

Nghiên cứu hiệu quả điều trị vết thương mạn tính bằng tế bào gốc từ mô mỡ tự thân kết hợp với huyết tương giàu tiểu cầu

Studying the chronic wound treatment effectiveness by autologous adipose-derived stem cells in combination with platelet rich plasma

Nguyễn Tiến Dũng, Nguyễn Ngọc Tuấn

Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác

Tóm tắt

Mục tiêu: Đánh giá hiệu quả của tế bào gốc từ mô mỡ tự thân (Adipose - Derived Stem Cells - ADSCs) kết hợp với huyết tương giàu tiểu cầu (Platelet Rich Plasma - PRP) lên biến đổi tại chỗ vết thương mạn tính và một số marker sinh học. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu 30 bệnh nhân (BN) bị vết thương mạn tính (VTMT), điều trị nội trú tại Trung tâm Liền vết thương, Viện Bỏng Quốc gia từ tháng 3/2019 đến tháng 7/2020. Tất cả BN được tiêm hỗn dịch ADSCs và PRP (ADSCs + PRP) tại chỗ vết thương. Bệnh nhân được xác định một số đặc điểm lâm sàng tại chỗ vết thương, làm hóa mô miễn dịch phản ứng PAS, xác định hàm lượng Hydroxyprolin và Matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) trước và sau 1 tuần, 2 tuần và 3 tuần trị liệu. **Kết quả:** Trị liệu ADSCs + PRP giúp kích thích quá trình liền vết thương: Giảm dịch tiết, kích thích quá trình biểu mô hóa, tạo mô hạt. Số lượng các mẫu có phản ứng PAS dương tính ở biểu bì và màng đáy tăng, hàm lượng Hydroxyprolin tăng, hàm lượng Matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) có xu hướng giảm dần sau điều trị. **Kết luận:** ADSCs + PRP kích thích quá trình liền vết thương mạn tính nhờ làm cải thiện tình trạng bờ mép và nền VTMT.

Từ khóa: Vết thương mạn tính, tế bào gốc từ mô mỡ tự thân, huyết tương giàu tiểu cầu, hydroxyprolin, MMP12, phản ứng PAS.

Summary

Objective: To evaluate the effects of autologous adipose-derived stem cells (ADSCs) in combination with platelet rich plasma (PRP) on changes of chronic wound local and some bio-markers. **Subject and method:** We conducted a descriptive longitudinal study at the Wound Healing Center of Vietnam National Burn Hospital, from March, 2019 to July, 2020. 30 patients with chronic wounds were enrolled in the study and were injected the combination of ADSCs and PRP (ADSCs + PRP) in peri-wound and wound bed. We assessed and recorded the wound edge, wound bed, wound size changes and Periodic acid -Schiff (PAS) response, hydroxyprolin and Matrix metalloproteinase-12 (MMP-12) at the time of before therapy and at the first, second and third week of studied progress. **Result:** ADSCs + PRP helped to improve the wound healing process: Reduced exudate, promoted the epithelialization, granulation tissue; increased sample number of PAS response at epiderma and basement membrane, increased

Ngày nhận bài: 25/9/2020, ngày chấp nhận đăng: 7/10/2020

Người phản hồi: Nguyễn Tiến Dũng, Email: ntzung_0350@yahoo.com - Bệnh viện Bỏng Quốc gia Lê Hữu Trác

significantly Hydroxyprolin and reduced significantly MMP-12. *Conclusion:* ADSCs + PRP stimulated wound healing process by improvement of wound edge and wound bed.

Keywords: Chronic wound, adipose-derived stem cells, platelet rich plasma, hydroxyprolin, MMP12, PAS response.

1. Đặt vấn đề

Trong xã hội hiện đại, tỷ lệ bệnh nhân có vết thương mạn tính ngày càng gia tăng cùng với sự xuất hiện của các bệnh mạn tính như tim mạch, đái tháo đường, đột quỵ não... Đối với vết thương mạn tính, tại chỗ vết thương tiết quá nhiều cytokin tiền viêm và các enzyme phân huỷ protein, kèm theo tình trạng nhiễm trùng dai dẳng [1]. Hỗ trợ tế bào và các thành phần thúc đẩy quá trình tăng sinh và biệt hóa mô tại chỗ vết thương mạn tính là một hướng điều trị mới tại các trung tâm liên vết thương của các nước phát triển. Hiện nay, trên thế giới có nhiều nghiên cứu sử dụng huyết tương giàu tiểu cầu hoặc tế bào gốc từ mô mỡ tự thân để điều trị vết thương mạn tính cho kết quả khả quan. Tế bào gốc phân lập được từ mô mỡ là tế bào gốc trung mô có hình dáng nguyên bào sợi, có khả năng tạo quần thể và biệt hoá thành nhiều loại mô khác nhau. Trên thực nghiệm nhiều tác giả cho rằng tế bào gốc mỡ có tác dụng kháng khuẩn nhờ tiết ra peptide LL-37 có tác dụng ức chế sự phát triển của các vi khuẩn Gram âm (*E. coli*, *P. aeruginosa*) và vi khuẩn gram dương như *S. aureus*, cũng như tiết ra các cytokine tiền viêm và cytokine kháng viêm làm giảm tình trạng nhiễm khuẩn và viêm tại chỗ vết thương [2], [3]. Huyết tương giàu tiểu cầu (Platelet rich plasma - PRP) có nồng độ tiểu cầu cao gấp nhiều lần so với huyết tương trong máu bình thường. Khi tiểu cầu hoạt hóa dẫn tới quá trình ly giải hạt α bên trong tiểu cầu, từ đó giải phóng ra hàng loạt các protein là các cytokine chống viêm, các chemokine và hàng chục các yếu tố tăng trưởng (Growth factor - GF) có vai trò quan trọng trong liên vết thương. Kết quả là sẽ tạo nên sự tăng sinh tế bào, tạo chất nền, tổng hợp collagen tham gia vào quá trình tái tạo sửa chữa tổn thương tại chỗ vết thương [4]. Sử dụng tiêm kết hợp

tế bào gốc từ mô mỡ và huyết tương giàu tiểu cầu điều trị vết thương mạn tính cho thấy huyết tương giàu tiểu cầu gia tăng tỷ lệ sống sót của tế bào gốc từ mô mỡ, kích thích quá trình sản xuất collagen dưới da, giúp tăng cường khả năng tái tạo da, thúc đẩy quá trình liền vết thương [4]. Ở Việt Nam, hiện chưa có nghiên cứu hệ thống về sự phối hợp giữa tế bào gốc từ mô mỡ tự thân và huyết tương giàu tiểu cầu trong điều trị vết thương nói chung, vết thương mạn tính nói riêng. Do đó, chúng tôi tiến hành đề tài này với mục tiêu: *Đánh giá hiệu quả điều trị vết thương mạn tính của tế bào gốc từ mô mỡ tự thân kết hợp với huyết tương giàu tiểu cầu.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Đối tượng

Gồm 30 bệnh nhân (BN) bị vết thương mạn tính (VTMT) do các nguyên nhân khác nhau, vào điều trị nội trú tại Trung tâm Liên vết thương - Bệnh viện Bông Quốc gia, từ tháng 3 năm 2019 đến tháng 07 năm 2020.

Tiêu chuẩn lựa chọn bệnh nhân

BN bị VTMT, theo tác giả Markova Alina và cộng sự (2012) VTMT là những vết thương có thời gian tồn tại trên 6 tuần và hay tái phát [5]. BN có tuổi đời lớn hơn hoặc bằng 16 tuổi, tình nguyện viết đơn tham gia nghiên cứu.

Tiêu chuẩn loại trừ

BN bị nhiễm HIV, HBV, HCV. BN cần hồi sức tích cực. BN có vết thương do xạ trị, do ung thư. Phụ nữ có thai, cho con bú.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Nguyên vật liệu nghiên cứu

Bộ kit để tách chiết huyết tương giàu tiểu cầu (PRP) và để tách tế bào gốc từ mô mỡ (ADSCs) do công ty Genne World sản xuất.

2.2.1. Phương pháp nghiên cứu

Chúng tôi đã tiến hành nghiên cứu tiến cứu, so sánh trước sau trị liệu ADSCs + PRP trên từng BN, đánh giá tính an toàn và hiệu quả của liệu pháp can thiệp.

Các thời điểm nghiên cứu: T₀: Khi bệnh nhân mới vào viện; T₁: Trước khi tiến hành tiêm hỗn dịch ADSC + PRP; T₂: Sau khi tiêm ADSCs + PRP 7 ngày; T₃: Sau khi tiêm ADSCs + PRP 14 ngày.

Chuẩn bị hỗn dịch ADSCs+ PRP: Chuẩn bị BN như một cuộc phẫu thuật, tiến hành kỹ thuật tại phòng mổ và buồng kỹ thuật:

Tách PRP từ máu ngoại vi: Lấy 28ml máu ngoại vi, tách PRP từ máu ngoại vi bằng bộ kit của công ty GeneWorld.

Tách ADSCs: Lấy khoảng 100ml mô mỡ theo phương pháp Coleman ở vùng bụng hoặc bẹn đùi. Tách ADSCs từ khối mỡ thu được bằng bộ kit ADSCs của công ty Genne World.

Tạo hỗn dịch ADSCs + PRP: Tiến hành trộn hỗn dịch giàu ADSCs và PRP theo tỷ lệ 1:1, trong một ống nghiệm lớn, sau đó lắc đều đến khi nhận được hỗn dịch có màu vàng đặc trưng.

Điều trị vết thương bằng ADSCs + PRP: Chuẩn bị nền vết thương, bảo đảm vết không còn hoại tử, không có các triệu chứng viêm cấp tính (sưng, nóng, đỏ đau). Tiến hành tiêm hỗn dịch chứa ADSCs+PRP tại chỗ VTMT. Chia nhỏ hỗn dịch ADSCs+PRP vào các bơm tiêm, mỗi bơm tiêm chứa 1ml hỗn dịch. Đưa kim tiêm vào các điểm 3, 6, 9 và 12 giờ, tiến hành tiêm hỗn dịch vào tổ chức mô dưới da, xung quanh vết thương ở vùng peri-wound (là vùng cách mép vết thương tối đa 4cm) sao cho hỗn dịch được đưa vào kín xung quanh vùng mép vết thương. Ở các ngày thứ 7 và thứ 14 sau tiêm ADSCs + PRP, tiến hành tiêm nhắc lại tại chỗ VTMT bằng dung dịch PRP. Tiến hành thay băng hàng ngày theo quy trình thay băng VTMT của Bệnh viện Bông Quốc gia cho tới khi vết thương biểu mô khỏi hoàn toàn hoặc vết thương được phẫu thuật ghép da hoặc chuyển vật da che phủ vết thương khi có chỉ định.

Theo dõi, xử lý tai biến hoặc tác dụng không mong muốn toàn thân và tại chỗ VTMT sau trị liệu ADSCs + PRP.

Phương pháp nghiên cứu lâm sàng: Tại các thời điểm nghiên cứu tiến hành:

Đánh giá diễn biến lâm sàng: Diễn biến toàn thân và các cơ quan, chẩn đoán và điều trị các bệnh lý kết hợp theo đúng phác đồ.

Đánh giá diễn biến lâm sàng tại chỗ: Theo dõi hàng ngày tại chỗ VTMT, so sánh các triệu chứng tại các thời điểm nghiên cứu: Tình trạng bờ mép vết thương, nền vết thương; diện tích, độ sâu tổn thương; tình trạng dịch xuất tiết; tình trạng biểu mô hóa; thời gian xuất hiện biểu mô hoá; thời gian vết thương khỏi hoàn toàn; các biện pháp can thiệp sau khi tiến hành trị liệu: Tỷ lệ VTMT tự liền nhờ quá trình biểu mô hóa, tỷ lệ VTMT phải can thiệp phẫu thuật, phương pháp phẫu thuật, kết quả phẫu thuật.

Phương pháp nghiên cứu cận lâm sàng: Tại các thời điểm nghiên cứu: Tiến hành thực hiện phản ứng PAS (Periodic Schiff Acid) để đánh giá khả năng tổng hợp mucopolysaccharid (MPS) của nguyên bào sợi. Sinh thiết mô, xác định hàm lượng Hydroxyprolin và MMP12 trong mô tại chỗ VTMT. Các xét nghiệm trên được thực hiện tại Viện 69, Bộ Tư lệnh bảo vệ lăng Chủ tịch Hồ Chí Minh.

2.3. Xử lý số liệu

Số liệu thu được được xử lý bằng phần mềm Stata 12.0.

3. Kết quả

3.1. Đặc điểm bệnh nhân nghiên cứu

30 BN nghiên cứu có tuổi trung bình $45,2 \pm 14,2$ tuổi, tỷ lệ nam/nữ là 2,75. 66,7% số BN bị hạ liệt do chấn thương cột sống, tủy sống. 20% số BN bị bệnh đái tháo đường. 10% số bệnh nhân bị bệnh tim mạch và 6,7% số BN bị bệnh mạch máu chi dưới. Thời gian tồn tại vết thương trung bình là $6,3 \pm 1,5$ tháng. Diện tích vết thương trung bình là $39,23 \pm 9,18\text{cm}^2$ (15 - 150 cm^2). Số lượng vết thương trung bình trên mỗi bệnh nhân là $1,53 \pm 0,37$ vết thương (trong đó đa phần bệnh nhân có 1 vết thương chiếm 73,3%). Vết thương gặp chủ yếu ở vùng cụt

(66,7%), ụ ngổ (20%), gót chân (16,7%), và máu chuyển (13,3%).

3.2. Diễn biến lâm sàng tại chỗ VTMT sau trị liệu ADSCs+PRP

Bảng 1. Số lượng dịch tiết tại các thời điểm nghiên cứu (n = 30)

Thời điểm	Số lượng dịch tiết		
	Nhiều (n, %)	Vừa (n, %)	Ít (n, %)
T ₀	17 (56,7%)	11 (36,6%)	2 (6,7%)
T ₁	15 (50%)	13 (43,3%)	2 (6,7%)
T ₂	0	19 (63,3%)	11 (36,7%)
T ₃	0	6 (20%)	24 (80%)

Nhận xét: Thời điểm T₀, T₁: Các VTMT đều tiết dịch vừa và nhiều. Thời điểm T₂, T₃: Mức độ tiết dịch nhiều không còn; dịch tiết ít và vừa tăng đáng kể.

Bảng 2. Diễn biến lâm sàng bờ mép VTMT sau trị liệu PRP + ADSC (n = 30)

Tính chất tổn thương	Thời điểm			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
Bờ mép thâm nhiễm cứng, xơ chai	22	15	6	5
Biểu mô hóa từ mép VT	12	14	23	27
Dị ứng	0	0	0	0
Viêm nề, sung huyết da lành sát VT	10	5	0	0
Hoại tử thứ phát	0	0	0	0

Nhận xét: Tỷ lệ VTMT có bờ mép xơ chai, thâm nhiễm cứng giảm dần theo thời gian. Bờ mép ít gặp biểu mô hóa, chủ yếu với biểu hiện bờ mép bám đáy vết thương nhưng không biểu mô; hoặc cuộn mép vết thương (7 BN); bờ mép có đường hầm hoặc hàm ếch (12 BN). Sau khi tiêm PRP + ADSCS, tỷ lệ VTMT có biểu mô hóa tăng lên rõ rệt.

Bảng 3. Diễn biến lâm sàng nền VTMT sau trị liệu ADSCs + PRP (n = 30)

Tại chỗ VT	Thời gian	T ₀ n (%)	T ₁ n (%)	T ₂ n (%)	T ₃ n (%)
Giả mạc, hoại tử		23 (76,67)	19 (63,33)	9 (30)	6 (20)
Lô gân cơ xương		18 (60)	18 (60)	7 (23,33)	3 (10)
Tính chất mô hạt					
Chưa có mô hạt		10 (33,33)	12 (40)	0	0
Mô hạt xấu		16 (53,33)	10 (33,33)	7 (23,33)	2 (6,67)
Mô hạt trung bình		4 (13,33)	8 (26,67)	13 (43,33)	11 (36,67)
Mô hạt đẹp		0	0	10 (33,33)	17 (56,67)

Nhận xét: Trước trị liệu PRP + ADSC 100% không có mô hạt đỏ đẹp, có tới 76,67% VTMT có hoại tử và giả mạc che phủ. Sau trị liệu ADSCs+ PRP số lượng VTMT có mô hạt xuất hiện đặc biệt ở tuần thứ 2 và tuần thứ 3.



Hình 1. Hình ảnh vết thương mắt cá ngoài chân trái do tỳ đè giai đoạn III: (1) Thời điểm T_0 , vết thương chưa có mô hạt, bờ mép xơ chai, gồ cao, cuộn mép. (2) Thời điểm T_1 , vết thương đã có mô hạt đỏ, xuất hiện biểu mô hóa thu hẹp kích thước vết thương. (3) Thời điểm T_2 , mô hạt đỏ đẹp, kích thước thu hẹp có ý nghĩa nhờ quá trình biểu mô hóa.

Bảng 4. Thay đổi diện tích của VTMT sau trị liệu ADSCs + PRP

Trị giá	Thời điểm				p
	T_0 (n = 30)	T_1 (n = 30)	T_2 (n = 26)	T_3 (n = 24)	
Diện tích VT (cm^2) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	$39,23 \pm 12,3$	$30,1 \pm 15,6$	$24,3 \pm 16,7$	$20,7 \pm 13,3$	$p_{0-1} > 0,05$ p_{0-2} và $p_{0-3} < 0,05$

Nhận xét: Kích thước vết thương sau trị liệu PRP + ADSCS giảm có ý nghĩa thống kê ở các thời điểm T_2 , T_3 so với trước khi tiến hành trị liệu DSCs + PRP.

Bảng 5. Phương pháp làm liền VTMT và số ngày điều trị trung bình

Chỉ tiêu theo dõi	Thay băng	Phẫu thuật (n = 26)		
		Chuyển vạt (n = 22)		Ghép da
		Khởi kỳ đầu	Khởi kỳ hai	
Số lượng	4	20	2	4
Tỷ lệ %	13,3	66,7	6,7	13,3
Thời gian điều trị (ngày)	$(\bar{X} \pm \text{SD})$		Range (Min - max)	
	$35,7 \pm 16,9$		22 - 65	

Nhận xét: 13,3% tổng số VTMT liền nhờ quá trình biểu mô hóa (chỉ cần thay băng), 66,7% số VTMT liền ngay kỳ đầu sau phẫu thuật chuyển vạt và 13,3% số VTMT liền nhờ ghép da. Thời gian điều trị trung bình của BN có VTMT được trị liệu ADSCs + PRP là $35,7 \pm 16,9$ ngày.

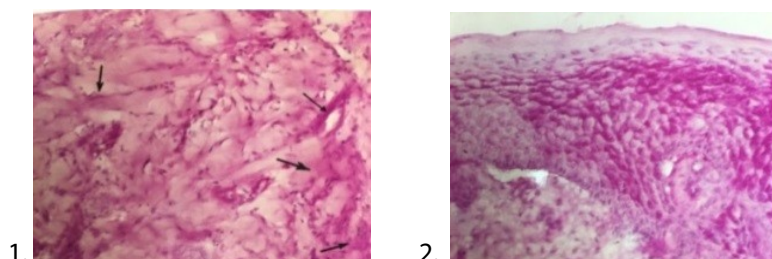
3.3. Diễn biến hóa mô (PAS) của VTMT

Bảng 6. Số lượng các mẫu có phản ứng PAS dương tính (n = 30)

Thời điểm	Vùng tổn thương		
	Biểu bì n (%)	Màng đáy n (%)	Chân bì n (%)
T_0	Mất biểu bì	Mất màng đáy	30 (100)
T_1	6 (20)	6 (20)	30 (100)

T ₂	15 (50)	15 (50)	30 (100)
T ₃	20 (66,67)	22 (73,33)	30 (100)

Nhận xét: Số lượng các mẫu có phản ứng PAS dương tính ở biểu bì và màng đáy tăng sau trị liệu ADSCs+PRP, biểu hiện vết thương có hiện tượng biểu mô hóa từ bờ mép (Hình 1, 2, 3 và 4).



Hình 2. (1) Phản ứng PAS mô liên kết trung bì sau 2 tuần điều trị, chất MPS đậm độ nhiều, bắt màu đậm. (2) Phản ứng PAS biểu bì và màng đáy sau 2 tuần điều trị. Màng đáy dày, rõ, biểu bì đủ các lớp. Chất MPS đậm độ dày, bắt màu đậm.

3.4. Hàm lượng hydroxyprolin và MMP 12 của mô tại chỗ VTMT sau trị liệu ADSCs+PRP

Bảng 7. Hàm lượng hydroxyprolin và MMP12 sau trị liệu ADSCs+PRP

Thời điểm	Hàm lượng hydroxylprolin ($\mu\text{g}/\text{gram mô}$) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)	Hàm lượng MMP12 ($\text{pg}/\text{gram mô}$) ($\bar{X} \pm \text{SD}$)
T ₀ (n = 30)	4,03 $\pm$ 1,20	4231,04 $\pm$ 2062,833
T ₁ (n = 30)	5,80 $\pm$ 4,04	3792,967 $\pm$ 2185,166
T ₂ (n = 26)	13,01 $\pm$ 6,81	3108,122 $\pm$ 2151,01
T ₃ (n = 24)	13,99 $\pm$ 2,55	377,597 $\pm$ 213,906
p	p ₀₋₁ > 0,05, p ₁₋₂ , p ₁₋₃ < 0,01 p ₂₋₃ > 0,05	p ₀₋₁ < 0,05; p ₁₋₂ , p ₁₋₃ < 0,05 p ₂₋₃ < 0,01

Nhận xét: Sau trị liệu PRP+ADSCs hàm lượng hydroxyprolin tăng cao hơn, hàm lượng MMP12 tại chỗ vết thương giảm có ý nghĩa thống kê so với trước điều trị.

4. Bàn luận

Trị liệu ADSCs+PRP và tình trạng viêm tại chỗ VTMT

Trong giai đoạn viêm, bạch cầu trung tính và đại thực bào xâm nhập vào vết thương, loại bỏ mô hoại tử và vi sinh vật gây bệnh, tiết ra các cytokine để kích thích di cư nguyên bào sợi, các tế bào nội mô và keratinocytes. Thiếu hoặc kéo dài giai đoạn viêm đều làm trì trệ quá trình liền vết thương. Viêm kéo dài gây tăng các enzyme phân hủy protein thuộc nhóm Matrix metalloproteinases (MMPs) các

enzyme này gây phá hủy chất nền ngoại bào. Trong khi đó viêm lại gây giảm [Tissue inhibitor of metalloproteinases](#) (TIMPs) là các enzyme ức chế MMPs. Sự thay đổi này có thể gây ra phân hủy nhanh chóng các yếu tố tăng trưởng (Growth Factor) xuất hiện tại VTMT [6], [7]. Liệu pháp tiêm ADSCs+PRP điều trị VTMT có tác dụng làm giảm viêm, biểu hiện: Ở thời điểm trước nghiên cứu, VTMT có biểu hiện viêm kéo dài như bờ mép biểu hiện xơ chai, nền vết thương nhiều giả mạc, dịch xuất tiết nhiều. Sau khi áp dụng liệu pháp ADSCs + PRP tự thân, sau 1 - 2 tuần, biểu hiện viêm tại chỗ giảm rõ rệt. Số lượng dịch tiết giảm, không còn vết thương có dịch tiết nhiều. Tình trạng vết thương có giả mạc cũng giảm. Viêm mạn tính còn biểu hiện bằng hiện tượng bờ mép vết thương xơ chai, thâm nhiễm do tăng lắng đọng chất nền ngoại bào và suy giảm sửa

chữa tái tạo [8]. Trong nghiên cứu, sau khi điều trị bằng liệu pháp 1 tuần và sau 2 tuần, không còn thấy vết thương bị hoại tử, vết thương có bờ mép thâm nhiễm giảm rõ rệt. Những kết quả điều trị trên lâm sàng tại chỗ vết thương cũng phù hợp với kết quả định lượng nồng độ MMP12 mô tại chỗ VTMT. Nồng độ MMP12 tại thời điểm nghiên cứu tăng cao và giảm dần sau trị liệu (Bảng 7).

Trị liệu ADSCs+PRP và khả năng tổng hợp Mucopolysaccharid

Đánh giá thông qua phản ứng PAS: Dưới kính hiển vi quang học, chất căn bản liên kết không có cấu trúc. Chất căn bản mô liên kết chính thức là một chất vô định hình, đồng nhất, trong suốt, làm nền cho tế bào với các phân tử sợi, có tính nhờn với hàm lượng nước và chất điện giải tương đương với máu. Thành phần cấu tạo chủ yếu của chất căn bản liên kết là: (1) Những glycosaminoglycan; (2) Những glycoprotein cấu trúc; (3) Nước và những muối vô cơ tạo thành dịch mô. Mucopolysaccharid (MPS) của proteoglycan - thành phần chính của chất nền ngoại bào, có vai trò quan trọng trong quá trình liền vết thương. Acid hyaluronic (MPS không được sulfat hóa) kích thích các yếu tố tái tạo mô, ức chế tổng hợp proteoglycan, ảnh hưởng tới sự di chuyển các tế bào để tạo mô hạt. Các MPS là sản phẩm chế tiết của nguyên bào sợi. Ở thời điểm T0 trước khi tiến hành trị liệu ADSCs+PRP, tại VTMT không có hiện tượng biểu mô hóa, do vậy vắng các thành phần của biểu bì, gây phản ứng PAS âm tính. Sau 7 ngày trị liệu bắt đầu có hiện tượng biểu mô hóa từ bờ mép, nên xuất hiện phản ứng PAS dương tính ở biểu bì và màng đáy. Mức độ phản ứng PAS (phản ánh hàm lượng MPS) tăng có ý nghĩa sau hai tuần trị liệu, ở biểu bì và cả ở chân bì. Rõ rệt hơn ở tuần thứ 3 sau trị liệu tại chỗ VTMT cấu trúc da dần hình thành lúc này số mẫu có phản ứng PAS dương tính tăng cao tương ứng với việc hình thành cấu trúc của lớp biểu bì. Như vậy, liệu pháp tiêm ADSCs + PRP đã hỗ trợ làm gia tăng hàm lượng MPS, giúp biểu mô hóa hình thành cấu trúc da tại chỗ VTMT.

Tác dụng kích thích tái tạo biểu mô hóa và thu hẹp VTMT

Tác dụng kích thích liền vết thương trên lâm sàng: Kết quả nghiên cứu của chúng tôi cho thấy vết thương trước trị liệu ADSCs + PRP trong tình trạng rối loạn quá trình tái tạo và biểu mô hóa (bờ mép vết thương không có hiện tượng biểu mô, ranh giới bờ mép với da lành rõ ràng, nền VT không có mô hạt. Sau khi áp dụng liệu pháp điều trị, biểu mô hóa từ bờ mép rõ rệt, làm thay đổi tính chất bờ mép thâm nhiễm (một số vết thương trở nên mềm mại) góp phần làm thu hẹp đáng kể diện tích (Bảng 4). Vết thương dần xuất hiện mô hạt đỏ đẹp hơn, sau 3 tuần mô hạt được tạo thành dần phủ kín bề mặt VTMT.

Hiện nay, có nhiều nghiên cứu về vai trò của ADSCs đối với quá trình liền vết thương, đặc biệt VTMT. Các nghiên cứu đều cho rằng ADSCs tiết ra các cytokin, các yếu tố tăng trưởng như IL-6, VEGF- α , EGF, KGF1 và TGF- β 3, stromal cell-derived factor 1, ILGF (insulin-like growth factor-1), angiopoietin-1, các yếu tố này tham gia vào quá trình liền vết thương thông qua khả năng làm giảm viêm, tăng sinh mạch, kích thích, tăng sinh nguyên bào sợi, chế tiết collagen tham gia hình thành cấu trúc trung bì da [9], [10].

Phối hợp ADSCs với PRP (một vật liệu sinh học) điều trị tại chỗ VTMT có tác dụng kép, thúc đẩy liền vết thương, giúp vết thương có thể liền được hoặc cải thiện môi trường vết thương tạo điều kiện cho can thiệp phẫu thuật che phủ thành công. Đây là một hướng đi mới, khoa học, thể hiện một cách tiếp cận đầy hứa hẹn trong nhiều lĩnh vực y học tái tạo, lĩnh vực điều trị vết thương.

Tuy nhiên do đây là nghiên cứu bước đầu được triển khai trên số lượng một nhóm nhỏ bệnh nhân, nên chúng tôi nhận thấy vẫn còn một vài điểm hạn chế cần khắc phục trong những nghiên cứu tiếp theo như sau: Nghiên cứu này không có nhóm đối chứng do đó cần phải triển khai và lựa chọn nhóm đối chứng để làm nổi bật hiệu quả của biện pháp điều trị; bổ sung những chỉ tiêu nghiên cứu chuyên sâu như hóa mô miễn dịch nhằm mục tiêu chỉ rõ vai trò của ADSCs và PRP trong quá trình liền vết thương tại chỗ VTMT.

5. Kết luận

Qua tiến hành trị liệu ADSCs + PRP cho 30 BN có VTMT được chăm sóc và điều trị các bệnh lý nền theo phác đồ, tại Trung tâm Liền vết thương, Bệnh viện Bông Quốc gia, trong thời gian từ tháng 3 năm 2019 đến tháng 07 năm 2020, chúng tôi rút ra một số kết luận sau: Hỗn dịch ADSCs + PRP hỗ trợ kích thích quá trình liền VTMT thông qua:

Giảm viêm tại chỗ VTMT: Giảm tỷ lệ vết thương tiết dịch nhiều, giảm tỷ lệ vết thương viêm nề xung huyết, nồng độ MMP12 của mô tại chỗ VTMT giảm có ý nghĩa so với trước điều trị.

Kích thích quá trình biểu mô hóa ở bờ mép VTMT: Số lượng các mẫu có phản ứng PAS dương tính ở biểu bì và màng đáy tăng sau trị liệu. Kích thước VTMT giảm có ý nghĩa so với trước điều trị.

Hình thành mô hạt đỏ đẹp: Sau trị liệu số VTMT có mô hạt đỏ đẹp tăng cao đặc biệt ở tuần thứ 3, hàm lượng hydroxyprolin trong mô tại chỗ VTMT tăng có ý nghĩa so với trước điều trị.

Tài liệu tham khảo

1. Robert GF, Jaminelli B (2015) *Challenges in the treatment of chronic wounds*. Advances in Wound care 4(9): 560-582.
2. Strong AL, Gimble JM, Bunnell BA (2015) *Analysis of the pro- and anti-inflammatory cytokines secreted by adult stem cells during differentiation*. Stem Cells Int. 2015;412467.
3. Krasnodembskaya A, Song Y, Fang X et al (2010) *Antibacterial effect of human mesenchymal stem cells is mediated in part from secretion of the antimicrobial peptide LL-37*. Stem Cells 28(12): 2229-2238
4. Amable PR, Carias RB, Teixeira MV, Cruz Pacheco I, Correa do Amaral RJ et al (2013) *Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factor*. Stem cell research & therapy 4(3): 67.
5. Markova A, Eliot NM (2012) *US skin Disease assessment: Ulcer and wound care*. Dermatol Clin 30: 107-111.
6. Davis SC, Ricotti C, Cazzaniga A, Welsh E et al (2008) *Microscopic and physiologic evidence for biofilm-associated wound colonization in vivo*. Wound Repair Regen 16: 23-29.
7. Nambu M, Ishihara M, Nakamura S et al (2007) *Enhanced healing of mitomycin C-treated wounds in rats using inbred adipose tissue-derived stromal cells within an atelocollagen matrix*. Wound Repair Regen 15: 505-510.
8. Diegelmann RF, Evans MC (2004) *Wound Healing: An Overview of acute, fibrotic and delayed healing*. Frontiers in Bioscience 9: 283-289.
9. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA (2007) *Adipose-derived stem cells for regenerative medicine*. Circ Res 100: 1249-1260.
10. Ennis WJ, Sui A, Bartholomew A (2013) *Stem cells and healing: Impact on inflammation*. Adv Wound Care 2: 369-378.