

Kết quả bước đầu tạo khối tế bào gốc tủy xương tự thân ở bệnh nhân xơ gan do rượu

First result of autologous bone marrow stem cell creating procedures in patients with alcoholic cirrhosis

Lý Tuấn Khải, Hồ Xuân Trường, Nguyễn Tiến Thịnh,
Nguyễn Văn Thái, Nguyễn Văn Tuệ, Đinh Duy Nhân,
Vũ Thị Ngọc Lê

Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả của quy trình tạo khối tế bào gốc từ dịch tủy xương ở bệnh nhân xơ gan rượu mất bù bằng phương pháp ly tâm theo gradient tỷ trọng tế bào. **Đối tượng và phương pháp:** 10 bệnh nhân nam xơ gan rượu mất bù từ 34-59 tuổi, mỗi bệnh nhân được chọc hút 240ml dịch tủy xương từ xương chậu, chống đông bằng 60ml dung dịch heparin, thực hiện quy trình chiết tách và cô đặc giảm thể tích bằng phương pháp ly tâm theo gradient tỷ trọng tế bào. **Kết quả:** Khối tế bào gốc sản phẩm có nồng độ tế bào có nhân là $34,13 \pm 26,41G/l$, nồng độ tế bào gốc tạo máu CD34+ là $534,28 \pm 316,97$ tế bào/ μl , tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ sống là $88,65 \pm 10,09\%$. 100% khối tế bào gốc thu được đều âm tính với cấy khuẩn, cấy nấm. Hiệu quả loại bỏ bạch cầu đoạn trung tính là $83,02 \pm 15,39\%$; hồng cầu, huyết sắc tố lần lượt là $99,09 \pm 1,51\%$ và $99,37 \pm 1,29\%$. Số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+ là $16,03 \pm 9,48 \times 10^6$ TB, tương ứng với tỷ lệ thu hồi $59,88 \pm 22,59\%$. **Kết luận:** Quy trình tạo khối tế bào gốc từ tủy xương ở bệnh nhân xơ gan do rượu mất bù đã loại bỏ gần hoàn toàn được các thành phần như bạch cầu đoạn trung tính, hồng cầu, huyết sắc tố và thu được khối tế bào gốc với đậm độ và tỷ lệ tế bào phù hợp cho điều trị.

Từ khóa: Tế bào gốc, tủy xương, xơ gan mất bù, do rượu.

Summary

Objective: To evaluate the effectiveness of stem cell creating procedures from bone marrow fluid in decompensated alcoholic cirrhosis by cell density gradient centrifugation. **Subject and method:** 10 patients with alcoholic cirrhosis aged 34-59 years old, each patient was aspirated about 240ml of bone marrow fluid from the iliac crest, anticoagulated with 60ml of heparin solution, performed the extraction procedure and reduced-volume concentrate by density gradient centrifugation. **Result:** The product stem cell mass had a nucleated cell concentration of $34.13 \pm 26.41G/l$, a CD34+ stem cell concentration of 534.28 ± 316.97 cells/ μl . The survival rate of CD34+ stem cells was $88.65 \pm 10.09\%$. The granulocyte and red blood cell removal rates were $90.09 \pm 10.82\%$ and $99.59 \pm 0.23\%$, respectively. The number of

Ngày nhận bài: 24/3/2023, ngày chấp nhận đăng: 24/4/2023

Người phản hồi: Hồ Xuân Trường, Email: truonghx1003@gmail.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

CD34+ hematopoietic stem cell was $16.03 \pm 9.48 \times 10^6$ cells, equal $59.88 \pm 22.59\%$. 100% of stem cell mass were negative for bacterial and fungal cultures. *Conclusion:* The bone marrow stem cell angiogenesis procedure of patients with decompensated alcoholic cirrhosis almost completely removed components such as neutrophil, red blood cells hemoglobin and obtained stem cell mass with dark. The level and percentage of cells are suitable for treatment.

Keywords: Stem cells, bone marrow, decompensated cirrhosis, alcohol.

1. Đặt vấn đề

Xơ gan là nguyên nhân chính gây tử vong ở các bệnh nhân bệnh gan mạn tính. Nguyên nhân chủ yếu gây xơ gan là do lạm dụng rượu, vi rút viêm gan B, viêm gan C, bệnh gan tự miễn và xơ gan mật trong đó xơ gan do rượu là nguyên nhân khá phổ biến ở các nước đang phát triển, trong đó có Việt Nam. Xơ gan ở giai đoạn còn bù tốt có thể duy trì bệnh không triệu chứng trong thời gian khá dài. Sau nhiều năm tiến triển thành xơ gan mất bù với các biểu hiện: Vàng da, cổ trướng, viêm phúc mạc, chảy máu tiêu hóa hoặc bệnh não gan. Một khi đã xuất hiện một trong các biến chứng trên, tỷ lệ sống sau 5 năm giảm hơn 20%, và bệnh nhân được xem xét để ghép gan toàn thể nguyên vị trí. Tuy nhiên, với chi phí cao, thời gian chờ đợi để thực hiện ghép kéo dài do sự thiếu hụt nguồn gan cho và điều trị chống thải ghép sau khi ghép là những yếu tố hạn chế của ghép [1].

Một hướng đi mới đang mở ra triển vọng lớn cho ngành y học phục hồi đó là việc sử dụng tế bào gốc trong điều trị hồi phục các tổn thương nói chung và tổn thương xơ gan nói riêng. Ở Việt Nam, đã có một số nghiên cứu ứng dụng tế bào gốc trong điều trị tổn thương xương khớp, suy tim sau nhồi máu cơ tim cấp, xơ gan do vi rút viêm gan B, nhồi máu não... và bước đầu đã thu được những kết quả tương đối khả quan.

Tủy xương là một trong những kho dự trữ tế bào gốc của cơ thể trưởng thành, ngoài tế bào gốc tạo máu (hematopoietic stem cell - HSC), tủy xương còn chứa tế

bào gốc trung mô (mesenchymal stem cell - MSC) và các tế bào gốc/tiền thân nội mạc (Endothelial stem/progenitor cells - EPC) có cùng chung nguồn gốc với HSC (là nguyên mô bào tạo máu-mạch máu (hemangioblast). Tế bào gốc tạo máu tủy xương cũng như của máu tuần hoàn đã được nghiên cứu rất sâu và đã được ứng dụng rộng rãi trong lâm sàng với kết quả rất tốt. Tế bào gốc trung mô đang được nghiên cứu ứng dụng điều trị rất nhiều bệnh và đặc biệt trong điều trị tái tạo các mô và cơ quan bị bệnh hoặc bị tổn thương... [2]. Dịch tủy xương có chứa các tế bào gốc với số lượng hạn chế, còn lại đa số là các tế bào đang trưởng thành hoặc đã trưởng thành không có vai trò trong tái tạo tổ chức... Xây dựng một quy trình thu gom, chiết tách, cô đặc dịch tủy xương ở bệnh nhân xơ gan do rượu để thu được khối tế bào gốc với thành phần và đậm độ tế bào cần thiết, phù hợp là tiền đề cần thiết cho việc điều trị ở các bệnh nhân này. Do đó, chúng tôi thực hiện nghiên cứu này nhằm mục tiêu: *Đánh giá hiệu quả của quy trình tạo khối tế bào gốc từ dịch tủy xương ở bệnh nhân xơ gan do rượu bằng phương pháp ly tâm theo gradient tỷ trọng tế bào.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Đối tượng gồm 10 bệnh nhân (từ 34 đến 59 tuổi) được chẩn đoán xơ gan rượu mất bù, điều trị tại Viện Điều trị các Bệnh tiêu hóa, Bệnh viện Trung ương Quân đội 108 từ tháng 01/2021 đến tháng 12/2022.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

Bệnh nhân đã được chẩn đoán là xơ gan mất bù do rượu.

Tuổi từ 18 tuổi.

Nồng độ albumin < 30g/l.

Bilirubin toàn phần < 5mg/dl.

Không có u gan trên chụp cắt lớp vi tính hoặc cộng hưởng từ hoặc siêu âm Doppler.

Nếu phụ nữ đang ở độ tuổi sinh đẻ, sử dụng phương pháp tránh thai phù hợp.

Dự kiến thời gian sống thêm trên 24 tuần.

Bệnh nhân hợp tác tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

Xơ gan do vi rút viêm gan B, viêm gan C, xơ gan tự miễn, xơ gan mật và các nguyên nhân khác.

INR > 2,5.

Có khối u gan hoặc ung thư cơ quan khác, huyết khối tĩnh mạch cửa.

Có xuất huyết tiêu hoá hoặc viêm phúc mạc vi khuẩn tự phát.

Bệnh nhân không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Mô tả cắt ngang, hồi cứu.

Các kỹ thuật sử dụng trong nghiên cứu.

Quy trình tạo khối tế bào gốc từ dịch tủy xương.

Chọc hút dịch tủy xương: Thực hiện tại phòng mổ vô trùng, bệnh nhân được sử dụng thuốc an thần, gây tê tại chỗ từng lớp đến màng xương bằng lidocain 1%, chọc hút dịch tủy xương từ hai gai chậu sau, chống đông bằng dung dịch heparin pha trong nước muối sinh lý (50 đơn vị heparin/1ml nước muối sinh lý) theo tỷ lệ 4 thể tích dịch tủy xương + 1 thể tích dung

dịch chống đông, thể tích cuối cùng thu được là 300ml.

Tách chiết cô đặc khối tế bào gốc từ dịch tủy xương tiến hành trong điều kiện vô trùng bằng phương pháp ly tâm theo gradient tỷ trọng tế bào, sử dụng dung dịch ficoll có tỷ trọng 1,077g/ml.

Quy trình tạo khối tế bào gốc từ dịch tủy xương: Dịch tủy xương sau khi thu thập bằng chọc hút từ xương chậu bệnh nhân được xử lý ngay trong điều kiện vô trùng trong tủ có dòng khí đi một chiều. Dịch tủy xương sau khi được lọc bỏ máu đông, tế bào mỡ, mảnh xương,... được cho vào ống falcon 50ml có sẵn dung dịch ficoll trọng lượng riêng 1,077g/ml. Sau đó, ly tâm và rửa nhiều lần để loại bỏ các thành phần trưởng thành không cần thiết và thu được khối tế bào gốc từ dịch tủy xương tự thân.

Xét nghiệm tế bào dịch tủy xương và khối tế bào gốc tủy xương: Sử dụng máy đếm tế bào máu tự động ADVIA 2120i (Siemen - CHLB Đức).

Xác định tế bào gốc tạo máu CD34+, MSC: Sử dụng phương pháp miễn dịch huỳnh quang tế bào dòng chảy trên hệ thống máy FACS-Callibur (Becton Dickinson - Hoa Kỳ).

Cấy khuẩn, cấy nấm, nuôi cấy cụm CFU-F thực hiện theo các quy trình đang áp dụng tại Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

Các chỉ tiêu nghiên cứu

Số lượng tế bào có nhân của dịch tủy xương.

Tỷ lệ tế bào sống, đậm độ và số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+ của dịch tủy xương trước và sau chiết tách, cô đặc.

Tỷ lệ loại bỏ hồng cầu, huyết sắc tố, bạch cầu đoạn trung tính và tỷ lệ thu hồi tế bào gốc CD34+ của khối tế bào gốc từ dịch tủy xương.

Số lượng MSC, CFU-F khối tế bào gốc tuỷ xương.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu được xử lý bằng các thuật toán thống kê bằng phần mềm SPSS 22.

3. Kết quả

Bảng 1. Đặc điểm tuổi và giới bệnh nhân nghiên cứu (n = 10)

Chỉ số	Đơn vị	Kết quả
Tuổi nhỏ nhất	Tuổi	34
Tuổi lớn nhất	Tuổi	59
Nam	n, %	10, 100
Nữ	n, %	0, 0
Tuổi trung bình ± SD	Tuổi	48,40 ± 6,53

Nhận xét: Độ tuổi trung bình của bệnh nhân nghiên cứu là 48,40 ± 6,53 tuổi trong đó nam chiếm 100%.

Bảng 2. Đặc điểm một số chỉ số tế bào của

khối tế bào gốc tuỷ xương tự thân ở bệnh nhân xơ gan do rượu (n = 10)

Chỉ số	Đơn vị	Kết quả (Giá trị trung bình ± SD)
Số lượng tế bào có nhân	G/L	34,13 ± 26,41
Tỷ lệ bạch cầu đoạn trung tính	%	29,45 ± 14,59
Tỷ lệ bạch tế bào đơn nhân	%	71,55 ± 17,88
Số lượng hồng cầu	T/L	0,289 ± 0,163
Lượng huyết sắc tố	g/L	3,6 ± 1,7
Hematocrit	L/L	0,021 ± 0,003
Số lượng tiểu cầu	G/L	237,2 ± 181,2

Nhận xét: Số lượng tế bào có nhân trong khối tế bào gốc là 34,13 ± 26,41G/L trong đó tỷ lệ bạch cầu đoạn trung tính là 29,45 ± 14,59%, tế bào đơn nhân chiếm chủ yếu với tỷ lệ 71,55 ± 17,88%. Số lượng hồng cầu, lượng huyết sắc tố và hematocrit rất thấp.

Bảng 3. Số lượng và tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ của khối tế bào gốc tuỷ xương tự thân ở bệnh nhân xơ gan do rượu (n = 10)

Chỉ số	Đơn vị	Kết quả (Giá trị trung bình ± SD)
Nồng độ tế bào gốc tạo máu CD34+	TB/μL	534,28 ± 316,97
Tổng số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+	× 10 ⁶ TB	16,03 ± 9,48
Tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ sống	%	88,65 ± 10,09
Tỷ lệ thu hồi tế bào gốc tạo máu CD34+	%	59,88 ± 22,59

Nhận xét: Nồng độ tế bào gốc tạo máu CD34+ trong khối tế bào gốc là 98,65 ± 10,09TB/μL. Tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ sống là 88,65 ± 10,09%. Số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+ là 16,03 ± 9,48 × 10⁶ TB, tương ứng với tỷ lệ thu hồi 59,88 ± 22,59%.

Bảng 4. Tỷ lệ loại bỏ tế bào tế bào bạch cầu đoạn trung tính, hồng cầu, huyết sắc tố

Chỉ số	Trước xử lý	Sau xử lý	Tỷ lệ loại bỏ
--------	-------------	-----------	---------------

			(%)
Thể tích (ml)	300	30	90
Số lượng bạch cầu đoạn trung tính (G/L)	50,50 ± 11,33	29,45 ± 14,59	83,02 ± 15,39
Số lượng hồng cầu (T/L)	4,46 ± 0,88	3,6 ± 1,7	99,09 ± 1,51
Lượng huyết sắc tố (g/L)	126,0 ± 36,7	0,021 ± 0,003	99,37 ± 1,29

Nhận xét: Sau xử lý chiết tách, cô đặc: Số lượng hồng cầu, lượng huyết sắc tố được loại bỏ trên 99%, số lượng bạch cầu đoạn trung tính đã được loại bỏ trên 80%.

Bảng 5. Kết quả nuôi cấy cụm CFU-F và số lượng tế bào MSC (n = 10)

Chỉ số	Giá trị thấp nhất	Giá trị cao nhất	Trung bình ± SD (n = 10)
CFU-F	28	66	46,50 ± 13,28
Số lượng tế bào MSC (× 10 ⁴ tế bào)	1,36	8,80	4,06 ± 2,25

Nhận xét: Hiệu quả mọc cụm CFU-F trên 10⁶ tế bào của khối TBG (CFU-F) 46,50 ± 13,28 cụm (thấp nhất 28 cụm, cao nhất là 66 cụm), tổng số lượng tế bào MSC trong khối tế bào gốc là 4,06 ± 2,25 × 10⁴ tế bào.

Bảng 6. Kết quả cấy khuẩn, cấy nấm (n = 10)

Chỉ số	Âm tính (%)	Dương tính (%)	Tổng
Cấy khuẩn	100	0	100
Cấy nấm	100	0	100

Nhận xét: 100% khối tế bào gốc đều được cấy khuẩn, cấy nấm âm tính.

4. Bàn luận

Theo kết quả Bảng 1, tuổi trung bình của 10 bệnh nhân nam xơ gan do rượu được tiến hành lấy dịch tuỷ xương tạo khối tế bào gốc để điều trị tham gia nghiên cứu là 48,40 ± 6,53 tuổi, không có bệnh nhân nữ. Số lượng bệnh nhân trong nghiên cứu của chúng tôi còn ít do đây là phương pháp yêu cầu lựa chọn bệnh nhân rất chặt chẽ, hơn nữa là kỹ thuật mới được triển khai nên việc tiếp cận bệnh nhân còn hạn chế, chúng tôi mới dừng ở giai đoạn đánh giá kết quả bước đầu. Tỷ lệ nam trong nghiên cứu của chúng tôi chiếm chủ yếu, điều này có thể giải thích do nam giới hay có thói quen uống rượu, lạm dụng rượu, nghiện rượu

nhiều hơn so với nữ giới, hơn nữa do cỡ mẫu của chúng tôi tương đối nhỏ. Đặc điểm về tuổi giới trong nghiên cứu của chúng tôi cũng phù hợp với đặc điểm dịch tế ở bệnh nhân xơ gan do rượu là chủ yếu gặp ở nam giới, tuổi trung niên và một số nghiên cứu khác như nghiên cứu của Đào Trường Giang, Bars và cộng sự [3, 4].

Kết quả Bảng 2 và 3 cho thấy, số lượng tế bào có nhân trong khối tế bào gốc tuỷ xương thu được là 34,13 ± 26,41G/L, tỷ lệ tế bào đơn nhân chiếm ưu thế với 71,55 ± 17,88%. Nồng độ tế bào gốc tạo máu CD34+ là 534,28 ± 316,97 TB/μL, Số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+ là 16,03 ± 9,48 × 10⁶ TB, tương ứng với tỷ lệ thu hồi 59,88 ± 22,59%. Nồng độ, số lượng tế bào gốc tạo máu CD34+ trong nghiên cứu của chúng tôi tương đương với nghiên cứu của Đào Trường Giang khi đánh giá hiệu quả

tạo khối tế bào gốc từ dịch tủy xương trên bệnh nhân xơ gan do virút viêm gan B và khác biệt không có ý nghĩa thống kê với nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Ngọc (2021) trên đối tượng bệnh nhân đột quỵ nhồi máu não [5]. Tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34 sống trong nghiên cứu của chúng tôi có thấp hơn với nghiên cứu của Hernandez và cộng sự khi tách chiết thành phần tế bào đơn nhân từ dịch tủy xương bằng mách tách tế bào tự động AS 204 (Fresenius, Đức) với 93% tế bào gốc tạo máu CD34+ sống sau quá trình tách chiết [6]. Trong nghiên cứu của Nguyễn Hoàng Ngọc tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ sống là $96,02 \pm 3,52\%$ cao hơn so với nghiên cứu của chúng tôi. Một nghiên cứu khác cũng của Lý Tuấn Khải và cộng sự về tạo 25-50ml khối tế bào gốc từ 250-350ml dịch tủy xương ở 158 bệnh nhân khớp giả, chậm liền xương và ngắn đoạn xương cho kết quả khối tế bào gốc có chất lượng tốt hơn kết quả nghiên cứu của chúng tôi với tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ là $1,2 \pm 0,64\%$; nồng độ tương ứng là $724,63 \pm 437,29$ TB/uL; tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ sống là $94,65 \pm 4,62\%$ và $95,67 \pm 1,94\%$ [7]. Điều này có thể giải thích do sự khác biệt về đặc điểm đối tượng nghiên cứu của chúng tôi là bệnh nhân xơ gan, nhiều tổn thương có ảnh hưởng tới tủy xương và các tế bào gốc. Tuy nhiên sự khác biệt này chưa có ý nghĩa thống kê do cỡ mẫu trong nghiên cứu của chúng tôi còn tương đối nhỏ.

Cũng theo Bảng 4, quy trình tạo khối tế bào gốc của chúng tôi loại bỏ hầu hết các thành phần không cần thiết như bạch cầu đoạn trung tính bị loại bỏ $83,02 \pm 15,39\%$, hồng cầu bị loại bỏ tới $99,09 \pm 1,51\%$ và huyết sắc tố cũng bị loại bỏ $99,37 \pm 1,29\%$. Trong nghiên cứu của Lý Tuấn Khải và Phan Tuấn Đạt về hiệu quả tạo khối tế bào gốc từ 250ml dịch tủy xương với số lượng tế bào có nhân trong tủy ở 45 bệnh nhân nhồi máu cơ tim hệ thống máy máy tách tế bào tự động COM.TEC (Fresenius-

CHLB Đức) tạo 10ml tế bào gốc cuối cùng [8]. Kết quả nghiên cứu này, tỷ lệ tế bào đơn nhân là $60,27 \pm 13,86\%$ thấp hơn trong nghiên cứu của chúng tôi là $71,55 \pm 17,88\%$; tỷ lệ loại bỏ một số thành phần không cần thiết từ $> 89,21\%$. Trong nghiên cứu của chúng tôi tỷ lệ loại bỏ các thành phần như bạch cầu đoạn trung tính, hồng cầu, huyết sắc tố đều trên 80%, có thành phần trên 99% và tỷ lệ CD34+ thu hồi cũng không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê so với các nghiên cứu trên. Chúng tôi tính bằng cách lấy nồng độ nhân với thể tích trước, sau, sau đó tính phần còn lại chia cho phần ban đầu. Tuy có sự khác nhau về kết quả nghiên cứu giữa các nghiên cứu khác nhau nhưng có thể nhận ra rằng quy trình tạo khối tế bào gốc trong nghiên cứu của chúng tôi cho kết quả tương đương và một số chỉ số cho kết quả khả quan hơn so với phương pháp tách bằng máy. Như vậy, quy trình tách chiết, cô đặc dịch tủy xương ở bệnh nhân xơ gan do rượu đã tạo ra khối tế bào gốc với tỷ lệ và đậm độ tế bào thích hợp cho điều trị.

Kết quả ở Bảng 5 cho thấy số lượng cụm CFU-F/ 10^6 tế bào nuôi cấy là $46,50 \pm 13,28$ cụm (dao động khá lớn trong khoảng 28-66), tổng số lượng tế bào MSC trong khối TBG là $4,06 \pm 2,25 \times 10^4$ ($1,36 - 8,80 \times 10^4$). Kết quả số lượng MSC của chúng tôi tương tự như nghiên cứu của Ph. Hernigou với tổng số lượng MSC trong khối tế bào ghép cho bệnh nhân khớp giả trung bình là 51×10^3 ($1,2-122 \times 10^3$). Gangji V và cộng sự (2004) đánh giá số lượng TBG trung mô trong khối tế bào tách từ tủy xương của các bệnh nhân hoại tử vô khuẩn chỏm xương đùi, kết quả cho thấy có 92 ± 9 cụm CFU-F/ 10^6 tế bào [9]. Trần Công Toại (2008), tiến hành nuôi cấy CFU-F từ 2ml dịch tủy xương hút từ xương mào chậu của 20 bệnh nhân chấn thương cơ quan vận động cần phẫu thuật. Kết quả có $79,95 \pm 73,2$ (từ 29 đến 156) cụm CFU-F mọc/2ml

dịch tủy xương (mỗi ml dịch tủy xương chứa $43,9 \times 10^6 \pm 41,2 \times 10^6$ tế bào có nhân) [10]. Nguyễn Hoàng Ngọc cũng thực hiện quy trình như của chúng tôi và cho kết quả $56,33 \pm 14,82$ cụm CFU-F/ 10^6 TB và có $3,92 \pm 2,66 \times 10^4$ tế bào MSC [5]. Như vậy có thể thấy là kết quả nghiên cứu về nuôi cấy cụm CFU-F của các tác giả có sự khác nhau, theo chúng tôi là do giữa các trung tâm sử dụng môi trường nuôi cấy khác nhau, mẫu nuôi cấy thời gian nuôi cấy không thống nhất.

Sau khi tạo khối tế bào gốc, trước khi truyền cho bệnh nhân chúng tôi tiến hành lấy mẫu cấy khuẩn, cấy nấm, cấy mycoplasma và xác định nồng độ endotoxin. Theo Bảng 6, 100% các mẫu của chúng tôi đều cho kết quả âm tính khi cấy khuẩn, cấy nấm. Điều này cho thấy toàn bộ quy trình thu thập, tách chiết, cô đặc của chúng tôi đều đảm bảo an toàn, không bị nhiễm khuẩn và an toàn khi sử dụng khối tế bào gốc cho bệnh nhân và cũng đạt được kết quả tương tự một số tác giả khác.

5. Kết luận

Quy trình tạo ra 30ml khối tế bào gốc đậm đặc từ 300ml hỗn hợp dịch tủy xương lấy từ mào chậu đã thực hiện trên 10 bệnh nhân xơ gan rượu mất bù đã loại bỏ những thành phần tế bào đã trưởng thành và thu hồi thành phần tế bào gốc cần thiết cho điều trị. Cụ thể:

Khối tế bào gốc sản phẩm có nồng độ tế bào có nhân là $34,13 \pm 26,41$ G/l, nồng độ tế bào gốc tạo máu CD34+ là $534,28 \pm 316,97$ tế bào/ μ l, tỷ lệ tế bào gốc tạo máu CD34+ sống là $88,65 \pm 10,09\%$. 100% khối tế bào gốc thu được đều âm tính với cấy khuẩn, cấy nấm.

Hiệu quả loại bỏ bạch cầu đoạn trung tính là $83,02 \pm 15,39\%$; hồng cầu, huyết sắc tố lần lượt là $99,09 \pm 1,51\%$ và $99,37 \pm 1,29\%$. Số lượng tế bào gốc tạo máu

CD34+ là $16,03 \pm 9,48 \times 10^6$ TB, tương ứng với tỷ lệ thu hồi $59,88 \pm 22,59\%$.

Tài liệu tham khảo

1. Khosravi B, Pourahmad S, Bahreini A, Nikeghbalian S, Mehrdad G (2015) *Five years survival of patients after liver transplantation and its effective factors by neural network and cox proportional hazard regression models*. Hepatitis Monthly 15(9).
2. Grove JE, Bruscia E, Krause DS (2004) *Plasticity of bone marrow-derived stem cells*. Stem cell 22(4): 487-500.
3. Đào Trường Giang, Trần Việt Tú, Bùi Tiến Sỹ, Mai Hồng Bằng và cộng sự (2020) *Nghiên cứu đặc điểm tủy xương và kết quả thu gom khối tế bào gốc tủy xương ở bệnh nhân xơ gan mất bù do rượu*. Tạp chí Y dược học Quân sự, 3, tr. 36-41.
4. Basra S, Anand BS (2011) *Definition, epidemiology and magnitude of alcoholic hepatitis*. World Journal of Hepatology 3(5): 108.
5. Nguyễn Hoàng Ngọc, Lý Tuấn Khải, Nguyễn Văn Tuyển và Hồ Xuân Trường (2020) *Evaluatin of the effectiveness of the procedures of creating autologous stem cell product derived bone marrow fluid for treatment of ischemic stroke patients*. Tạp chí Y Dược lâm sàng 108, 3, tr. 54-49.
6. Hernández P, Cortina L, Artaza H, Pol N et al (2007) *Autologous bone-marrow mononuclear cell implantation in patients with severe lower limb ischaemia: A comparison of using blood cell separator and Ficoll density gradient centrifugation*. Atherosclerosis Journal 194(2): 52-56.
7. Lý Tuấn Khải và Nguyễn Thanh Bình (2011) *Nghiên cứu đặc điểm khối tế bào gốc tự thân sử dụng để điều trị một số tổn thương xương khớp và mối tương quan với kết quả điều trị*. Tạp chí Y Dược lâm sàng 108, 3, tr. 52-55.

8. Lý Tuấn Khải và Phan Tuấn Đạt (2014) *Nghiên cứu hiệu quả tách tế bào gốc từ dịch tủy xương bằng máy tự động ở bệnh nhân suy tim sau nhồi máu cơ tim*. Tạp chí Y Dược lâm sàng 108, 4 (9), tr. 114-119.
9. Gangji V, Hauzeur JP, Matos C, De Maertelaer V, Toungouz M, Lambermont M (2004) *Treatment of osteonecrosis of the femoral head with implantation of autologous bone-marrow cells: A pilot study*. Journal of Bone and Joint Surgery 86(6): 1153-1160.
10. Trần Công Toại (2008) *Nghiên cứu qui trình phân lập, nuôi cấy, biệt hóa tế bào gốc tủy xương, hướng đến ghép điều trị bệnh lý tổn thương xương*. Tạp chí y học thành phố Hồ Chí Minh, 12, tr. 58-64.