

V. KẾT LUẬN

Cắt trĩ theo Whitehead là phương pháp hiệu quả trong điều trị trĩ vòng hỗn hợp độ IV với tỷ lệ tái biến, biến chứng và tái phát thấp. Việc áp dụng phương pháp Whitehead với các dụng cụ hỗ trợ tùy thuộc vào thói quen của phẫu thuật viên.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Nguyễn Đắc Thao và Nguyễn Xuân Hùng, "Cắt trĩ phương pháp Whitehead: Những kĩ thuật cải biên và kết quả điều trị", Tạp chí Y Dược lâm sàng 108, 2019, 14(4), tr. 87-93.
2. Wolff B.G., Culp C.E., "The Whitehead hemorrhoidectomy: An unjustly maligned procedure", Diseases of the Colon & Rectum, 1998, 31(8), p. 587-590.
3. Kenan E., et al., "The Whitehead operation procedure: Is it a useful technique?", Turk J Surg, 2017, 33(3), p. 190-194.
4. Brisinda G. et al., "Surgical treatment of anal stenosis", World Journal of Gastroenterology, 15(16), 2009, tr. 1921-1928.
5. Maria G., et al., "Whitehead's hemorrhoidectomy . A useful surgical procedure in selected cases", Tech Coloproctol, 2001, 5, p. 93-96.
6. Mukhashavria G.A., Qarabaki M.A., "Circumferential excisional hemorrhoidectomy for extensive acute thrombosis: A 14-year experience", Diseases of the Colon & Rectum, 2011, 54(9), p. 1162-1169.
7. Agbo S.P., "Surgical Management of Hemorrhoids", J Surg Tech Case Rep, 2011, 3(2), p. 68-75.
8. Whitehead W. (1882), "The surgical treatment of hemorrhoids", British Medical Journal, 1882, 1, p. 148-150.

CÔNG NGHỆ SCAFFOLD ỨNG DỤNG TRONG CẤY GHÉP TẾ BÀO GỐC ĐIỀU TRỊ CÁC TỔN THƯƠNG CƠ XƯƠNG KHỚP

Dương Đình Toàn¹, Nguyễn Đình Hoà^{1,2}

TÓM TẮT

Scaffold là chất mang hay còn gọi là giá đỡ sinh học, hay giàn giáo sinh học, có vai trò quan trọng trong công nghệ cấy ghép tế bào gốc. Trong bài này chúng tôi xin giới sơ lược về scaffold, chất liệu, cấu trúc, các đặc tính của scaffold và cách tạo hình 3D scaffold

Từ khóa: Scaffold; giá đỡ sinh học, tế bào gốc

SUMMARY

SCAFFOLD TECHNOLOGY APPLICATION IN STEM CELL TRANSPLANTATION FOR MUSCULOSKELETAL INJURIES TREATMENT

Scaffold is a carrier or biological scaffold, or biological scaffold, that plays an important role in stem cell transplant technology. In this article, we would like to briefly introduce the scaffold, the materials, the structure, the properties of the scaffold and the 3D modeling of the scaffold.

Keywords: Scaffold; biological scaffold, stem cells

I. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ngày nay, với nhịp độ công việc ngày càng cao đã khiến các bệnh lý về xương khớp, sụn, gân, cơ và dây chằng ngày càng gia tăng, phổ biến nhất có thể kể đến bệnh thoái hóa khớp,

chấn thương xương... Đây đều là những căn bệnh khó chữa và đòi hỏi rất nhiều thời gian cũng như chi phí trị liệu, tuy nhiên với sự có mặt của công nghệ tế bào gốc các căn bệnh vốn được coi là mãn tính này đã có lời giải.

Mục tiêu của công nghệ mô là tái tạo các cấu trúc sinh học, nhằm sửa chữa hay thay thế các mô bị tổn thương. Ba yếu tố cấu thành nên công nghệ mô gồm:

- Đầu tiên, tế bào thích hợp phải hiện diện để tạo ra mô cấu trúc.

- Thứ hai, nhân tố phát triển thích hợp và các kích thích biệt hóa cho tế bào phải tồn tại để biến đổi tế bào thành dòng thích hợp.

- Thứ ba, các chất nền làm giàn scaffold (scaffold) hoạt động như là một bộ đỡ giúp cho sự bám dính tế bào, sự biệt hóa và sự trưởng thành mô mong muốn. Cấu trúc được tạo ra phải chuyên biệt vị trí và sát nhập tốt tại bề mặt cấy ghép của vật chủ.

Như vậy scaffold là một trong 3 yếu tố cấu thành công nghệ tế bào gốc đang được nghiên cứu, ứng dụng hiện nay.

II. TỔNG QUAN

2.1 Giàn scaffold sinh học. Scaffold là chất mang hay còn gọi là giá đỡ sinh học, hay giàn giáo sinh học, có vai trò quan trọng trong công nghệ cấy ghép tế bào gốc điều trị bệnh lý nói chung và các bệnh lý về cơ xương khớp nói riêng. Đó là một môi trường đặc biệt, giúp cho tế

¹Đại Học Y Hà Nội

²Bệnh viện HN Việt Đức

Chịu trách nhiệm chính: Dương Đình Toàn

Email: duongdinhtoan@hmu.edu.com

Ngày nhận bài: 13.9.2021

Ngày phản biện khoa học: 29.10.2021

Ngày duyệt bài: 15.11.2021

bào gốc bám dính, tăng sinh và biệt hóa. Scaffold là những chất tự nhiên trong cơ thể hoặc được tạo ra từ những chất liệu đặc biệt, được các nhà khoa học dày công nghiên cứu.

2.1.1 Vật liệu

• **Chất nền ngoại bào (Extracellular matrix – ECM).** Trong cơ thể, tế bào bị treo lơ lửng trong một giàn scaffold ba chiều gọi là chất nền ngoại bào (ECM). Chất nền ngoại bào này có vai trò nâng đỡ cơ học và cung cấp đầy đủ các dưỡng chất cần thiết cho sự tồn tại của tế bào. Để mô hình hóa tối ưu các điều kiện trong cơ thể, giàn scaffold có chứa hợp chất Hydroxyapatite (HA), một hợp chất tự nhiên được tìm thấy trong ECM (Salgado và cộng sự, 2004; Mastrogiacomo và cộng sự, 2005; Vial, 2008).

Tuy nhiên, tính ổn định cơ học của loại giàn scaffold này không cao.

• **Các polymer tự nhiên.** Các polymer tự nhiên như: collagen, fibrinogen, chitosan,... là một sự lựa chọn phổ biến. Chúng có khả năng phân hủy sinh học, có hoạt tính sinh học, rất ít gây phản ứng miễn dịch và toàn diện về mặt hóa học (Vial, 2008). Hơn nữa, các nhà nghiên cứu

đã chỉ ra rằng các polymer này có thể được khoáng hóa (Salgado và cộng sự, 2004) giống với các điều kiện tự nhiên trong cơ thể. Thông thường, các polymer tự nhiên có thể được hình thành bằng cách kết hợp hai thành phần, do đó sự hình thành liên kết ngang polymer sẽ tạo ra một chất gel. Trong trường hợp này, chất hình thành liên kết ngang và các tế bào sẽ được tiêm vào vị trí tổn thương cần chữa, do đó làm giảm được nguy cơ nhiễm trùng so với phẫu thuật mổ phanh truyền thống.

• **Polymer tổng hợp.** Polymer tổng hợp cũng có thể được sử dụng để tạo ra các giàn scaffold thông qua các kỹ thuật khác nhau như: tạo liên kết sợi (fiber bonding - FB), đông khô nhũ tương (emulsion freeze drying - EFD), đúc khuôn dung dịch (solvent casting - SC)/chiết lọc chất hạt (particulate leaching - PL), chế biến cao áp (high-pressure processing - HPP), tạo bọt khí (gas foaming - GF)/chiết lọc chất hạt, tách pha bằng nhiệt (thermally induced phase separation - TIPS), mạ điện (electrospinning - ES) và tạo nguyên mẫu nhanh (rapid prototyping - RP) (Tsang và Bhatia, 2004; Chung và Park, 2007).

Vật liệu sinh học phục vụ cho y học hiện đại đã phát triển từ thập kỷ 60, với những tiến bộ nổi bật như sau:

Giai đoạn	Đặc trưng
Thế hệ thứ nhất:	Được phát triển để sử dụng cho cơ thể người, giảm thiểu được tính độc hại và khả năng loại thải. Lành tính về mặt sinh học.
Thập kỷ 60 – 70	Hoạt tính sinh học: các cấu phần có thể gợi được tác động và phản ứng được kiểm soát trong môi trường sinh lý học. Khả năng phân giải.
Thế hệ thứ hai:	Được thiết kế để kích hoạt phản ứng tế bào đặc thù ở cấp phân tử. Kết hợp hoạt tính sinh học và khả năng phân giải. Kích hoạt các gen để kích thích khả năng tái sinh của các mô sinh vật.

Hoạt động nghiên cứu hiện nay đang chú trọng vào phát triển các vật liệu sinh học có những tính chất cơ học cần thiết (chẳng hạn như khả năng chịu tải, khả năng phân hủy. Mỗi quan tâm chủ yếu là kết hợp các phân tử tín hiệu kích hoạt (chẳng hạn như protein có chức năng tác nhân tăng trưởng) vào bộ giàn scaffold vật liệu sinh học. Nghiên cứu việc dẫn nạp các phân tử sinh học đang chịu ảnh hưởng mạnh của những phát minh trong công nghệ vectơ trị liệu gen. Khả năng kết hợp các phân tử kích hoạt vào hệ thống giàn scaffold và điều tiết các tác nhân tăng trưởng cho phù hợp với điều kiện sinh lý là một trong những khâu then chốt tiếp theo của tiến bộ công nghệ.

2.1.2 Cấu trúc. Giàn scaffold cung cấp một chất nền lưới cho tế bào động vật nuôi cấy phát triển theo cả ba chiều chứ không chỉ lan ra dọc theo bề mặt. Các thuộc tính vật lý cũng như hóa

học của giàn scaffold có tác động lớn tới hình thái của các tế bào đang phát triển. Hóa học bề mặt có tác động trực tiếp lên sự bám dính của tế bào. Sự tăng sinh và biệt hóa tế bào thường được quy định bởi các protein ECM bám dính trên bề mặt. Những nghiên cứu gần đây chỉ ra rằng, hình thái tế bào, sự tăng sinh, biệt hóa và quá trình apoptosis (tự chết theo chương trình) của tế bào phụ thuộc vào cấu trúc của giàn scaffold (Li và Yang, 200; Chen và cộng sự, 1998).

Có 2 loại cấu trúc giàn scaffold chính:

- Giàn scaffold dạng xốp như: bọt biển alginate, chitosan, bọt collagen, bọt PLA,...
- Giàn scaffold dạng sợi như: sợi collagen, polyethylene terephthalate (PET), lưới polypropylene.

2.1.3 Các đặc tính của scaffold

- Có cấu trúc lỗ xốp bên trong (đường kính lỗ ít nhất phải đạt 60- 100µm) cung cấp dưỡng chất giúp tăng trưởng mô, phân bố mạch... Theo

Michael Gelinsky và cộng sự, đường kính trung bình của các lỗ bên trong scaffold cấu tạo bởi collagen và khoáng đạt 180 μm là thích hợp nhất cho các tế bào xâm nhập vào bên trong.

- Được chế tạo từ vật liệu có khả năng tự phân hủy sinh học, hoặc khả năng hấp thụ sinh học được kiểm soát, để sau đó mô sẽ thay thế scaffold (Athony Atala và cộng sự).

- Có hóa học bề mặt thích hợp để giúp các tế bào bám, biệt hóa và tăng sinh (các vật liệu tạo nên scaffold có thể tạo nên các chất nền ngoại bào bởi sự hợp thành các sợi collagen nhỏ và tinh thể hydroxyapatite) (Michael Gelinsky và cộng sự).

- Có các đặc tính cơ học thích hợp để tương xứng với vùng ghép. - Không kích thích bất kì phản ứng có hại nào.

- Dễ tạo hình dáng và kích thước mong muốn.

2.1.4 Cách tạo 3D scaffold

Bước 1: Tạo cấu trúc giàn scaffold Scaffold

- Collagen type I được hòa tan trong axit HCl 10mM và sau đó trộn với dung dịch calci clorit 0,1 M. pH của dung dịch được chỉnh lên pH 7 bằng cách thêm đệm Tris 0.5M hoặc đệm phot phat Sorensen 0,5M. Ủ hỗn hợp ở 37°C trong 12h. Lúc này, các sợi collagen ghép lại và sự hình thành cấu trúc Hydroxylapatite (HAP) kích thước nano được diễn ra đồng thời. Phản ứng được thực hiện trong điều kiện thông khí do vậy có sự hình thành HAP cacbonat. Đối với một giàn scaffold bình thường, 1g collagen tương ứng với 2 lít dung dịch có thể được sử dụng cho quá trình khoáng hóa và tạo sợi.

- Các sợi collagen khoáng hóa đồng nhất được chọn lọc bằng cách ly tâm có cấu trúc giống như súp, không màu.

- Để tạo độ xốp cho giàn scaffold, các collagen khoáng được trộn với liquor gốc và khuấy cho đến khi đạt một cấu trúc có thể đúc được và để đông ở -25°C.

- Các mẫu đã được đông khô, sau đó hình thành các liên kết ngang với một dung dịch N-(3-dimethylaminopropyl)-N-ethylcarbodiimide (EDC) hydrochloride 1% (% khối lượng) trong Ethanol 80% (% thể tích) trong 1h.

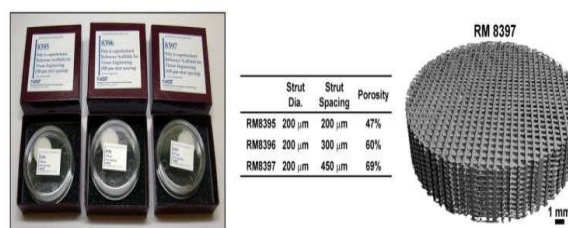
- Sau đó, các giàn scaffold được rửa kỹ lưỡng bằng nước cất, dung dịch glycine 1% và sau đó rửa lại lần nữa với nước và cuối cùng là đông khô.

- Mẫu được sử dụng cho nuôi cấy tế bào được khử trùng bằng chiếu xạ trước khi sử dụng (liều 30-35 kGy).

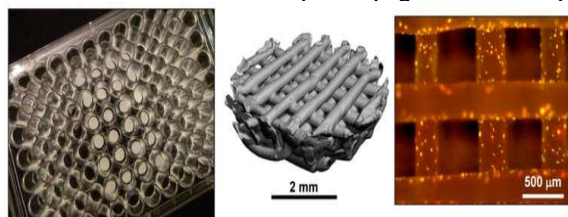
- Thời gian lưu trữ giàn scaffold là 2 năm.



Hình 2.1. Scaffold xốp được tạo ra từ collagen khoáng hóa với nhiều hình dạng và kích thước khác nhau (M Glensky và cộng sự).



Hình 2.2 Các loại vật liệu khác nhau để làm scaffold và hình ảnh Xray 3 D (Nguồn internet).



Hình 2.3 Trái: Vật liệu làm giàn scaffold RM8394 đang được phát triển, một đơn vị tương ứng một đĩa 96 giếng với 24 scaffold. Giữa: Hình ảnh 3D của scaffold. Phải: Hình ảnh hiển vi huỳnh quang của các MT3E3-E1 nguyên bào xương nuôi cấy 1 ngày trên RM 8394 (màu đỏ là actin và màu xanh lá cây là nucleus) (nguồn internet).

Bước 2: Ghép tế bào lên các giàn scaffold

- hMSC (tế bào gốc trung mô) được tách ra từ tủy xương người khỏe mạnh được nhân lên trong môi trường Modified Eagles của Dulbecco (DMEM nồng độ glucose thấp, chứa 10% huyết thanh bào thai bò, 10U/mL penicillin và 100mg/l Streptomycin ở 37°C, 7% CO₂, 93% ủ thông khí).

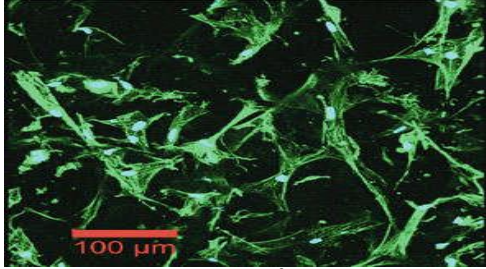
- Trước khi ủ tế bào với các giàn scaffold sinh học từ collagen khoáng, các giàn scaffold này được ủ với môi trường nuôi cấy trong 24h. Sau đó các môi trường cân bằng được loại bỏ và đặt scaffold trên một bộ giấy lọc vô trùng để thấm hết chất lỏng dư thừa trong các lỗ.

- Sau đó các mẫu được bổ sung vào đĩa nuôi cấy bằng nhựa polystyrene 24 giếng với 2x10⁵ tế bào cho 350 μl môi trường cho mỗi mẫu hình trụ.

- Sau 1h bám dính ban đầu, 1ml môi trường

nuôi cấy tế bào được thêm vào mỗi mẫu.

- Sau khi tế bào - giàn scaffold được nuôi cấy 2-14 ngày, môi trường nuôi cấy được bổ sung MTT (3 - (4,5 - dimethylthiazol -2 -yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide) 1,2 mM và sau đó được ủ ở 37°C trong 4h. Sự chuyển màu xanh đen của MTT từ ty thể của tế bào sống để kiểm tra sự phân bố của tế bào trong giàn scaffold.



Hình 2.4. Hình ảnh hiển vi điện tử cấu trúc cắt ngang của giàn scaffold collagen khoáng 3D, các hMSC đã bám vào và được nuôi cấy dưới sự kích thích của mô sinh xương. Bên trái: hình ảnh tiêu bản LSM, sau 18 ngày nuôi cấy. Màu xanh lá cây là bộ xương actin, màu xanh da trời huỳnh quang là nhân tế bào. (Dr. M. Kruse). Bên phải: hình ảnh hiển vi điện tử quét SEM sau 28 ngày nuôi cấy (M. Glensky và cộng sự).

III. KẾT LUẬN

Cùng với sự phát triển công nghệ tế bào gốc là sự phát triển công nghệ scaffold bởi lẽ tế bào gốc cần một giá đỡ để bám dính, tăng sinh và biệt hoá thành các tế bào của mô, tổ chức bị tổn

thương. Giá đỡ vừa có vai trò "làm tổ" cho tế bào gốc, vừa định hướng, "homming" cho tế bào gốc hoạt động tại vị trí cần tế bào gốc. Bằng các công nghệ hiện đại cùng với sự đầu tư của các nhà khoa học, những ứng dụng cấy ghép tế bào gốc trong y học tái tạo sẽ ngày càng phát triển và hứa hẹn sẽ giải quyết được những thách thức chung trong điều trị bệnh hiện nay.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Beresford JN, Joyner CJ, Devlin C, Triffitt JT.** The effects of dexamethasone and 1,25-dihydroxyvitamin D3 on osteogenic differentiation of human marrow stromal cells in vitro. Arch Oral Biol. 1994; 39:941-947.
- Jagodzinski M, Breitbart A, Wehmeier M, Hesse E, Haasper C, Krettek C, Zeichen J, Hankemeier S.** Influence of perfusion and cyclic compression on proliferation and differentiation of bone marrow stromal cells in 3-dimensional culture. J Biomech. 2008; 41:1885-1891.
- Tsiridis E, Bhalla A, Ali Z, Gurav N, Heliotis M, Deb S, DiSilvio L.** Enhancing the osteoinductive properties of hydroxyapatite by the addition of human mesenchymal stem cells, and recombinant human osteogenic protein-1 (BMP-7) in vitro. Injury 2006; 37(Suppl3):S25-S32.
- Michael Gelinsky, Anja Lode,** Anne Bernhardt, and Angela Rösen-Wolff. Stem Cell Engineering for Regeneration of Bone Tissue. Stem Cell Engineering. 2011; 383-399. Lode A, Bernhardt A, Boxberger S, Gelinsky M. Cultivation of mesenchymal stem cells on a three-dimensional artificial extracellular bone matrix. Proceedings of the International Conference "Biomaterials in Regenerative Medicine", Nadolny AJ, ed. Conference Proceedings and

ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ SỬ DỤNG NICARDIPINE TIÊM VÀO ĐỘNG MẠCH VÀNH Ở BỆNH NHÂN CÓ DÒNG CHẢY CHẬM ĐỘNG MẠCH VÀNH

Nguyễn Đình Công*, Trương Thanh Hương**, Bùi Long***

TÓM TẮT

Tổng quan: Dòng chảy chậm động mạch vành là một nguyên nhân gây đau ngực không phải hiếm gặp, hiện tượng này đặc trưng bởi sự chậm đổ đầy cản quang trên hình chụp mạch vành qua da ở những bệnh nhân không có hẹp đáng kể lòng mạch. Nicardipine là một loại thuốc theo kinh nghiệm có thể

cải thiện dòng chảy nhưng chưa được đưa vào phác đồ thường quy. **Mục tiêu:** Đánh giá tính an toàn và hiệu quả cải thiện dòng chảy của nicardipine khi tiêm trực tiếp vào động mạch vành ở bệnh nhân có dòng chảy chậm. **Phương pháp nghiên cứu:** Nghiên cứu mô tả cắt ngang trên 34 bệnh nhân. Tiêu chuẩn lựa chọn là bệnh nhân có hình chụp mạch vành với dòng chảy TIMI < 3 và/hoặc CTFC ≥ 14, kèm theo không có hẹp ≥ 40% đường kính động mạch vành thượng tâm mạc. Nicardipine được sử dụng với liều 100-200 μg, ngay sau đó mạch vành được chụp lại. Tính an toàn được đánh giá bởi thay đổi mạch, huyết áp, triệu chứng trước và sau chụp. Hiệu quả cải thiện dòng chảy được đánh giá bởi thay đổi TIMI và CTFC, tốc độ hình chụp quy ước là 15 hình/giây. **Kết quả:** Nghiên cứu bao gồm 20 nam và 14 nữ, tuổi trung bình 65 ± 9, BMI trung bình là 23,2 ± 2,4, triệu chứng nhập viện

*Bệnh viện Thanh Nhàn

**Viện Tim mạch Việt Nam – Bệnh viện Bạch Mai

***Bệnh viện Hữu Nghị Việt-Xô

Chịu trách nhiệm chính: Nguyễn Đình Công

Email: nguyendinhcong91.md@gmail.com

Ngày nhận bài: 10.9.2021

Ngày phản biện khoa học: 29.10.2021

Ngày duyệt bài: 11.11.2021