasma và endotoxin của mẫu TBG

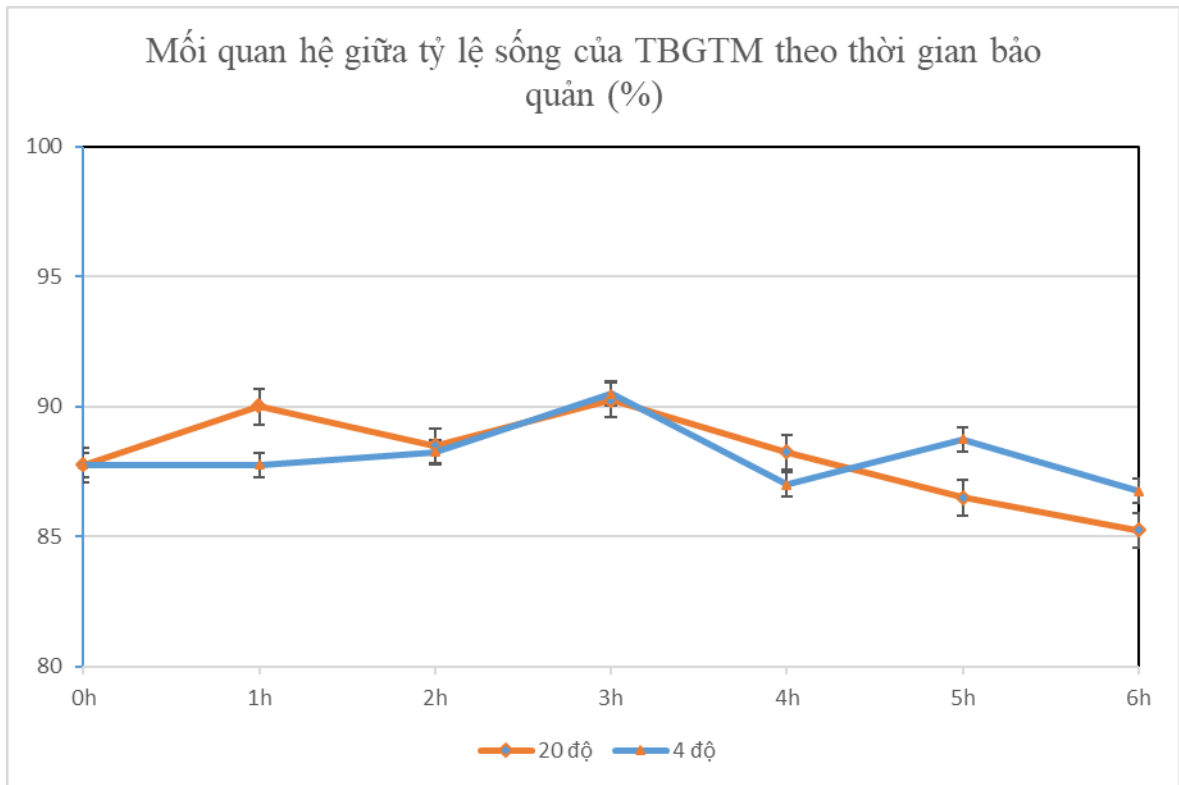
Chỉ tiêu đánh giá	Tham chiếu	Kết quả			
		Bệnh nhân 1		Bệnh nhân 2	
		Lần tiêm 1	Lần tiêm 2	Lần tiêm 1	Lần tiêm 2
Endotoxin	$\leq 5$ EU/kg	0,722 EU/mL	< 0,1 EU/mL	< 0,1 EU/mL	< 0,2 EU/mL
Mycoplasma	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính	Âm tính

- Kiểm tra vi khuẩn, vi nấm

Bên cạnh việc kiểm tra nội độc tố và mycoplasma, tính an toàn của liệu pháp trị liệu sử dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn còn bị ảnh hưởng bởi độ vô khuẩn của mẫu tế bào. Tất cả các mẫu tế bào sau khi thu hoạch và trước khi đưa vào lưu trữ trong nitơ lỏng đều được kiểm tra vô khuẩn. Mẫu dịch nuôi tế bào được thu lại, và cấy trên hệ thống tự động như mô tả ở mục 2.3.3.2. Kết quả cho thấy 100% mẫu tế bào đều không ghi nhận nhiễm vi khuẩn, vi nấm.

### **3.4. XÁC ĐỊNH THỜI GIAN BẢO QUẢN TỐI ƯU CHO SẢN PHẨM TẾ BÀO TRƯỚC KHI THỰC HIỆN TRỊ LIỆU**

Tế bào sau khi được tách ra tại đời cấy chuyển P3, được huyền phù trong NaCl 0.9% để tiêm cho bệnh nhân. Chúng tôi thực hiện xác định thời gian bảo quản tại các thời điểm  $t=1, 2, 3, 4, 5, 6$  giờ sau khi pha với NaCl, tại 2 nhiệt độ bảo quản là 20 và 4 độ C. Kết quả được thể hiện trong hình 3.6. Tế bào được đếm bằng máy Countess II FL.



**Hình 3.6.** Mối liên hệ giữa độ sống chết của TBG với thời gian bảo quản

Từ hình 3.6, chúng ta có thể thấy, tỷ lệ sống chết của tế bào gốc trung mô là khá ổn định, sau 6h bảo quản trong dung dịch pha tiêm, tỷ lệ sống của tế bào vẫn duy trì trên 85%, đây là ngưỡng đảm bảo cho tế bào vẫn hoạt động tốt khi đưa vào cơ thể của người bệnh. NaCl 0.9% là một dung dịch đẳng trương được dùng cho việc tiêm nội khớp, theo chỉ định của bác sĩ lâm sàng. Một số thử nghiệm cũng đưa NaCl là dung dịch bảo quản tế bào gốc sau khi tách, như thử nghiệm có mã số NCT03308006 thực hiện tại Trung tâm nghiên cứu & bệnh viện chuyên khoa King Faisal, Jeddah, Ả rập Xê út. Thử nghiệm tiến hành tiêm tế bào gốc trung mô từ mô mỡ với mật độ  $1 \times 10^8$  tế bào/3mL NaCl 0.9%.

Tuy nhiên, không có một số liệu nào trong nghiên cứu chỉ ra về thời gian bảo quản tối đa trong NaCl được ghi nhận, đây là điểm mới trong nghiên cứu của chúng tôi. Về lý thuyết, tế bào sau khi thu hoạch được tiêm càng sớm càng tốt. Song, cũng cần có thời gian nhất định cho việc kiểm tra, đánh giá chất lượng trước khi tiêm. Chúng tôi đề xuất với bác sĩ lâm sàng thực hiện tiêm cho bệnh nhân trong vòng 2h sau khi huyền phù tế bào trong NaCl, đây là thời gian đủ để thực hiện các kiểm tra về chất lượng của tế bào gốc trước khi tiêm cho bệnh nhân.

### 3.5. BÁO CÁO CA BỆNH ỨNG DỤNG CỦA TẾ BÀO GỐC TRUNG MÔ TỪ MÔ DÂY RỖN TRONG ĐIỀU TRỊ THOÁI HOÁ KHỚP GỐI

Bệnh nhân là một nam giới, 50 tuổi, khởi phát bệnh với triệu chứng đầu tiên là đau khớp gối 2 bên. BMI của bệnh nhân là 24. Bệnh nhân tới khám sau khi điều trị bằng các phương pháp nội khoa thông thường nhưng không mang lại hiệu quả. Bệnh nhân được chẩn đoán thoái hoá khớp 2 bên độ I theo thang đo Kellgren và Lawrence.

Bệnh nhân không bị nhiễm viêm gan B, C hoặc HIV, không có bất kỳ khối u ác tính nào, không có tiền sử dị ứng nào với bất kỳ thành phần nào trong biện pháp điều trị bằng tế bào gốc. Bệnh nhân đồng ý tham gia vào liệu pháp trị liệu tế bào và được sự chấp thuận của Hội đồng Đạo đức bệnh viện đa khoa Tâm Anh và sự đồng ý bằng văn bản cho phép tham gia thử nghiệm điều trị thoái hoá khớp bằng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn.

#### 3.5.1. Một vài đặc điểm sinh học của bệnh nhân trước ghép

Bệnh nhân được thực hiện các xét nghiệm ban đầu theo đề cương nghiên cứu, kết quả được thể hiện trong bảng 3.8.

**Bảng 3.8.** Các chỉ số sinh học của bệnh nhân trước ghép TBG

Chỉ số sinh học		Đơn vị	Kết quả của bệnh nhân	Trị số bình thường
Hồng cầu		T/l	4	4.0 – 5.8
Bạch cầu		G/l	6	4 – 10
Tiểu cầu		G/l	229	150 – 400
Ure máu		mmol/l	2.7	1.7 – 8.3
Creatinin		µmol/l	68.0	62 – 126
Chỉ số về men gan	GOT	U/l	<b>55</b>	<b>&lt; 40</b>
	GPT		31	< 41
	GGT		<b>494</b>	<b>10 - 71</b>

CRP	mg/dl	<b>1,07</b>	<b>&lt; 0,5</b>
Máu lắng	mm	4.8	< 40

Tại thời điểm ban đầu, chỉ số men gan của bệnh nhân cao, do bệnh nhân sử dụng rượu bia. Các chỉ số về thận, nước tiểu hoàn toàn bình thường. Chỉ số CRP đánh giá mức độ viêm và nhiễm trùng, ở ngưỡng cao.

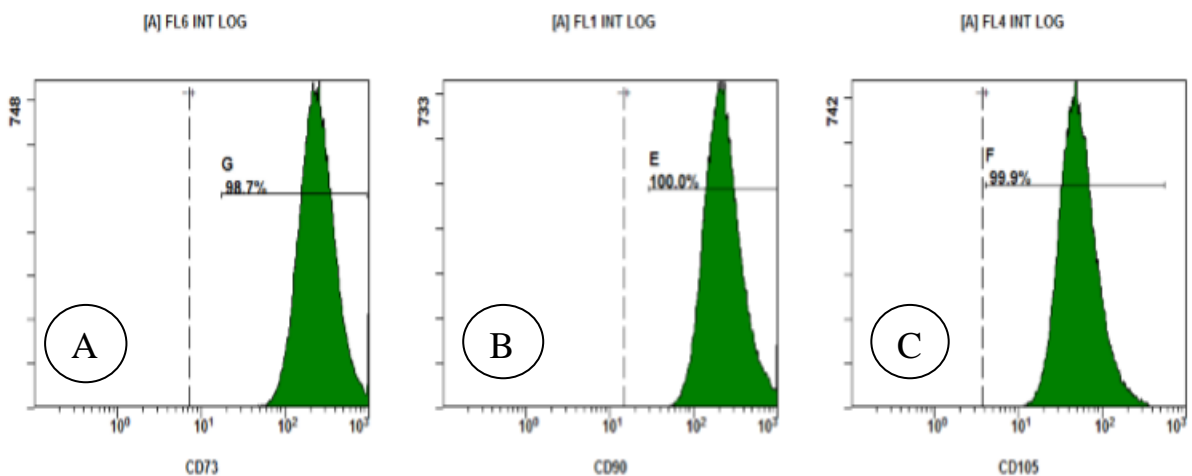
### 3.5.2. Đặc điểm của tế bào gốc trung mô dùng cho bệnh nhân

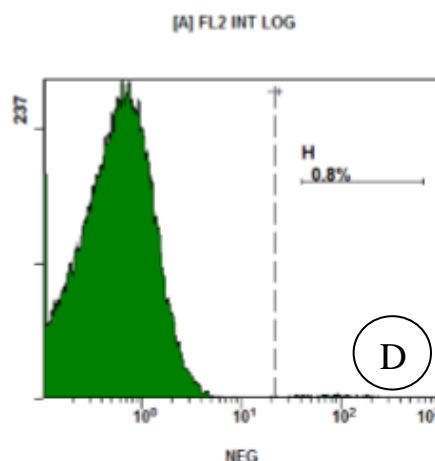
Bước 1: Các tế bào được bảo quản trong nitơ lỏng, và lựa chọn ngẫu nhiên bởi kỹ thuật viên của trung tâm tế bào gốc. Ống tế bào sau đó được rửa đông nhanh và cấy T-flask với mật độ 5000 tế bào/cm<sup>2</sup>. Tổng số tế bào trong ống tại thời điểm rửa đông là 1.11x10<sup>6</sup> tế bào/ml, tỷ lệ sống của tế bào đạt 96%.

Bước 2: Sau 14 ngày nuôi cấy, tổng số tế bào thu nhận được 47,2 x10<sup>6</sup> tế bào, tỷ lệ sống đạt 96%. Số tế bào này được huyền phù trong 6 mL NaCl 0.9%, và lấy mẫu thực hiện xét nghiệm đánh giá chất lượng. Trong quá trình thu hoạch mẫu, dịch nuôi được thu lại để xét nghiệm vô khuẩn (vi khuẩn và vi nấm).

Bước 3: Đánh giá chất lượng TBG trung mô

- Mycoplasma âm tính
- Đếm TBG trung mô (flow cytometry) : Tế bào nuôi cấy mang đặc tính tế bào gốc với CD90 dương tính (99,945%), CD 73 dương tính (98,7%), CD 105 dương tính (99,9%), các marker âm tính biểu hiện thấp (0,8%)





**Hình 3.7** : Kết quả các dấu ấn của TBG sử dụng cho bệnh nhân  
(A – quần thể dương tính với CD73, B – quần thể dương tính với CD90,  
C – quần thể dương tính với CD105, D – quần thể âm tính với marker  
CD34, CD11b, CD19, CD45, HLA-DR)

- Endotoxin âm tính
- Kiểm tra vi khuẩn, vi nấm (kết quả thông báo sau 14 ngày) : âm tính

Nhận xét chung, tế bào đạt tiêu chuẩn cho việc ghép tế bào gốc.

Bước 4: Tiêm nội khớp TBG trung mô với liều lượng  $20 \times 10^6$  tế bào/2.5mL/khớp. Theo dõi sau tiêm 1 giờ, bệnh nhân không ghi nhận các phản ứng phụ.

Ở liều tiêm TBG thứ 2, cách mũi đầu tiên 4 tuần, lặp lại quy trình trên để thu hoạch tế bào trị liệu cho bệnh nhân. Kết quả, bệnh nhân được tiêm tổng cộng  $22 \times 10^6$  tế bào. Các kết quả đánh giá chất lượng được thể hiện dưới bảng 3.9.

**Bảng 3.9.** Kết quả đánh giá chất lượng của mẫu TBG ở lần tiêm thứ hai

Tiêu chí	Kết quả
Mycoplasma	Âm tính
Endotoxin	Âm tính
Marker bề mặt	Marker âm tính (0,34%) CD73 (99,32%) CD90 (99,9%) CD105 (99,97)
Vi khuẩn, vi nấm	Âm tính

### 3.5.3. Theo dõi bệnh nhân sau tiêm, và đánh giá tại các thời điểm theo đề cương nghiên cứu

Sau tiêm, bệnh nhân có tràn dịch khớp nhẹ, các bác sĩ lâm sàng đã tiến hành hút dịch khớp cho bệnh nhân và còn đau tại các vị trí tiêm, tuy nhiên tình trạng đau cải thiện rõ rệt sau mỗi lần thăm khám. Hoàn toàn không ghi nhận các triệu chứng nhiễm khuẩn quanh khớp, viêm khớp, hay chảy máu khớp. Không ghi nhận các phản ứng phụ nào khác.

Trên lâm sàng, bệnh nhân có nồng độ protein C phản ứng tăng, nhưng không nhiều, tốc độ máu lắng bình thường. Tốc độ máu lắng và nồng độ protein C phản ứng tăng nhẹ là một trong những biểu hiện trên xét nghiệm của viêm màng hoạt dịch. Quan niệm trước đây cho rằng THK thuộc nhóm bệnh không do viêm, nhưng trên thực tế, hiện tượng viêm vẫn xảy ra, nguyên nhân là do các mảnh sụn vỡ, hoại tử trở thành các kháng nguyên lạ, gây ra phản ứng viêm thứ phát của màng hoạt dịch. Tám tuần sau tiêm (T8), chỉ số CRP của bệnh nhân giảm xuống còn 0.355mg/dl, và sau 6 tháng tiêm, chỉ số này chỉ còn 0.021mg/dl, ngưỡng hoàn toàn ổn định ở người bình thường. Chứng tỏ hiệu quả của liệu pháp sau tiêm, đã làm giảm mức độ viêm nhiễm tại ổ khớp của bệnh nhân.

Các triệu chứng toàn thân được thực hiện tại các thời điểm T0 tới T24, không có các dấu hiệu như nhức đầu, chóng mặt, mẩn ngứa, hay sốc phản vệ. Đánh giá theo thang điểm Kanofski tăng từ 70 (tại T0) lên 90 (tại T24).

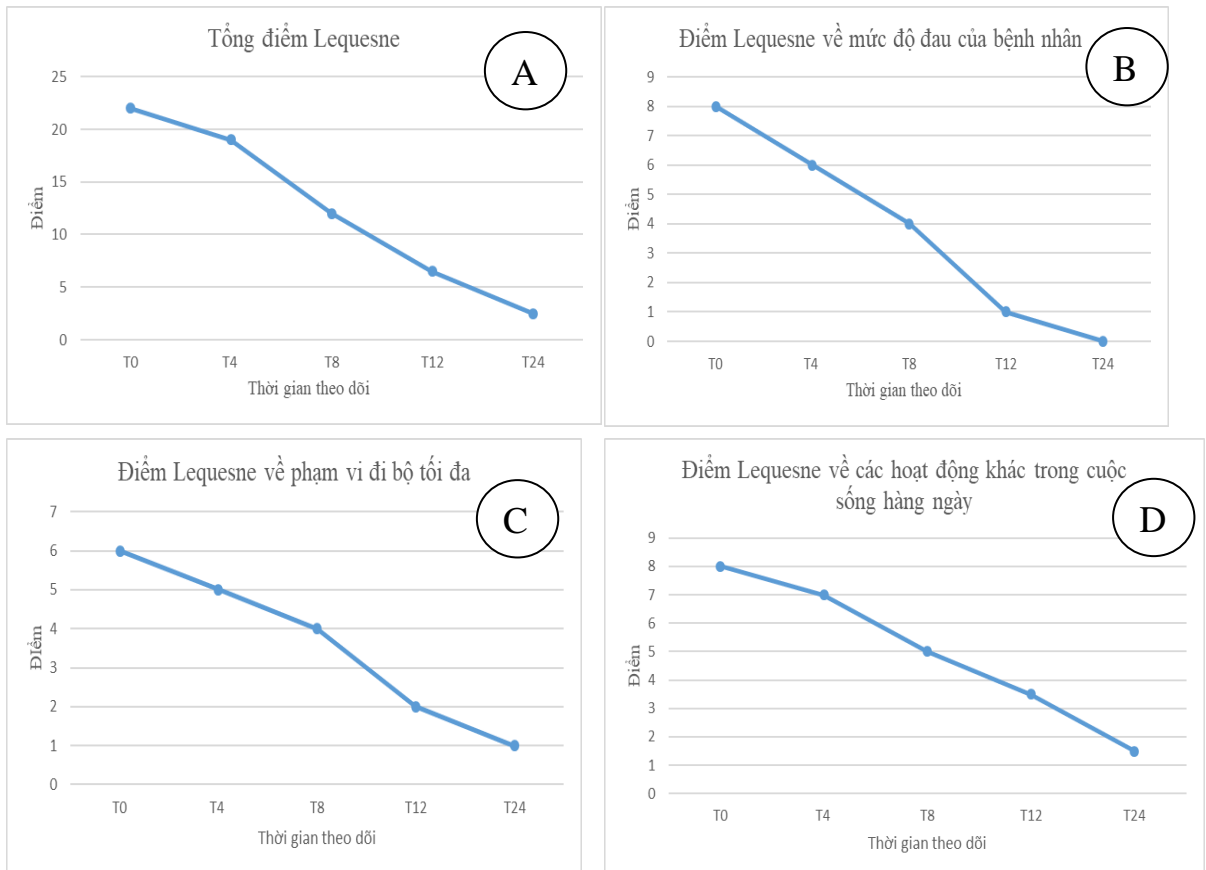
Về chức năng vận động: Độ gấp của đầu gối phải là 90 độ tại thời điểm T0, đã được cải thiện thành 135 độ sau tiêm TBG. Biên độ duỗi của gối phải tại T0 là 15 độ, đã cải thiện thành 0 độ tại thời điểm 6 tháng sau tiêm. Với gối trái, các cải thiện của chỉ số gấp và duỗi của khớp cũng tương tự, biên độ gấp tăng từ 60 độ lên 135 độ, biên độ duỗi từ 15 độ thành 0 độ.

Đánh giá mức độ đau của bệnh nhân trên thang điểm VAS tại thời điểm tiêm là 3/10, đau tăng lên sau khi tiêm đạt 5/10. Tuy nhiên, sau đó, mức độ đau của bệnh nhân giảm dần tới thời điểm T8 (tức 8 tuần sau tiêm) bệnh nhân đã không còn cảm thấy đau khớp, duy trì cho tới T24.

Về mức độ cải thiện cuộc sống, đánh giá trên thang điểm Lequesne, mức độ cải thiện được ghi nhận thay đổi từ 22 điểm tại thời điểm T0 (tương ứng với mức độ trầm trọng), còn 2,5 điểm tại thời điểm T24 (mức độ nhẹ). Bệnh nhân đánh giá hài lòng với liệu pháp điều trị, cải thiện rõ rệt chất lượng



cuộc sống của bệnh nhân. Trong đó, về mức độ đau của bệnh nhân, có sự thuyên giảm rõ rệt, từ chỗ bệnh nhân bị đau ngay cả khi nằm, không cử động, tại thời điểm T24, bệnh nhân đã không còn cảm giác đau, khi thực hiện các thao tác đi lại. Sự thay đổi tích cực của liệu pháp còn được thể hiện ở phạm vi đi bộ tối đa của bệnh nhân, từ việc chỉ đi được khoảng 100-300m, cần sự trợ giúp của nạng hoặc người thân, bệnh nhân đã có thể đi được những khoảng cách xa hơn tùy ý, và không cần sự trợ giúp.



**Hình 3.8:** Thang điểm Lequesne theo thời gian

(A – Tổng điểm Lequesne, B – Điểm Lequesne về mức độ đau của bệnh nhân, C – Điểm Lequesne về phạm vi đi bộ tối đa, D – Điểm Lequesne về các hoạt động khác trong sinh hoạt hàng ngày)

Sự khác biệt về sự liên quan giữa các dấu hiệu lâm sàng với mức độ đau ở các nghiên cứu khác nhau có thể do sự lựa chọn các thang điểm đánh giá đau khác nhau. Nghiên cứu của chúng tôi đánh giá mối quan hệ giữa triệu chứng lâm sàng và thang điểm VAS, các nghiên cứu còn lại đánh giá theo thang điểm Lequesne. Thang điểm VAS đánh giá mức độ đau đơn thuần theo cảm giác chủ quan của bệnh nhân, cho điểm cảm giác đau theo những gì họ trải qua trong lúc ngồi phỏng vấn. Còn thang điểm Lequesne, đánh giá điểm

đau và chức năng sau khi thực hiện các hoạt động cụ thể như lên xuống cầu thang, đi bộ trên đường lồi lõm, ngồi xuống, đứng lên khỏi ghế hoặc ngay cả khi bệnh nhân nằm.

Các kết quả trên MRI và X quang, cũng như siêu âm ổ khớp, có sự thay đổi nhưng không đáng kể.

Trên thực tế, việc sử dụng tế bào gốc trong điều trị thoái hoá khớp đã được thực hiện từ lâu. Tủy xương là nguồn cung cấp tế bào gốc trung mô hiệu quả sớm nhất và phổ biến nhất để điều trị các bệnh viêm khớp. Nhóm nghiên cứu của Wakitani đã tiến hành thử nghiệm lâm sàng trên ba bệnh nhân. Ba tuần trước khi tiến hành ghép, tủy xương được hút ra từ mào chậu. Các tế bào bám dính được nuôi cấy trong môi trường có chứa huyết thanh tự thân. Sau một lần cấy chuyển, tế bào được thu hoạch và đưa vào dung dịch 1% collagen type I, phủ lên tấm collagen từ gân lợn và được gel hóa. Phức hợp gel-tế bào được cấy chuyển vào khớp gối và phủ lên bởi màng hoạt dịch tự thân lấy từ bề mặt trước của xương chày. Sáu tháng sau khi cấy ghép, các triệu chứng lâm sàng của bệnh nhân đã được cải thiện và những cải thiện được duy trì trong suốt thời gian theo dõi (17-27 tháng) [83].

Một số thử nghiệm lâm sàng khác đã theo dõi bệnh nhân trong thời gian dài tới 5 năm [84, 85]. Tế bào đơn nhân được thu nhận từ tủy xương của bốn bệnh nhân đã đăng ký thử nghiệm được tách bằng ficoll và nuôi tăng sinh trong môi trường DMEM bổ sung 10% FBS (Fetal Bovine Serum). Sau lần cấy chuyển thứ nhất, tế bào bám dính được chuyển sang môi trường M199 và thu hoạch ở dạng huyền phù trong saline cho tiêm khớp. Lượng tế bào cho mỗi khớp từ  $8 - 9 \times 10^6$  tế bào. Sau quá trình theo dõi nhóm nghiên cứu đã rút ra kết luận các ca tiêm nội khớp sử dụng tế bào gốc trung mô đã mang lại lợi ích tốt nhất sau 6 tháng. Các thông số về thời gian đi bộ, leo cầu thang, điểm số trực quan về mức độ đau đều được cải thiện. Sau đó hiệu ứng có giảm nhưng sau 5 năm vẫn tốt hơn so với đường cơ sở.

Một nghiên cứu gần đây ở Canada thử nghiệm lâm sàng ngẫu nhiên, nhãn mở, pha I/IIa, thực hiện từ tháng 4 năm 2015 đến tháng 12 năm 2017 trên bệnh nhân từ 40 đến 65 tuổi, sử dụng tế bào gốc trung mô từ tủy xương tự thân kết hợp với huyết tương tự thân tiêm nội khớp cho bệnh nhân thoái hoá khớp gối giai đoạn muộn theo thang Kellgren- Lawrence cho thấy: Về tính an toàn, không có tác dụng phụ nghiêm trọng, mặc dù có bốn trong số 12

bệnh nhân có các tác dụng phụ nhẹ, thoáng qua. Có sự cải thiện một cách có ý nghĩa về chỉ số đau KOOS về triệu chứng, chất lượng cuộc sống, và độ cứng WOMAC. Ở liều tiêm 50 triệu tế bào đã đạt được những cải thiện liên quan đến lâm sàng trên hầu hết các kết quả được báo cáo. Về điểm số WORMS (điểm MRI toàn thân) và T2 (hàm lượng collagen) không thay đổi so với đường cơ sở. Tuy nhiên, các chỉ thị về dị hóa sụn và viêm màng hoạt dịch thấp hơn một cách có ý nghĩa khi sử dụng liều cao. Bạch cầu đơn nhân tiền viêm, đại thực bào và Interleukin-12 giảm trong bao hoạt dịch sau khi tiêm tế bào gốc trung mô. Liệu pháp tế bào gốc trung mô điều trị thoái hóa khớp được kết luận là an toàn, giảm viêm màng hoạt dịch và thoái hóa sụn và cải thiện đáng kể tình trạng bệnh qua các chỉ số đánh giá được báo cáo sau 12 tháng [86].

Bên cạnh nguồn tế bào gốc từ tuỷ xương, tế bào gốc trung mô từ mô mỡ cũng được sử dụng từ lâu trong các thử nghiệm lâm sàng điều trị thoái hoá khớp. Một nghiên cứu hồi cứu trên 37 khớp gối (35 bệnh nhân), kiểm tra bằng nội soi sau khi ghép tế bào gốc trung mô từ mô mỡ. Đây là nghiên cứu đầu tiên thực hiện việc đánh giá lại bằng kỹ thuật nội soi khớp để kiểm tra kết quả ghép tế bào gốc trung mô. Kết quả cho thấy 24% các tổn thương đạt được trạng thái bình thường hoặc gần bình thường (ICRS độ I hoặc II), điểm IKDC trung bình được cải thiện từ 38.0 trước phẫu thuật lên 61.0 ở lần theo dõi cuối cùng. Chỉ số BMI cao và tổn thương lớn được dự báo là có ảnh hưởng đáng kể về kết quả lâm sàng. Các yếu tố khác, bao gồm tuổi, giới tính, vị trí tổn thương sụn không ảnh hưởng đáng kể đến kết quả. Sau phẫu thuật 33/35 bệnh nhân báo cáo tốt về sự hài lòng đối với liệu pháp [87].

Một nhóm nghiên cứu ở Úc đã sử dụng tế bào gốc trung mô từ mô mỡ tự thân điều trị và kiểm chứng trên 30 người thoái hóa khớp gối. Số người tham gia thử nghiệm được chia ngẫu nhiên thành ba nhóm: hai nhóm được điều trị bằng tế bào gốc trung mô từ mô mỡ bằng tiêm nội khớp với liều  $100 \times 10^6$  tế bào một lần hoặc 2 lần cách nhau 6 tháng; nhóm thứ ba đóng vai trò đối chứng. Tế bào gốc trung mô được nuôi cấy tăng sinh đến lần cấy chuyển thứ 2 sẽ được sử dụng tiêm nội khớp. Kết quả là không có sự kiện bất lợi nghiêm trọng nào được ghi nhận. Cả hai nhóm điều trị tế bào gốc trung mô tự thân đều cho thấy về mặt lâm sàng, triệu chứng đau giảm đáng kể và cải thiện chức năng khi hoàn thành theo dõi sau 12 tháng. Phân tích bằng cộng

hưởng từ cho thấy có tiến triển tốt [88]. Nhóm nghiên cứu này cũng đã thử trên một nhóm điều trị thứ ba, tiêm 5 mũi tại thời điểm ban đầu, 1, 2, 3, và 6 tháng. Tuy nhiên, nhóm điều trị này đã ngừng lại do quan sát thấy các tác dụng phụ ở mức độ vừa phải. Tổng quát chung nhóm nghiên cứu này đã kết luận liệu pháp tế bào gốc từ mô mỡ tự thân qua nuôi cấy tăng sinh dùng cho điều trị thoái hóa khớp thành công vượt xa những gì đạt được bằng phương pháp thông thường.

Như đã trình bày trong phần tổng quan, những ưu điểm của tế bào gốc mô dây rốn là vượt trội so với tế bào gốc trưởng thành khác. Do đó, gần đây đã xuất hiện rất nhiều nghiên cứu và thử nghiệm lâm sàng liên quan đến ứng dụng nguồn tế bào gốc này trong điều trị nhiều bệnh.

Đầu tiên là một thử nghiệm có thời gian theo dõi lên tới 7 năm tại Hàn Quốc thực hiện trên 7 bệnh nhân được chẩn đoán thoái hóa khớp độ 3 theo thang Kellgren-Lawrence và độ 4 theo ICRS. Sản phẩm thuốc sử dụng là hỗn hợp tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn kết hợp với hyaluronic acid. Tính an toàn được đánh giá bởi các tiêu chí phân loại độc tính của Tổ chức Y tế Thế giới. Hiệu quả chính là sửa chữa sụn ICRS được đánh giá bằng nội soi khớp lúc 12 tuần. Hiệu quả tiếp theo là thang điểm tương tự trực quan (VAS) đánh giá triệu chứng đau khi đi bộ. Trong thời gian theo dõi kéo dài 7 năm, các nhà nghiên cứu đã đánh giá mức độ an toàn, điểm VAS, điểm số chủ quan của Ủy ban Tài liệu Đầu gối Quốc tế (IKDC), kết quả chụp cộng hưởng từ (MRI) và đánh giá mô học. Mô sụn sửa chữa được quan sát tại đánh giá nội soi sau 12 tuần. Điểm số VAS và IKDC được cải thiện sau 24 tuần. Kết quả lâm sàng được cải thiện ổn định sau 7 năm theo dõi. Kết quả mô học sau 1 năm cho thấy sụn có dạng như hyaline và kết quả MRI sau 3 năm cho thấy sự tồn tại của sụn tái tạo. Chỉ có năm tác dụng phụ điều trị từ nhẹ đến trung bình được quan sát thấy. Không có trường hợp nào bị thoái hóa xương hoặc phát sinh khối u trong hơn 7 năm. Ứng dụng của sản phẩm thuốc dựa trên tế bào gốc mới này dường như an toàn và hiệu quả cho việc tái tạo sụn khớp bền ở đầu gối xương khớp [89].

Thử nghiệm sử dụng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn được tiến hành tại Đại học Los Andes ở Santiago, Chile (số đăng ký NCT02580695). Nghiên cứu được lên kế hoạch thử nghiệm ngẫu nhiên, mù ba, so sánh tiêm liều đơn hoặc đôi với phương pháp điều trị truyền thống tiêm Hyaluronic acid (HA).

Nhóm nghiên cứu đưa ra quan điểm về ưu thế của tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn thể hiện tiềm năng sinh sản, tăng sinh và di cư cao hơn tế bào gốc trung mô từ tủy xương, cũng như khả năng tiết các yếu tố liên quan đến sự phát triển của sụn. Do đó, tế bào gốc trung mô nguồn gốc mô dây rốn nhận được sự quan tâm cũng như được cho rằng phù hợp cho liệu pháp tế bào đồng loài. Nhóm thử nghiệm 9 bệnh nhân được tiêm liều đơn  $20 \times 10^6$  tế bào hoặc lặp lại liều ban đầu sau 6 tháng. Nhóm đối chứng 8 bệnh nhân được tiêm Hyaluronic acid tại thời điểm bắt đầu và sau 6 tháng. Điểm lâm sàng và hình ảnh cộng hưởng từ được đánh giá trong suốt 12 tháng theo dõi. Không có tác dụng phụ nghiêm trọng được báo cáo. Chỉ có những bệnh nhân được điều trị bằng tế bào gốc trung mô mới trải qua những cải thiện đáng kể về đau và chức năng từ đường cơ sở. Không có sự khác biệt về MRI được phát hiện. Nhóm nghiên cứu đưa ra kết luận trong thử nghiệm pha I/II, điều trị lặp lại bằng tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn là an toàn và vượt trội hơn so với phương pháp điều trị khác sau một năm theo dõi [90].

Một nghiên cứu khác của nhóm các tác giả người Indonesia, thực hiện trong gần 3 năm đã cho những kết quả rất triển vọng. Theo đó, bệnh nhân được chẩn đoán viêm khớp gối được tiêm ba lần, lần một bao gồm  $10 \times 10^6$  tế bào gốc trung mô và 2 ml Hyaluronic acid (HA), hai lần tiếp theo tiêm HA trong tuần thứ hai và thứ ba. Các tác giả nhận thấy việc tiêm tế bào gốc trung mô kích thích tái tạo mô sụn và làm chậm quá trình phá hủy lũy tiến thường thấy trong viêm khớp. Trong nghiên cứu này, họ thấy rằng các bệnh nhân đã cải thiện đáng kể điểm IKDC và WOMAC. Tuy nhiên, không có cải thiện MRI đáng kể nào ở cả lần theo dõi tháng thứ 6 và thứ 12. Các tác giả cũng thừa nhận nghiên cứu của họ bị giới hạn bởi nhãn mở và không có đối chứng giả dược. Vì vậy, việc kết hợp tế bào gốc trung mô nguồn gốc mô dây rốn như một lựa chọn điều trị trong viêm khớp gối cần nhiều bằng chứng hơn. Các nghiên cứu lâm sàng ngẫu nhiên tiếp theo là cần thiết để điều tra sự an toàn và hiệu quả của các tế bào này để điều trị viêm xương khớp đầu gối [91].

Cả 2 nghiên cứu trên cũng như nghiên cứu của chúng tôi đều cho kết quả không nhận thấy nhiều sự thay đổi trên MRI và X quang ổ khớp. Có thể thấy rằng, tế bào gốc trung mô từ mô dây rốn, giúp cải thiện mức độ đau của bệnh nhân, làm tăng chất lượng cuộc sống, giảm các triệu chứng khó chịu của thoái hoá khớp gây ra, tuy nhiên, để kiểm tra mức độ cải thiện trên lâm sàng,

như độ dày sụn khớp, giảm gai xương, thì cần thời gian theo dõi nhiều hơn.

Cơ chế tác động của tế bào gốc trong quá trình điều trị thoái hoá khớp được lý giải do bản chất tự nhiên rất đặc biệt về miễn dịch, MSC giải phóng ra các yếu tố điều hòa miễn dịch cho phép chúng thoát khỏi cơ chế thải ghép trong thời gian đủ để thực hiện việc trị liệu của chúng [92], [93].

MSC phát huy các chức năng khác nhau nhờ nhiều yếu tố được tiết ra. Chúng tạo ra các yếu tố tăng trưởng, chẳng hạn như yếu tố tăng trưởng chuyển dạng (TGF), yếu tố tăng trưởng tế bào gan (HGF), yếu tố tăng trưởng nguyên bào sợi (FGF) hoặc yếu tố tăng trưởng nội mô mạch máu (VEGF), gây ra sự tăng sinh và tạo mạch của các loại tế bào khác nhau, đặc biệt nguyên bào sợi, tế bào biểu mô hoặc nội mô. Sự tăng tiết của yếu tố tăng trưởng (GF), cytokine (CKs), và các túi ngoại bào (EVs) ở mức cao giúp MSC tạo nên môi trường vi mô tái tạo. GF được biết đến có tác dụng thúc đẩy sự tăng sinh, tăng trưởng và biệt hoá tế bào, trong khi CK có tác dụng điều hoà quá trình viêm, phân chia, biệt hoá và tái tạo tế bào [94]. Mặc dù có nhiều nguồn TBG khác nhau nhưng hiệu quả điều trị của mỗi loại là khác nhau [95]. TBG tự thân từ mô mỡ hoặc tuỷ xương đã có lịch sử sử dụng lâu dài, được ứng dụng nhiều trong việc điều trị thoái hoá khớp nhưng dường như kém hiệu quả hơn về mặt hoạt lực so với ghép TBG từ mô dây rốn đồng loài [96].

Là một mô hình cho tái tạo mô, MSC đã được sử dụng cho điều trị nhiều tổn thương, bao gồm cả viêm xương khớp. Trong các thử nghiệm lâm sàng giai đoạn đầu, sử dụng tế bào gốc trung mô tiêm nội khớp dẫn đến giảm đau, bảo vệ hoặc chữa lành sụn. Sau khi tiêm, các tế bào này được phát hiện có mặt trong vỏ bao hoạt dịch và sụn mới hình thành. Những nghiên cứu này dẫn đến giả thuyết rằng các tế bào gốc trung mô hoạt động thông qua các cơ chế thay thế tế bào để thúc đẩy tái tạo mô thông qua việc điều biến môi trường vật chủ và/hoặc kích thích các tế bào tiền thân nội sinh qua cơ chế paracrine [97], [98]. Một nghiên cứu khác chỉ ra rằng tế bào gốc trung mô nhanh chóng biến mất khỏi mô đích sau khi tiêm, nhưng vẫn có thể mang lại hiệu quả bảo vệ sụn và điều hòa miễn dịch. Hiệu quả điều trị dường như không phụ thuộc vào sự gắn kết của các tế bào này mà chủ yếu thông qua trung gian paracrine [99].

MSC tiết ra nhiều loại chemokine và cytokine hỗ trợ sửa chữa các mô bị thoái hóa, phục hồi chuyển hóa mô bình thường và quan trọng nhất là

chống viêm. Sự tiết ra các yếu tố trị liệu được tăng lên sau khi các tế bào này được kích hoạt để đáp ứng với các tín hiệu liên quan đến môi trường bị tổn thương ví dụ như các tín hiệu viêm hoặc apoptosis, gây ra bởi hệ thống miễn dịch của vật chủ [92]. Tác giả này cho rằng tế bào gốc trung mô có thể hoạt động thông qua cơ chế “hit and run”, nghĩa là tấn công nhanh chóng và sau đó biến mất hơn là cấy ghép ổn định trong mô. Các tế bào tiền thân nội mô được thúc đẩy để tăng sinh và biệt hóa, trong khi các chất hóa học dẫn dụ thu hút các tế bào tiền thân nội sinh đến các vị trí bị tổn thương. Đồng thời, các MSC đã được kích hoạt có khả năng điều chỉnh phản ứng miễn dịch cục bộ bằng cách ức chế có chọn lọc sự tăng sinh của tế bào miễn dịch [100].

Một cơ chế quan trọng khác của MSC trong điều trị viêm khớp là điều hòa miễn dịch. MSC có ảnh hưởng đến sự kích hoạt, tăng sinh và biệt hóa tế bào T - CD4+ nguyên thủy. Các tế bào T đại diện cho các tác nhân chính cho các bệnh tự miễn và sự thải ghép mô, tế bào. Các nghiên cứu cơ bản cũng được tiến hành nhằm khám phá tác dụng của tế bào gốc trung mô đối với các con đường tác động đến tập con của tế bào T – hỗ trợ, T – nhớ hay T – nguyên thủy (T-effector, T- memory, T-naïve). Chúng ức chế sự biệt hóa tạo tế bào Th17, khởi đầu bằng sự tiếp xúc tế bào-tế bào, sau đó thông qua trung gian bởi sự hoạt hóa PGE2 qua thụ thể EP4. Hơn nữa, MSC còn ức chế sự sản xuất IL-17 bởi tế bào Th17 (effector- memory Th17 cells), chỉ ra rằng MSC có khả năng cải thiện tổn thương mô trong mô hình viêm cấp tính [101].

Kết quả trị liệu bằng TBG của chúng tôi đối với ca bệnh này được ghi nhận cải thiện được khá nhiều các chức năng vận động, giảm đau, không còn các triệu chứng sưng – nóng – đỏ – đau tại ổ khớp. Tình trạng chức năng của đầu gối được cải thiện. Hơn hết, liệu pháp này nhận được sự đánh giá tích cực của bệnh nhân. Vì vậy, ghép TBG là một kỹ thuật đơn giản, giảm đau, mang lại chất lượng cuộc sống tốt hơn cho bệnh nhân, mà không cần trải qua phẫu thuật. Ghép tế bào có thể coi là một phương pháp điều trị thay thế đáng tin cậy cho các bệnh nhân thoái hoá khớp gối.

## **KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ**

### **KẾT LUẬN**

1. Nghiên cứu của chúng tôi đã thu thập được 5 mẫu dây rốn đủ tiêu chuẩn lưu trữ. Sau quá trình phân lập và nuôi cấy tăng sinh, thu nhận được 650 ống tế bào (tương đương với  $650 \times 10^6$  tế bào) sử dụng làm ngân hàng đầu dòng cho điều trị. Các mẫu TBG thu nhận đáp ứng đầy đủ tiêu chuẩn của ISCT để có thể sử dụng trên người.
2. Kết quả trị liệu trên ca bệnh lâm sàng cho những kết quả khả quan. Bệnh nhân giảm đáng kể các triệu chứng đau và cải thiện cuộc sống một cách rõ rệt.

### **KIẾN NGHỊ**

1. Tiếp tục thực hiện trên bệnh nhân ở quy mô lớn hơn, nhằm đánh giá một cách hệ thống về sự cải thiện các dấu hiệu lâm sàng.



## DANH MỤC TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Antunes, M.A., Laffy, G.J., Pelosi, P., Rocco, P.R.M., 2014, Mesenchymal Stem Cell Trials for Pulmonary Diseases, *J Cell Biochem*, 115(6), p. 1023-1032.
2. Williams, A.R., Hare, J.M., 2011, Mesenchymal Stem Cells: biology, pathophysiology, translational findings, and therapeutic implications for cardiac disease, *Circulation Research*, 109(8), p. 923-940.
3. Drela, K., Siedlecka, P., Sarnowska, A., Domanska-Janik, K., 2013, Human mesenchymal stem cells in the treatment of neurological diseases, *Acta neurobiologiae experimentalis*, 73(1), p. 38-56.
4. Bovenberg, M.S.S., Degeling, M.H., Tannous, B.A., 2013, Advances in stem cell therapy against gliomas, *Trends in Molecular Medicine*, 19(5), p. 281-291.
5. Lee, K.O., Gan, S.U., Calne, R.Y., 2012, Stem cell therapy for diabetes, *Indian journal of endocrinology and metabolism*, 16(Suppl 2), p. S227-S229.
6. Zhu, C., Wu, W., Qu, X., 2021, Mesenchymal stem cells in osteoarthritis therapy: a review, *American journal of translational research*, 13(2), p. 448-461.
7. Nöth, U., Steinert, A.F., Tuan, R.S., 2008, Technology insight: adult mesenchymal stem cells for osteoarthritis therapy, *Nat Clin Pract Rheumatol*, 4(7), p. 371-80.
8. Trần Ngọc Ân, 2002, “*Hư khớp và hư cột sống*”. *Bệnh thấp khớp*, Nhà xuất bản y học, tr. 254-272.
9. Murray, C.J., et al , 2013, The state of US health, 1990-2010: burden of diseases, injuries, and risk factors, *JAMA*, 310(6), p. 591-608.
10. <https://vizhub.healthdata.org/gbd-compare/>. (June 29, 2018).
11. Lozano, R., et al., 2012, Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010, *Lancet*, 380(9859), p. 2095-128.
12. Neogi, T., Zhang, Y., 2013, Epidemiology of osteoarthritis, *Rheum Dis Clin North Am*, 39(1), p. 1-19.
13. Nelson, A.E., 2018, Osteoarthritis year in review 2017: clinical, *Osteoarthritis Cartilage*, 26(3), p. 319-325.
14. WHO Department of Chronic Diseases and Health Promotion. Available at: <http://www.who.int/chp/topics/rheumatic/en/>.
15. "Arthritis-Related Statistics: Prevalence of Arthritis in the United States". Centers for Disease Control and Prevention, *US Department of Health and Human Services*, 9 November 2016, Archived from the original on 29 December 2016.
16. Torio, C.M., Andrews, R.M., 2006, National Inpatient Hospital Costs: The Most Expensive Conditions by Payer, 2011: Statistical Brief #160,

- in Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs, *Agency for Healthcare Research and Quality (US)*: Rockville (MD).
17. Pfuntner, A., Wier, L.M., Steiner, C., 2006, Costs for Hospital Stays in the United States, 2011: Statistical Brief #168, in Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP) Statistical Briefs, *Agency for Healthcare Research and Quality (US)*: Rockville (MD).
  18. Johnson, V.L., Hunter, D.J., 2014, The epidemiology of osteoarthritis, *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 28(1), p. 5-15.
  19. Yu, S.P., Hunter, D.J., 2015, Emerging drugs for the treatment of knee osteoarthritis, *Expert Opin Emerg Drugs*, 20(3), p. 361-78.
  20. Shane Anderson, A., Loeser, R.F., 2010, Why is osteoarthritis an age-related disease?, *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 24(1), p. 15-26.
  21. Loeser, R.F., Collins, J.A., Diekman, B.O., 2016, Ageing and the pathogenesis of osteoarthritis, *Nat Rev Rheumatol*, 12(7), p. 412-20.
  22. Verzijl, N., Bank, R.A., TeKoppele, J.M., DeGroot, J., 2003, AGEing and osteoarthritis: a different perspective, *Curr Opin Rheumatol*, 15(5), p. 616-22.
  23. Srikanth, V.K., Fryer, J.L., Zhai, G., Winzenberg, T.M., Hosmer, D., Jones, G., 2005, A meta-analysis of sex differences prevalence, incidence and severity of osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, 13(9), p. 769-81.
  24. Neogi, T., 2013, The epidemiology and impact of pain in osteoarthritis, *Osteoarthritis Cartilage*, 21(9), p. 1145-53.
  25. Warner, S.C., Valdes, A.M., 2017, Genetic association studies in osteoarthritis: is it fairytale?, *Curr Opin Rheumatol*, 29(1), p. 103-109.
  26. Palazzo, C., Nguyen, C., Lefevre-Colau, M., Rannou, F., Poiraudou, S., 2016, Risk factors and burden of osteoarthritis, *Ann Phys Rehabil Med*, 59(3), p. 134-138.
  27. Snead, M.P., Yates, J.R., 1999, Clinical and Molecular genetics of Stickler syndrome, *J Med Genet*, 36(5), p. 353-9
  28. Silverwood, V., Blagojevic-Bucknall, M., Jink, C., Jordan, J.L., Protherroe, J., Jordan, K.P., 2015, Current evidence on risk factors for knee osteoarthritis in older adults: a systematic review and meta-analysis, *Osteoarthritis Cartilage*, 23(4), p. 507-15.
  29. Roos, H., Adalberth, T., Dahlberg, L., Lohmander, L.S., 1995, Osteoarthritis of the knee after injury to the anterior cruciate ligament or meniscus: the influence of time and age, *Osteoarthritis Cartilage*, 3(4), p. 261-7.
  30. Struglics, A., Larsson, S., Kumahashi, N., Frobell, R., Lohmander, L.S., 2015, Changes in Cytokines and Aggrecan ARGS Neoepitope in Synovial Fluid and Serum and in C-Terminal Crosslinking Telopeptide of Type II Collagen and N-Terminal Crosslinking Telopeptide of Type I Collagen in Urine Over Five Years After Anterior Cruciate Ligament Rupture: An Exploratory Analysis in the Knee Anterior Cruciate

- Ligament, Nonsurgical Versus Surgical Treatment Trial, *Arthritis Rheumatol*, 67(7), p. 1816-25.
31. Riordan, E.A., Frobell, R.B., Roemer, F.W., Hunter, D.J., 2013, The health and structural consequences of acute knee injuries involving rupture of the anterior cruciate ligament, *Rheum Dis Clin North Am*, 39(1), p. 107-122.
  32. Kumahashi, N., Sward, P., Larsson, S., Lohmander, L.S., Frobell, R., Struglics, A., 2015, Type II collagen C2C epitope in human synovial fluid and serum after knee injury--associations with molecular and structural markers of injury, *Osteoarthritis Cartilage*, 23(9), p. 1506-12.
  33. Tammachote, N., Kanitnate, S., Yakumpor, T., Panichkul, P., 2016, Intra-Articular, Single-Shot Hylan G-F 20 Hyaluronic Acid Injection Compared with Corticosteroid in Knee Osteoarthritis: A Double-Blind, Randomized Controlled Trial, *J Bone Joint Surg Am*, 98(11), p. 885-892.
  34. Katz, J.N., Earp, B.E., Gomoll, A.H., 2010, Surgical management of osteoarthritis, *Arthritis care & research*, 62(9), p. 1220-1228.
  35. Hermann, W., Lambova, S., Muller-Ladner, U., 2018, Current Treatment Options for Osteoarthritis, *Curr Rheumatol Rev*, 14(2), p. 108-116.
  36. Singh, J.R., Haffey, P., Valimahomed, A., Gellhorn, A.C., 2019, The Effectiveness of Autologous Platelet-Rich Plasma for Osteoarthritis of the Hip: A Retrospective Analysis, *Pain Med*, 20(8), p. 1611-1618.
  37. Gato-Calvo, L., Magalhaes, J., Ruiz-Romero, C., Blanco, F.J., Burguera, E.F., 2019, Platelet-rich plasma in osteoarthritis treatment: review of current evidence, *Ther Adv Chronic Dis*, 10, p. 2040622319825567.
  38. Friedenstein, A.J., Chailakhyan, R.K., Gerasimov, U.V., 1987, Bone marrow osteogenic stem cells: in vitro cultivation and transplantation in diffusion chambers, *Cell Tissue Kinet*, 20(3), p. 263-72.
  39. Caplan, A.I., 1991, Mesenchymal stem cells, *J Orthop Res*, 9(5), p. 641-50.
  40. Roufosse, C.A., Direkze, N.C., Otto, W.R., Wright, N.A., 2004, Circulating mesenchymal stem cells, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 36(4), p. 585-597.
  41. Dominici, M., Blanc, K.L., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A., Prockop, D., Horwitz, E., 2006, Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement, *Cytotherapy*, 8(4), p. 315-7.
  42. Seshareddy, K., Troyer, D., Weiss, M.L., 2008, Method to isolate mesenchymal-like cells from Wharton's Jelly of umbilical cord, *Methods Cell Biol*, 86, p. 101-19.

43. Bongso, A., Fong, C.Y., Gauthaman, K., 2008, Taking stem cells to the clinic: Major challenges, *J Cell Biochem*, 105(6), p. 1352-60.
44. Can, A., Karahuseyinoglu, S., 2007, Concise review: human umbilical cord stroma with regard to the source of fetus-derived stem cells, *Stem Cells*, 25(11), p. 2886-95.
45. Kolf, C.M., Cho, E., Tuan, R.S., 2007, Mesenchymal stromal cells: Biology of adult mesenchymal stem cells: regulation of niche, self-renewal and differentiation, *Arthritis Research & Therapy*, 9(1), p. 204.
46. He, S., Nakada, D., Morrison, S.J., 2009, Mechanisms of stem cell self-renewal, *Annu Rev Cell Dev Biol*, 25, p. 377-406.
47. Pittenger, M.F., Mackay, A.M., Beck, S.C., et al., 1999, Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells, *Science*, 284(5411), p. 143-7.
48. Jiang, Y., et al., 2002, Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow, *Nature*, 418(6893), p. 41-9.
49. Schwartz, R.E., et al., 2002, Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells, *J Clin Invest*, 109(10), p. 1291-302.
50. Tropel, P., et al., 2006, Functional neuronal differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells, *Stem Cells*, 24(12): p. 2868-76.
51. Rose, R.A., Keating, A., Backx, P.H., 2008, Do mesenchymal stromal cells transdifferentiate into functional cardiomyocytes?, *Circ Res*, 103(9), p. e120.
52. Puissant, B., et al., 2005, Immunomodulatory effect of human adipose tissue-derived adult stem cells: comparison with bone marrow mesenchymal stem cells, *Br J Haematol*, 129(1), p. 118-29.
53. Selmani, Z., et al., 2008, Human leukocyte antigen-G5 secretion by human mesenchymal stem cells is required to suppress T lymphocyte and natural killer function and to induce CD4<sup>+</sup>CD25<sup>high</sup>FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells, *Stem Cells*, 26(1), p. 212-22.
54. Corcione, A., et al., 2006, Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions, *Blood*, 107(1), p. 367-72.
55. Ramasamy, R., Fazekasova, H., Lam, E.W-F., Soeiro, I., Lombardi, G., Dazzi, F., 2007, Mesenchymal stem cells inhibit dendritic cell differentiation and function by preventing entry into the cell cycle, *Transplantation*, 83(1), p. 71-6.
56. Spaggiari, G.M., Capobianco, A., Becchetti, S., Mingari, M.C., Morretta, L., 2006, Mesenchymal stem cell-natural killer cell interactions: evidence that activated NK cells are capable of killing MSCs, whereas MSCs can inhibit IL-2-induced NK-cell proliferation, *Blood*, 107(4), p. 1484-90.
57. Son, B.-R., et al., 2006, Migration of bone marrow and cord blood mesenchymal stem cells in vitro is regulated by stromal-derived factor-

- 1-CXCR4 and hepatocyte growth factor-c-met axes and involves matrix metalloproteinases, *Stem Cells*, 24(5), p. 1254-1264.
58. Forte, G., et al., 2006, Hepatocyte growth factor effects on mesenchymal stem cells: proliferation, migration, and differentiation, *Stem Cells*, 24(1), p. 23-33.
  59. Hsieh, J.Y., et al., 2010, Functional module analysis reveals differential osteogenic and stemness potentials in human mesenchymal stem cells from bone marrow and Wharton's jelly of umbilical cord, *Stem Cells Dev*, 19(12), p. 1895-910.
  60. Fong, C.Y., et al., 2011, Human Wharton's jelly stem cells have unique transcriptome profiles compared to human embryonic stem cells and other mesenchymal stem cells, *Stem Cell Rev*, 7(1), p. 1-16.
  61. Troyer, D.L., Weiss, M.L., 2008, Wharton's jelly-derived cells are a primitive stromal cell population, *Stem Cells*, 26(3), p. 591-9.
  62. Couto, P.S., et al., 2019, First decade of clinical trials and published studies with mesenchymal stromal cells from umbilical cord tissue, *Regen Med*, 14(4), p. 309-319.
  63. Lalu, M.M., et al., 2012, Safety of cell therapy with mesenchymal stromal cells (SafeCell): a systematic review and meta-analysis of clinical trials, *PLoS One*, 7(10), p. e47559.
  64. Peeters, C.M.M., et al., 2013, Safety of intra-articular cell-therapy with culture-expanded stem cells in humans: a systematic literature review, *Osteoarthritis and Cartilage*, 21(10), p. 1465-1473.
  65. Bùi Hồng Thiên Khanh, 2013, *Điều trị thoái hóa khớp gối bằng tế bào gốc lấy từ mỡ tự thân*, Tạp chí Chấn thương Chỉnh hình Việt Nam, Số Đặc biệt(135-137)
  66. Mai Trọng Khoa, Nguyễn Mai Hồng, 2015, Đánh giá kết quả phục hồi sụn khớp và cải thiện triệu chứng trên 48 khớp gối thoái hóa nguyên phát điều trị bằng liệu pháp tế bào gốc mô mỡ tự thân sau 6 tháng, *Y học Việt nam*, 429(Số đặc biệt) p. 218-224.
  67. Altman, R.D., 1991, Criteria for classification of clinical osteoarthritis, *J Rheumatol Suppl*, 27, p. 10-2.
  68. Liu, Z.J., Zhuge, Y., Velazquez, O.C., 2009, Trafficking and differentiation of mesenchymal stem cells, *J Cell Biochem*, 106(6): p. 984-91.
  69. Han, Y.F., Tao, R., Sun, T.J., Chai, J.K., Xu, G., Liu, J., 2013, Optimization of human umbilical cord mesenchymal stem cell isolation and culture methods, *Cytotechnology*, 65(5): p. 819-27.
  70. Pham.P.V., Vu.N.B., Phan.N.K., 2016, Umbilical cord-derived stem cells (MODULATISTTM) show strong immunomodulation capacity compared to adipose tissue-derived or bone marrow-derived mesenchymal stem cells, *Biomed Res Ther*, 3(6), p. 687-696.
  71. Van Pham, P., Truong, N.C., Le, P.T.B., Tran, T.D.X., Vu, N.B., Bui, K.H.T., Phan, N.K., 2016, Isolation and proliferation of umbilical cord

- tissue derived mesenchymal stem cells for clinical applications, *Cell Tissue Bank*, 17: p. 289–302.
72. Seo, K.W., et al., 2009, OCT4A contributes to the stemness and multipotency of human umbilical cord blood-derived multipotent stem cells (hUCB-MSCs), *Biochem Biophys Res Commun*, 384(1), p. 120-5.
  73. Meissner-Roloff, M., et al., 2018, Strategies for screening cord blood for a public cord blood bank in high HIV prevalence regions, *Glob Health Epidemiol Genom*, 3, p. e9.
  74. European Union, 2006, COMMISSION DIRECTIVE 2006/17/EC implementing Directive 2004/23/EC of the European Parliament and of the Council as regards certain technical requirements for the donation, procurement and testing of human tissues and cells, *The Journal of European Union*.
  75. Salehinejad, P., et al., 2012, Comparison of different methods for the isolation of mesenchymal stem cells from human umbilical cord Wharton's jelly, *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 48(2), p. 75-83.
  76. Schugar, R.C., et al., 2009, High harvest yield, high expansion, and phenotype stability of CD146 mesenchymal stromal cells from whole primitive human umbilical cord tissue, *J Biomed Biotechnol*, 2009, p. 789526.
  77. La Rocca, G., et al., 2009, Isolation and characterization of Oct-4+/HLA-G+ mesenchymal stem cells from human umbilical cord matrix: differentiation potential and detection of new markers, *Histochem Cell Biol*, 131(2), p. 267-82.
  78. Chamberlain, G., et al., 2007, Concise review: mesenchymal stem cells: their phenotype, differentiation capacity, immunological features, and potential for homing, *Stem Cells*, 25(11), p. 2739-49.
  79. Weiss, M.L., et al., 2006, Human umbilical cord matrix stem cells: preliminary characterization and effect of transplantation in a rodent model of Parkinson's disease, *Stem Cells*, 24(3), p. 781-92.
  80. Xu, Y., et al., 2011, Promising new potential for mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord Wharton's jelly: sweat gland cell-like differentiative capacity, *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 6(8), p. 645-54.
  81. Grimes, B.R., et al., 2009., Interphase FISH Demonstrates that Human Adipose Stromal Cells Maintain a High Level of Genomic Stability in Long-Term Culture, 18(5), p. 717-724.
  82. de Witte, S.F.H., et al., 2017, Aging of bone marrow- and umbilical cord-derived mesenchymal stromal cells during expansion, *Cytotherapy*, 19(7), p. 798-807.
  83. Wakitani, S., et al., 2007, Repair of articular cartilage defects in the patello-femoral joint with autologous bone marrow mesenchymal cell transplantation: three case reports involving nine defects in five knees, *J Tissue Eng Regen Med*, 1(1), p. 74-9.

84. Davatchi, F., et al., 2016, Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis: 5 years follow-up of three patients, *Int J Rheum Dis*, 19(3), p. 219-225.
85. Davatchi, F., et al., 2011, Mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. Preliminary report of four patients, *Int J Rheum Dis*, 14(2), p. 211-5.
86. Chahal, J., et al., 2019, Bone marrow mesenchymal stromal cell treatment in patients with osteoarthritis results in overall improvement in pain and symptoms and reduces synovial inflammation, *Stem Cells Transl Med*, 8(8), p. 746-57.
87. Koh, Y.G., et al., 2014, Second-Look Arthroscopic Evaluation of Cartilage Lesions After Mesenchymal Stem Cell Implantation in Osteoarthritic Knees, *Am J Sports Med*, 42(7), p. 1628-37
88. Freitag, J., et al., 2019, Adipose-derived mesenchymal stem cell therapy in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized controlled trial, *Regen Med*, 14(3), p. 213-230.
89. Park, Y.-B., et al., 2017, Cartilage Regeneration in Osteoarthritic Patients by a Composite of Allogeneic Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells and Hyaluronate Hydrogel: Results from a Clinical Trial for Safety and Proof-of-Concept with 7 Years of Extended Follow-Up, *Stem Cells Transl Med*, 6(2), p. 613-621.
90. Matas, J., et al., 2019, Umbilical Cord-Derived Mesenchymal Stromal Cells (MSCs) for Knee Osteoarthritis: Repeated MSC Dosing Is Superior to a Single MSC Dose and to Hyaluronic Acid in a Controlled Randomized Phase I/II Trial, *Stem Cells Transl Med*, 8(3), p. 215-224
91. Dilogo, I.H., et al., 2020, Umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for treating osteoarthritis of the knee: a single-arm, open-label study, *Eur J Orthop Surg Traumatol*, 30(5), p. 799-807.
92. Mancuso, P., et al., 2019, Mesenchymal Stem Cell Therapy for Osteoarthritis: The Critical Role of the Cell Secretome, *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 7, p. 9-9.
93. Ankrum, J.A., Ong, J.F., Karp, J.M., 2014, Mesenchymal stem cells: immune evasive, not immune privileged, *Nat Biotechnol*, 32(3), p. 252-60.
94. Gupta, A., et al., 2020, Cell-free Stem Cell-Derived Extract Formulation for Regenerative Medicine Applications, *Int J Mol Sci*, 21(24), 9364.
95. Fabre, H., et al., 2019, Characterization of Different Sources of Human MSCs Expanded in Serum-Free Conditions with Quantification of Chondrogenic Induction in 3D, *Stem Cells International*, 2019, p. 2186728.
96. Gupta, A., et al., 2020, Umbilical cord-derived Wharton's jelly for regenerative medicine applications, *J Orthop Surg Res*, 15(1), p. 49

97. Jeong, S.Y., et al., 2013, Thrombospondin-2 secreted by human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells promotes chondrogenic differentiation, *Stem Cells*, 31(10), p. 2136-2148.
98. Barry, F., Murphy, M., 2013, Mesenchymal stem cells in joint disease and repair, *Nat Rev Rheumatol*, 9(10), p. 584-94.
99. ter Huurne, M., et al., 2012, Antiinflammatory and chondroprotective effects of intraarticular injection of adipose-derived stem cells in experimental osteoarthritis, *Arthritis Rheum*, 64(11), p. 3604-3613
100. Aggarwal, S., Pittenger, M.F., 2005, Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses, *Blood*, 105(4), p. 1815-22.
101. Duffy, M.M., et al., 2011, Mesenchymal stem cell inhibition of T-helper 17 cell- differentiation is triggered by cell-cell contact and mediated by prostaglandin E2 via the EP4 receptor, *Eur J Immunol*, 41(10), p. 2840-51.



## PHỤ LỤC 1

### PHIẾU ĐIỀU TRA TIỀN SỬ SỨC KHỎE (Dành cho người hiến mẫu)

#### TÀI LIỆU GIÁO DỤC

Đảm bảo cho việc thu thập mẫu của bạn an toàn!

#### VUI LÒNG ĐỌC THÔNG TIN NÀY TRƯỚC KHI BẠN HOÀN THÀNH CÂU HỎI TIỀN SỬ SỨC KHỎE

Nếu bạn có bất kỳ câu hỏi nào bây giờ hoặc vào bất kỳ lúc nào trong quá trình sàng lọc, vui lòng liên hệ với Trung tâm theo số 0986040610.

#### CHÍNH XÁC VÀ THÀNH THẬT LÀ CẦN THIẾT!

Sự hoàn thành trung thực của bạn trong việc trả lời tất cả các câu hỏi là rất quan trọng. Tất cả thông tin bạn cung cấp đều được bảo mật.

#### TRÁCH NHIỆM NGƯỜI HIẾN- THÔNG TIN CU THỂ

#### **Tại sao chúng tôi đặt câu hỏi về tiếp xúc tình dục:**

Quan hệ tình dục có thể gây ra các bệnh truyền nhiễm như HIV xâm nhập vào máu và lây lan qua truyền máu hoặc cấy ghép cho người khác.

#### **Định nghĩa của "quan hệ tình dục":**

Các từ "có quan hệ tình dục với" và "tình dục" được sử dụng trong một số câu hỏi mà chúng tôi sẽ hỏi bạn, và áp dụng cho bất kỳ hoạt động nào dưới đây dù có hoặc không sử dụng bao cao su hoặc các phương pháp phòng chống lây nhiễm khác:

1. Quan hệ tình dục âm đạo (tiếp xúc giữa dương vật và âm đạo)
2. Quan hệ tình dục bằng miệng (miệng hoặc lưỡi trên âm đạo, dương vật hoặc hậu môn của ai đó)
3. Quan hệ tình dục qua đường hậu môn (tiếp xúc giữa dương vật và hậu môn)

### **HIV / AIDS: Hoạt động rủi ro và triệu chứng**

AIDS là do HIV. HIV lây lan chủ yếu thông qua tiếp xúc tình dục với người bị nhiễm HOẶC bằng cách dùng chung kim tiêm hoặc ống tiêm dùng để tiêm chích ma túy.

THÔNG BÁO TRUNG TÂM NẾU BẠN:

- Có AIDS hoặc đã từng có xét nghiệm HIV dương tính
- Có bệnh Creutzfeldt-Jakob (bệnh bò điên, nhũn não)
- Đã sử dụng kim tiêm để dùng ma túy, steroids, hoặc bất cứ thứ gì không được bác sĩ kê toa trong 5 năm qua
- Là một nam giới có quan hệ tình dục với một người đàn ông khác, dù chỉ một lần, trong 5 năm qua
- Đã lấy tiền, ma túy hoặc các khoản thanh toán khác cho tình dục trong 5 năm qua
- Đã có quan hệ tình dục trong 12 tháng qua với bất kỳ ai được mô tả ở trên
- Đã có giang mai hoặc bệnh lậu trong 12 tháng qua
- Trong 12 tháng qua đã bị giam giữ, tạm giữ, quản thúc hoặc tù giam trong vòng 72 giờ
- Có bất kỳ tình trạng nào sau đây có thể là dấu hiệu hoặc triệu chứng của HIV / AIDS:

- Giảm cân không rõ nguyên nhân hoặc đổ mồ hôi ban đêm
- Các đốm màu xanh hoặc tím trong miệng hoặc da của bạn
- Các hạch bạch huyết bị sưng trong hơn một tháng
- Các đốm trắng hoặc vết loét bất thường trong miệng của bạn
- Ho kéo dài hoặc khó thở
- Tiêu chảy kéo dài
- Sốt hơn 38°C trong hơn 10 ngày
- Hãy nhớ rằng bạn CÓ THỂ trao HIV cho người khác ngay cả khi bạn cảm thấy khỏe và có xét nghiệm HIV âm tính. Điều này là do các xét nghiệm không thể phát hiện nhiễm trùng trong một khoảng thời gian sau khi một người phơi nhiễm với HIV.

Nếu bạn nghĩ rằng bạn có nguy cơ bị nhiễm HIV / AIDS, vui lòng thông báo cho Trung tâm theo số điện thoại 0986040610

## CÂU HỎI VỀ TIỀN SỬ SỨC KHỎE

### DANH SÁCH THUỐC

Vui lòng cho chúng tôi biết nếu bạn đã từng sử dụng bất kỳ loại thuốc nào sau đây:

- Hormone tăng trưởng từ tuyến yên của con người - thường được sử dụng cho trẻ em bị chậm hoặc suy giảm phát triển.
- Insulin từ bò (bò, hoặc bê, Insulin) - được sử dụng để điều trị bệnh tiểu đường.
- Globulin miễn dịch Viêm gan B - được sử dụng sau khi phơi nhiễm với virus viêm gan B.

LUU Ý: Điều này khác với vắc-xin viêm gan B, là một loạt 3 mũi tiêm được tiêm trong khoảng thời gian 6 tháng để ngăn ngừa nhiễm trùng trong tương lai khi tiếp xúc với bệnh viêm gan B.

- Vaccine chưa được cấp phép - thường dưới hình thức tham gia nghiên cứu.

**NẾU BẠN MUỐN BIẾT TẠI SAO CÁC THUỐC NÀY ẢNH HƯỞNG ĐẾN BẠN NHƯ LÀ NGƯỜI HIẾN, XIN VUI LÒNG ĐỌC:**

- Hoóc môn tăng trưởng từ tuyến yên của người được quy định đối với trẻ bị chậm hoặc suy giảm. Hormone này được lấy từ tuyến yên của người, được tìm thấy trong não. Một số người dùng hormone này phát triển một tình trạng hệ thần kinh hiếm gặp gọi là bệnh Creutzfeldt - Jakob (gọi tắt là CJD). Các người hiến tiềm năng đã sử dụng hormone tăng trưởng từ tuyến yên của con người cần được Giám đốc Trung tâm Tế bào gốc đánh giá.

- Insulin từ bò (bò, hoặc bê, insulin) là một thuốc tiêm dùng để điều trị bệnh tiểu đường. Nếu insulin này được nhập khẩu vào Việt Nam từ các quốc gia trong đó "Bệnh bò điên" đã được tìm thấy, nó có thể chứa nguyên liệu từ gia súc bị nhiễm bệnh. Có lo ngại rằng "Bệnh bò điên" được lây truyền qua truyền máu và cấy ghép. Các người hiến tiềm năng đã sử dụng insulin từ bò phải được Giám đốc Trung tâm Tế bào gốc đánh giá.

- Globulin miễn dịch viêm gan B (HBIG) là một thuốc tiêm được sử dụng để ngăn ngừa nhiễm trùng sau khi phơi nhiễm với virus viêm gan B. HBIG

không ngăn ngừa nhiễm viêm gan B trong mọi trường hợp, do đó các người hiến tiềm năng đã sử dụng Globulin miễn dịch viêm gan B cần được Giám đốc Trung tâm Tế bào gốc đánh giá để chắc chắn rằng họ không bị nhiễm bệnh. Viêm gan B có thể lây truyền qua truyền máu và cấy ghép cho bệnh nhân.

- Vaccine chưa được cấp phép thường được sử dụng trong các nghiên cứu và hiệu quả đối với người nhận tế bào gốc chưa được xác định. Các người hiến tiềm năng đã sử dụng vắc xin chưa cấp phép nên được Giám đốc Trung tâm Tế bào gốc đánh giá.



## TIỀN SỬ SỨC KHỎE

Vui lòng hoàn thành toàn bộ Bảng Câu hỏi về Tiền sử sức khỏe, bao gồm cả việc làm rõ cho câu trả lời Có.

Tên Khách hàng: \_\_\_\_\_ Số điện thoại: \_\_\_\_\_

		Có	Không	Không biết												
1.	Bạn có đang dùng kháng sinh không? Nếu <b>Có</b> , tên thuốc và lý do? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												
2.	Bạn có đang sử dụng đơn thuốc điều trị bất cứ một bệnh nhiễm trùng nào không? Nếu <b>Có</b> , tên thuốc và lý do? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												
3.	Hãy đọc danh sách đơn thuốc (trang 3). Bạn có đang sử dụng hoặc đã từng sử dụng bất cứ loại nào trong danh sách đó không? Nếu có hãy liệt kê tên và ngày bắt đầu và kết thúc sử dụng:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tên thuốc</th> <th>Ngày bắt đầu</th> <th>Ngày kết thúc</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> <tr> <td> </td> <td> </td> <td> </td> </tr> </tbody> </table>	Tên thuốc	Ngày bắt đầu	Ngày kết thúc												
Tên thuốc	Ngày bắt đầu	Ngày kết thúc														
4.	Bạn đã đọc phần tài liệu giáo dục (trang 1 và 2) chưa?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												
5.	Trong 12 tuần vừa qua bạn có tiêm vắc xin cúm không?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												
	Trong 12 tuần vừa qua bạn có tiêm bất cứ một vắc xin nào khác không? Nếu có, tên vaccine: _____ Lý do: _____ Ngày: _____ Đường dùng: (tiêm; xịt mũi hoặc uống): _____ Có phải vắc xin đậu mùa? <input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không Nếu có, tiêm vắc xin đậu mùa không đủ 21 ngày trước khi sinh? <input type="checkbox"/> Có <input type="checkbox"/> Không	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>												

	<p><b>Nếu đã tiêm đầu mùa nhiều hơn 21 ngày, <u>kiểm tra xem</u>:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Vết sẹo vẫn còn</p> <p><input type="checkbox"/> Vết sẹo bay mất</p>			
6.	<p>Trong vòng 12 tuần vừa qua bạn có tiếp xúc với bất cứ ai tiêm vắc xin đầu mùa không?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, bạn đã có bất kỳ phát ban da mới, đau da hoặc biến chứng nghiêm trọng kể từ thời điểm tiếp xúc? <input type="checkbox"/> <b>Có</b></p> <p><input type="checkbox"/> <b>Không</b> Ngày hết triệu chứng _____</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.	<p>Trong 12 tháng vừa qua bạn đã từng được các nhân viên y tế nói là bạn bị nhiễm virus West Nile hoặc dương tính với bất cứ xét nghiệm nào với virus West Nile chưa?</p> <p>Nếu <b>Có</b> là khi nào (ngày)? _____</p> <p>Khi nào bạn đã điều trị hết các triệu chứng (ngày)? _____</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có truyền máu không? Nếu <b>Có</b>, ngày nào? _____</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có tiếp xúc với máu của người khác không?</p> <p><b>Nếu Có</b>, kiểm tra xem liệu người đó có hoặc nghi ngờ có:</p> <p><input type="checkbox"/> HIV/AIDS <input type="checkbox"/> Viêm gan B <input type="checkbox"/> Viêm gan C</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có bị tai nạn kim tiêm chọc vào người không?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, Bạn có bị phơi nhiễm với máu của người khác có trên kim tiêm không? <input type="checkbox"/> <b>Có</b> <input type="checkbox"/> <b>Không</b> <b>Nếu Có</b>, Kiểm tra xem liệu người đó có hoặc nghi ngờ có:</p> <p><input type="checkbox"/> HIV/AIDS <input type="checkbox"/> Viêm gan B <input type="checkbox"/> Viêm gan C</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có ghép, cấy ghép sản phẩm từ người khác (ví dụ tạng, tủy xương, tế bào gốc, giác mạc, củng mạc, xương, da, các mô khác) không?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, loại nào và khi nào? _____</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có quan hệ tình dục với người có HIV hoặc xét nghiệm dương tính với virus HIV không?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, khi nào? _____</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

13.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có quan hệ tình dục với giới mại dâm hay với người quan hệ tình dục để đổi lấy tiền, ma túy, hay bất cứ gì khác không?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, người đó đã thực hiện hành động nguy cơ cao đó <u>trong vòng 5 năm vừa qua</u>?</p> <p><input type="checkbox"/> <b>Có</b>                      <input type="checkbox"/> <b>Không</b></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có quan hệ tình dục với bất cứ người nào tiêm chích ma túy, steroids hoặc bất cứ cái gì không theo hướng dẫn của bác sĩ không?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, người đó đã thực hiện hành động nguy cơ cao đó <u>trong vòng 5 năm vừa qua</u>?</p> <p><input type="checkbox"/> <b>Có</b>                      <input type="checkbox"/> <b>Không</b></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có quan hệ tình dục với một người đàn ông có quan hệ tình dục đồng giới không? Nếu <b>Có</b>, người đó đã thực hiện hành động nguy cơ cao đó <u>trong vòng 5 năm vừa qua</u>?</p> <p><input type="checkbox"/> <b>Có</b>                      <input type="checkbox"/> <b>Không</b></p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có quan hệ tình dục với người bị viêm gan không? Nếu <b>Có</b>, <b>kiểm tra xem là loại gì:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Viêm gan A</p> <p><input type="checkbox"/> Viêm gan B</p> <p><input type="checkbox"/> Viêm gan C có triệu chứng <b>Hoặc</b> <input type="checkbox"/> Viêm gan C không triệu chứng</p> <p><input type="checkbox"/> Không phải virus</p> <p><input type="checkbox"/> Không rõ loại virus nào</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có sống cùng người bị viêm gan không? Nếu <b>Có</b>, <b>kiểm tra xem là loại gì:</b></p> <p><input type="checkbox"/> Viêm gan A</p> <p><input type="checkbox"/> Viêm gan B</p> <p><input type="checkbox"/> Viêm gan C có triệu chứng <b>Hoặc</b> <input type="checkbox"/> Viêm gan C không triệu chứng</p> <p><input type="checkbox"/> Không phải virus</p> <p><input type="checkbox"/> Không rõ loại virus nào</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18.	<p>Trong 12 tháng qua bạn có xăm hình không (kể cả xăm thẩm mỹ)?</p> <p>Nếu <b>Có</b>, kiểm tra xem đã áp dụng loại nào</p>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>



	<input type="checkbox"/> Thực hiện tại doanh nghiệp xăm. Doanh nghiệp đó ở thành phố nào? _____ <input type="checkbox"/> Thực hiện chỉ sử dụng kim vô trùng và mực không tái sử dụng.			
19.	Trong 12 tháng qua bạn có bấm khuyên tai hoặc khuyên trên cơ thể không? Nếu <b>Có</b> , Ngày bấm khuyên: _____ Nếu <b>Có</b> , Bạn có dùng khuyên vô trùng và thiết bị dùng 1 lần không? <input type="checkbox"/> <b>Có</b> <input type="checkbox"/> <b>Không</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20.	Trong 12 tháng qua bạn đã từng và đang điều trị bệnh giang mai hoặc các nhiễm trùng lây qua đường tình dục không? Nếu <b>Có</b> , kiểm tra xem loại nào: <input type="checkbox"/> Thẻ điều trị dự phòng <input type="checkbox"/> Thẻ hoạt động (đang phát bệnh hoặc đang được điều trị) của HPV, Herpes sinh dục hoặc lậu <input type="checkbox"/> Giang mai	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
21.	Trong 12 tháng qua bạn đã là vị thành niên và bị tạm giam, giam cầm, ngồi tù trong hơn 72 giờ liên tục không? Nếu <b>Có</b> , khi nào và bao lâu _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
22.	Trong 3 năm vừa qua bạn có ra ngoài biên giới Việt Nam không? Nếu <b>Có</b> , hãy hoàn thành trang 2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
23.	Trong 5 năm vừa qua bạn có quan hệ tình dục để đổi lấy tiền, ma túy hay bất cứ thứ gì không?	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
24.	Trong 5 năm vừa qua bạn có kim tiêm chích ma túy, steroids hoặc bất cứ thứ gì không được bác sĩ chỉ định không? Nếu <b>Có</b> , khi nào và cái gì? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
25.	Bạn có bao giờ thử nghiệm dương tính với virus HIV / AIDS không	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
26.	Bạn có bao giờ bị viêm gan hoặc xét nghiệm dương tính với viêm gan? Nếu có, hãy kiểm tra xem: <input type="checkbox"/> TRƯỚC sinh nhật lần thứ 11 của bạn <input type="checkbox"/> Không phải Viêm gan siêu vi (không phải do viêm gan loại B hoặc viêm gan C)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
27.	Bạn đã từng bị sốt rét chưa? Nếu có, bạn đã không có triệu chứng trong hơn 3 năm? <input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	<b>Có</b> <input type="checkbox"/> <b>Không</b>			
28	Bạn có bao giờ bị bệnh Chagas (bệnh ngủ) và / hoặc xét nghiệm dương tính với ký sinh trùng <i>Trypanosoma cruzi</i> không? Nếu có, khi nào? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
29	Bạn đã từng bị bệnh babesiosis (giống sốt rét do nhiễm Babesia) chưa? Nếu có, khi nào? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
30	Bạn có bao giờ nhận được một mảnh ghép (hoặc hộp sọ)? Nếu có, đó là: <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Nguồn gốc từ người <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Nguồn gốc không từ người <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> Không xác định	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
31	Bạn có bao giờ bị chẩn đoán mắc bệnh thần kinh không? Nếu có, hãy kiểm tra xem chẩn đoán đó là: <input type="checkbox"/> vCJD / CJD (bệnh Creutzfeldt – Jakob, bệnh bò điên) <input type="checkbox"/> Chứng mất trí, thoái hóa hoặc thoái hóa hệ thần kinh trung ương <input type="checkbox"/> Nguồn gốc không xác định	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
32	Bạn có bao giờ bị cấy ghép hoặc thủ thuật y tế khác liên quan đến việc tiếp xúc với tế bào sống, mô, hoặc cơ quan từ động vật không? Nếu có là gì? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
33	Bạn có bao giờ thử nghiệm dương tính với HTLV, có bệnh tế bào bạch cầu T trưởng thành, hoặc có paraparesis không giải thích được (tê liệt một phần ảnh hưởng đến chi dưới?) Nếu có, cái nào và khi nào? _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
34	Bạn tình của bạn hoặc một thành viên trong gia đình bạn đã từng được cấy ghép hoặc tiến hành thủ thuật y tế khác liên quan đến việc tiếp xúc với tế bào sống, mô hoặc cơ quan từ động vật? Nếu có, bạn có bị tiếp xúc với máu, nước bọt hoặc chất dịch cơ thể khác của người đó không? <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <b>Có</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <b>Không</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
35	Người thân của bạn, cha của đứa trẻ hoặc bất kỳ người thân nào khác của đứa bé mắc bệnh Creutzfeldt-Jakob không? Nếu có, hãy kiểm tra xem chúng có phải là: <input type="checkbox"/> <b>Liên quan đến máu</b> , là căn bệnh do kết quả của một thủ thuật phẫu thuật hoặc tiêm hormone tăng trưởng? <input type="checkbox"/> <b>Có</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <b>Không</b> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <b>Không biết</b> <input type="checkbox"/> <b>Liên quan đến hôn nhân</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
36	Bạn có bị ung thư, rối loạn di truyền hoặc bệnh di truyền hay bệnh tự miễn? Nếu có, vui lòng cung cấp:	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

	Loại ung thư/Rối loạn / Bệnh	Thời điểm phát hiện (tháng/năm)	Hiện trạng của ung thư, bệnh			
37	Cha bạn, anh chị em ruột của bạn, ông bà bạn hoặc anh chị em ruột của cha bạn có bị ung thư, bệnh di truyền hoặc rối loạn di truyền hay bệnh tự miễn không?			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Quan hệ với đứa trẻ	Quan hệ bên nội hay bên ngoại	Loại ung thư, rối loạn, bệnh	Thời điểm phát hiện (tháng/năm)	Hiện trạng của ung thư/bệnh	
38	Trong bất cứ thời điểm nào trong thai kỳ, bạn có chẩn đoán nhiễm virus Zika không?			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
39	Trong suốt thai kỳ, bạn có sống hoặc đi tời các khu vực có lưu hành lây nhiễm virus Zika không? (Thao khảo khu vực lưu hành lây nhiễm virus Zika tại: <a href="http://www.cdc.gov/zika/geo/index.html">http://www.cdc.gov/zika/geo/index.html</a> )			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
40	Trong suốt thai kỳ, bạn có từng quan hệ tình dục với người đàn ông mà trong vòng 6 tháng trước đó có nhiễm virus Zika hoặc sống hoặc du lịch tới vùng có lưu hành lây nhiễm virus Zika không?			<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Tên của sản phụ và/hoặc mẹ sinh

học:.....

Chữ ký của sản phụ và /hoặc mẹ sinh

học: \_\_\_\_\_ Ngày: \_\_\_\_\_

## PHỤ LỤC 2

### ĐƠN TÌNH NGUYỆN HIẾN MÔ/MÁU DÂY RÓN

**Kiến thức cơ bản:** Dây rón vốn dĩ là một rác thải y học và thường bị vứt bỏ. Năm 1991, các nhà khoa học đã phát hiện ra mô dây rón chứa rất nhiều tế bào gốc. Các tế bào này có nhiều ứng dụng trong ngành y học tái tạo. Hiện nay trên thế giới cũng như tại Việt Nam, tế bào gốc dây rón đã được ứng dụng để điều trị nhiều bệnh như: bệnh khớp, bệnh phổi tắc nghẽn mạn tính, bệnh nhồi máu cơ tim, bệnh đái tháo đường, bệnh lupus ban đỏ, vv... Tiềm năng ứng dụng tế bào gốc dây rón trong y học là rất lớn.

Việc hiến mô dây rón không gây ra bất cứ ảnh hưởng nào đến sức khỏe của bạn và con bạn. Chúng tôi sẽ sử dụng dây rón vẫn thường bỏ đi đó để phân lập tế bào gốc.

**Quy trình thu thập tế bào gốc dây rón:** Bạn sẽ trả lời chi tiết cho một bảng câu hỏi về tiền sử sức khỏe của bản thân và gia đình bạn. Các câu hỏi này nhằm cung cấp thông tin về cách sống của bạn hiện tại cũng như trong quá khứ bao gồm cả các câu hỏi liên quan đến tình dục và việc sử dụng các chất ma túy. Các bác sĩ cũng sẽ xem xét hồ sơ sản của bạn và con bạn trong suốt quá trình từ khi mang thai cho đến khi sinh nở. Chúng tôi cam kết tất cả các thông tin này đều được giữ bí mật và chỉ được sử dụng nhằm đánh giá xem mẫu dây rón có đạt chất lượng để phân lập tế bào gốc sử dụng cho mục đích điều trị các bệnh nhân trong tương lai.

Dây rón sẽ được thu thập sau khi con bạn chào đời và được cắt dây rón như thường quy. Dây rón sẽ được chuyển về phòng thí nghiệm của Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh. Tại đây tế bào gốc dây rón sẽ được xử lý, phân lập và nuôi cấy tế bào gốc, đánh giá chất lượng. Nếu tế bào gốc thu được đạt chất lượng để sử dụng trong tương lai, chúng sẽ được đông lạnh và bảo quản tại Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh. Nếu chất lượng tế bào gốc không đạt được tiêu chuẩn chất lượng để sử dụng trong tương lai chúng sẽ bị tiêu hủy hoặc chỉ sử dụng cho mục đích nghiên cứu.

**Xét nghiệm:** Vào thời điểm thích hợp gần nhất trước hoặc sau sinh (trong vòng 7 ngày trước và sau khi sinh), bạn sẽ được lấy 2 ống máu (mỗi ống khoảng 3 ml) để tiến hành các xét nghiệm về bệnh truyền nhiễm như: viêm gan B (HbsAg, HbcAb), viêm gan C (HCV Ab), HIV (HIV-1/2 Ab), CMV

(CMV IgM), giang mai, Rubella-IgM và một số bệnh khác nếu thấy cần. Khi bạn ký vào đơn này có nghĩa là bạn đã đồng ý cho chúng tôi lấy máu và tiến hành xét nghiệm. Việc lấy máu có thể gây bầm tím và đau nhẹ tại vị trí lấy máu.

**Rủi ro:** Không có bất cứ rủi ro nào đối với bạn và con bạn vì dây rốn chỉ được thu thập sau khi bạn sinh con theo đúng thường quy.

**Quyền lợi:** Bạn và con bạn sẽ không nhận được bất cứ lợi ích gì từ việc bạn hiến dây rốn. Tuy nhiên có thể có nhiều người sẽ được chữa trị trong tương lai bằng tế bào gốc phân lập từ dây rốn mà bạn hiến tặng.

### **Các tiêu chuẩn dây rốn đủ chất lượng để được tuyển chọn**

#### **\* Với sản phụ:**

- Sản phụ đồng ý cho việc hiến máu/mô dây rốn của con mình trên cơ sở đã được tư vấn và hướng dẫn đầy đủ về lợi ích, rủi ro, mục đích và các quy trình sẽ thực hiện;
- Sản phụ mang thai tự nhiên, không có các bệnh lý kèm theo trước khi sinh: bệnh bẩm sinh, bệnh lao, bệnh ung thư, bệnh tự miễn, bệnh tâm thần, bệnh di truyền và các bệnh lý về sản khoa;
- Các xét nghiệm sàng lọc viêm gan B (HbsAg, HbcAb), viêm gan C (HCV Ab), HIV (HIV-1/2 Ab), CMV (CMV IgM), giang mai, Rubella-IgM có kết quả âm tính;
- Không có các tai biến sản khoa;
- Không sốt trong lúc chuyển dạ ( $< 38^{\circ}\text{C}$ );

#### **\* Với thai nhi:**

- Tuổi thai:  $> 36$  tuần;
- Sinh trước 24h tính từ lúc vỡ ối;
- Cân nặng trẻ sơ sinh  $\geq 2600$  gram;

### **Các tiêu chuẩn dây rốn không đủ chất lượng để được tuyển chọn:**

- Vi phạm ít nhất một trong các tiêu chuẩn nêu trên;
- Trẻ có dị tật bẩm sinh khi sinh ra;
- Dây rốn quá ngắn, bị đứt rời, dập nát, hư hỏng hoặc nghi ngờ bị nhiễm trùng;

**Thông tin khác:** Bạn sẽ không phải trả bất cứ một chi phí nào liên quan đến việc hiến tặng dây rốn. Nếu có bất cứ thông tin quan trọng nào đối với sức khỏe bạn và con bạn hoặc ảnh hưởng đến việc đủ điều kiện hiến tặng, chúng tôi sẽ thông báo cho bạn. Chúng tôi cam kết các thông tin về bạn và con bạn sẽ được bảo mật và chỉ được cung cấp cho các cơ quan quản lý nếu có yêu cầu.

Nếu bạn có bất cứ câu hỏi hay thắc mắc nào xin liên hệ với Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh theo số điện thoại 18006858 hoặc hotline 0986040610.

**Cam kết của sản phụ:** Những thông tin tôi đã cung cấp về tiền sử sức khỏe và các yếu tố nguy cơ có HIV là chính xác và đúng sự thật. Tôi hiểu rằng khi hiến dây rốn, con tôi và tôi sẽ không có bất cứ quyền gì đối dây rốn và các sản phẩm từ dây rốn từ thời điểm này và trong tương lai. Tôi đã đọc và hiểu tất cả các thông tin trình bày ở trên, tất cả các câu hỏi của tôi đã được trả lời. Tôi đồng ý hiến tặng mô dây rốn cũng như đồng ý lấy máu để xét nghiệm các bệnh truyền nhiễm và tôi cho phép chia sẻ thông tin hồ sơ sản khoa của tôi và con tôi với Trung tâm Tế bào gốc, Bệnh viện Đa khoa Tâm Anh do sự cần thiết để hỗ trợ việc hiến tặng dây rốn. Tôi cam kết không thắc mắc, khiếu nại, khiếu kiện bất kỳ tổ chức hoặc các nhân nào liên quan đến công việc hiến tặng dây rốn này.

---

Chữ ký của sản phụ

---

Ngày tháng năm

---

Tên sản phụ

---

Số thẻ căn cước

---

Ngày cấp

**Phụ lục 3:** Bảng đánh giá mức độ đau của bệnh nhân theo thang điểm VAS

Mức độ đau: được BN tự đánh giá theo thang điểm VAS.

Cách đánh giá: Theo thang điểm cường độ đau (0 - 10).

<b>0</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>	<b>7</b>	<b>8</b>	<b>9</b>	<b>10</b>
Không đau					Đau vừa					Rất đau

*Kết quả đánh giá*

<b>Mức độ đau</b>	<b>Thang điểm cường độ đau</b>
Đau nhẹ	1 – 3
Đau vừa	4 – 6
Đau nặng	Trên 7

**Phụ lục 4: Đánh giá tình trạng toàn thân: theo thang điểm Karnofski.**

100%	Không có triệu chứng rõ ràng của bệnh, khả năng hoạt động mạnh
90%	Khả năng hoạt động bình thường, triệu chứng bệnh tối thiểu
80%	Khả năng hoạt động bình thường nhưng phải có gắng. Có một triệu chứng của bệnh
70%	Không có khả năng làm việc hoạt động bình thường nhưng còn tự phục vụ
60%	Cần có sự trợ giúp cần thiết và được chăm sóc y tế.
50%	Cần có sự trợ giúp rất lớn và được chăm sóc y tế thường xuyên
40%	Không tự phục vụ tối thiểu, cần có sự trợ giúp liên tục và được chăm sóc đặc biệt
30%	Liệt giường, nằm viện nhưng chưa có nguy cơ tử vong
20%	Bệnh nặng, chăm sóc đặc biệt ở bệnh viện
10%	Hấp hối
0%	Tử vong

*Kết quả đánh giá*

- Đạt từ 80 – 100% là tốt.
- Đạt từ 60 – 70% là khá.
- Đạt từ 30 – 50% là trung bình.
- Đạt dưới 30% là kém.



**Phụ lục 5:** Thang điểm Lequesne đánh giá mức độ đau của bệnh nhân

<b>Tình trạng bệnh nhân</b>		T0	T4	T8	T12	T24
<b>I. Đau (hoặc khó chịu)</b>						
<b>1. Ban đêm, khi nằm trên giường</b>						
- Không đau	0					
- Đau khi cử động	1					
- Đau khi không cử động	2					
<b>2. Thời gian dấu hiệu phá vỡ khớp buổi sáng hoặc đau sau khi ngủ dậy</b>						
- Không	0					
- Dưới 15 phút	1					
- Trên 15 phút	2					
<b>3. Đau tăng khi đứng tại chỗ trong 30 phút</b>						
- Không	0					
- Có	1					
<b>4. Đau khi đi bộ</b>						
- Không đau	0					
- Chỉ xảy ra sau khi đi một khoảng cách nào đó	1					
- Đau ngay sau khi bắt đầu đi và ngày càng tăng	2					
<b>5. Đau hoặc khó chịu khi đổi tư thế từ ngồi sang đứng mà không vịn tay</b>						
- Không	0					
- Có	1					
<b>II. Phạm vi đi bộ tối đa (Kể cả tự nguyện chịu đau)</b>						
<b>1. Khoảng cách đi bộ tối đa</b>						
- Không giới hạn	0					
- > 1km nhưng giới hạn	1					
- Khoảng 1km (khoảng 15 phút)	2					
- Khoảng 500m - 900m (chừng 8-15 phút)	3					
- Khoảng 300m - 500m	4					
	5					
	6					

- Khoảng 100m - 300m					
- Dưới 100m	0				
<b>2. Cần trợ giúp bằng dụng cụ</b>	1				
- Không cần	2				
- Cần một gậy hoặc một nạng chống trợ giúp					
- Cần hai gậy hoặc hai nạng chống trợ giúp					
<b>III. Những hoạt động khác trong cuộc sống hàng ngày</b>					
<b>1. Lên cầu thang</b>	0				
- Dễ dàng	0,5				
- Hơi khó khăn	1,0				
- Khá khó khăn	1,5				
- Rất khó	2,0				
- Không thể					
<b>2. Xuống cầu thang</b>	0				
- Dễ dàng	0,5				
- Hơi khó khăn	1,0				
- Khá khó khăn	1,5				
- Rất khó	2,0				
- Không thể					
<b>3. Có thể ngồi xổm hoặc quỳ gối</b>	0				
- Dễ dàng	0,5				
- Hơi khó khăn	1,0				
- Khá khó khăn	1,5				
- Rất khó	2,0				
- Không thể					
<b>4. Có thể đi bộ trên mặt đất lồi lõm</b>	0				
- Dễ dàng	0,5				
- Hơi khó khăn	1,0				
- Khá khó khăn	1,5				
- Rất khó	2,0				
- Không thể					

chu