

BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO
TỔNG

BỘ Y

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI



NGUYỄN ĐÌNH HÒA

**NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG
GHÉP TBG MÔ MỠ TỰ THÂN ĐIỀU TRỊ
CTCS NGỰC - THẮT LƯNG
LIỆT TỬY HOÀN TOÀN**

Chuyên ngành: CHẨN THƯƠNG CHÍNH HÌNH VÀ TẠO HÌNH

Mã số: 62720129

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

HÀ NỘI - 2014

Công trình được hoàn thành tại:

TRƯỜNG ĐẠI HỌC Y HÀ NỘI

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. NGUYỄN VĂN THẠCH

2. PGS. TS. LÊ VĂN ĐÔNG

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án được bảo vệ trước Hội đồng chấm luận án cấp Trường

Tổ chức tại Trường Đại học Y Hà Nội

Vào hồi giờ phút, ngày tháng năm 2014

Có thể tìm hiểu luận án tại :

- Thư viện Quốc gia
- Thư viện Thông tin Y học Trung ương
- Thư viện Trường Đại học Y Hà Nội

LIÊN QUAN ĐẾN LUẬN ÁN ĐÃ CÔNG BỐ

1. Nhân hai trường hợp ứng dụng ghép tế bào gốc mô mỡ điều trị chấn thương cột sống ngực-thắt lưng liệt tủy hoàn toàn. Tạp chí Chấn thương Chính hình, 2013.
2. Ứng dụng điều trị chấn thương cột sống ngực-thắt lưng bằng ghép tế bào gốc mô mỡ. Tạp chí Chấn Thương Chính hình, 2014.
3. Đánh giá kết quả bước đầu ứng dụng ghép tế bào gốc mô mỡ tự thân trong điều trị chấn thương cột sống ngực-thắt lưng tại bệnh viện Việt đức. Tạp chí tế bào gốc 2015.
4. Đặc điểm và những đặc tính tế bào gốc mô mỡ trên những bệnh nhân chấn thương cột sống liệt tủy hoàn toàn. Tạp chí Tế bào gốc 2015.
5. Báo cáo nhân một trường hợp ứng dụng ghép tế bào gốc tủy xương tự thân trong điều trị chấn thương cột sống ngực-thắt lưng liệt tủy hoàn toàn. Tạp chí Tế bào gốc 2015.

ĐẶT VẤN ĐỀ

CTCS (CTCS) là những thương tổn của xương, dây chằng, đĩa đệm cột sống gây nên tình trạng tổn thương thần kinh tạm thời hoặc vĩnh viễn cho bệnh nhân. CTCS có liệt tủy hoàn toàn thường xảy ra khi tổn thương nằm trên nón tủy, biểu hiện lâm sàng mất hoàn toàn vận động và cảm giác dưới mức tủy tổn thương bao gồm cả cảm giác quanh hậu môn. Sau chấn thương xương cột sống, đĩa đệm và dây chằng chèn ép tủy sống, sẽ có một loạt quá trình sinh bệnh học diễn ra, nếu không được can thiệp hoặc can thiệp không hiệu quả sẽ dẫn đến tổn thương tế bào thần kinh, phá hủy sợi trục, thoái hóa myelin gây liệt vận động và cảm giác. Mức độ liệt sau CTCS phụ thuộc vào mức độ tổn thương tủy và sự “tái sinh” của sợi trục thần kinh.

TBG (TBG) là những tế bào chưa có chức năng chuyên biệt, có khả năng tăng sinh mạnh mẽ, có tiềm năng phát triển thành nhiều loại tế bào khác nhau và có khả năng tự thay mới. TBG tự thân cho người trưởng thành không bị thải loại miễn dịch khi ghép lại cơ thể. Các nghiên cứu *in vitro* cho thấy TBG từ mô mỡ có thể biệt hóa thành tế bào thần kinh, điều này thể hiện tiềm năng của chúng trong chữa trị bệnh lý có thương tổn tế bào thần kinh.

CTCS có liệt tủy hoàn toàn, với tổn thương thần kinh trầm trọng, dù được phẫu thuật cố định cột sống, giải phóng chèn ép thì khả năng phục hồi gần như rất thấp. Do đó, ghép TBG có thể là một phương án phối hợp giúp tăng tỷ lệ phục hồi liệt vận động, cảm giác, hoặc khắc phục một phần di chứng của tổn thương tủy như rối loạn cơ tròn, loét tỳ đè... Từ những cơ sở lý luận và thực tiễn như trên, chúng tôi tiến hành đề tài: “**Nghiên cứu ứng dụng ghép TBG mô mỡ tự thân điều trị CTCS ngực – thất lưng liệt tủy hoàn toàn**” nhằm các mục tiêu sau:

- 1. Mô tả đặc điểm lâm sàng và cận lâm sàng của bệnh nhân tổn thương cột sống ngực – thất lưng liệt tủy hoàn toàn được chỉ định ghép TBG.*
- 2. Đánh giá kết quả điều trị của phương pháp ghép TBG mô mỡ tự thân trong CTCS ngực – thất lưng liệt tủy hoàn toàn.*

Tính cấp thiết và an toàn của luận án

Kirshblum và cộng sự nghiên cứu trên 987 bệnh nhân ở 16 trung tâm thu được kết quả hồi phục tự nhiên như sau: 94,4% ASI_A không hồi phục, chỉ có khoảng 3,5% ASI_A sang ASI_B và 1,05% ASI_A sang ASI_C hoặc ASI_D. Tại Việt nam gần đây có nhiều nghiên cứu ứng dụng TBG trong điều trị, nhưng trong ngành chấn thương chỉnh hình nói chung cũng như trong điều trị CTCS liệt tủy nói riêng còn rất hạn chế. Do đó việc nghiên cứu ứng dụng ghép TBG mô mỡ tự thân điều trị CTCS ngực – thắt lưng là cần thiết hiện nay.

Việc tiêm/truyền TBG mô mỡ tự thân vào các vị trí khác nhau cho các bệnh nhân CTCS ngực – thắt lưng liệt tủy hoàn toàn an toàn, quan sát không có tác dụng phụ không mong muốn nghiêm trọng đồng thời giúp tăng tỷ lệ phục hồi liệt vận động, cảm giác, hoặc khắc phục một phần di chứng của tổn thương tủy như rối loạn cơ tròn, loét tỳ đè...

Những đóng góp mới của luận án

- Là công trình nghiên cứu đầu tiên tại Việt Nam đề cập đến việc ứng dụng TBG mô mỡ trong điều trị CTCS có liệt tủy; trong đó bao gồm sử dụng công nghệ phân lập, nuôi cấy và định danh TBG mô mỡ đầu tiên tại Việt Nam.

- Là công trình nghiên cứu đầu tiên ứng dụng kết hợp các con đường khác nhau đưa TBG vào đối tượng nghiên cứu để tận dụng các ưu điểm của từng cơ chế hoạt động của TBG.

Bố cục của luận án

Luận án có 119 trang, bao gồm các phần: đặt vấn đề (3 trang), tổng quan (42 trang), đối tượng và phương pháp nghiên cứu (25 trang), kết quả (23 trang), bàn luận (23 trang), kết luận (2 trang), kiến nghị (1 trang). Luận án có 39 bảng, 20 hình, 5 biểu đồ, tài liệu tham khảo có 127 tài liệu tiếng Việt và tài liệu tiếng Anh.

Chương 1

TỔNG QUAN

1.1. NHỮNG VẤN ĐỀ LIÊN QUAN TỚI CTCS LIỆT TỦY

Diễn biến bệnh lý sau chấn thương tủy sống có thể phân theo giai đoạn (cấp tính – mãn tính) hay theo cơ chế thương tổn cấu trúc (nguyên phát – thứ phát). Hai cách phân chia này liên kết chặt chẽ với nhau. Thương tổn nguyên phát hay thứ phát đều có thể xảy ra trong giai đoạn cấp tính hay giai đoạn mãn tính. Thương tổn nguyên phát do lực chấn thương tác động lên tổ chức tủy làm đứt các sợi trục, dập nát các tế bào thần kinh, đứt các mạch máu. Trong giai đoạn cấp (theo định nghĩa là 8 giờ đầu sau chấn thương), chảy máu và hoại tử xảy ra trong chất xám của tủy, tiếp theo là phù nề và chảy máu trong chất trắng của tủy ở 8 giờ tiếp theo. Về sau, các tế bào viêm xâm lấn khu vực tổn thương cùng với sự tăng sản của tế bào đệm. Sự hình thành các tổ chức sẹo và các nang xảy ra từ tuần thứ 1 – 4. Thương tổn thứ phát xảy ra do thiếu tưới máu bởi sự giảm lưu lượng của hệ thống mạch nuôi của đoạn tủy. Sự giảm tưới máu có thể do ống sống bị vỡ gây chèn ép, do chảy máu, do phù nề hoặc do tình trạng tụt huyết áp. Thường thường tất cả các yếu tố này đều tham gia làm tổn thương tủy. Trong giai đoạn cấp, thiếu máu gây nên một loạt các phản ứng sinh học dẫn đến vỡ màng tế bào và hoại tử tế bào. Hàng loạt các phản ứng này đã được nghiên cứu và chứng minh để làm cơ sở tác động của một số thuốc điều trị. Sau này trong giai đoạn mạn, các neuron có thể có sự tái sinh bằng phát triển sợi trục và đuôi gai, nhưng quá trình này bị hủy bỏ hay ức chế do một số hiệu lệnh từ bên trong hoặc từ bên ngoài [3],[4],[5].

Khi tủy bị chấn thương, tủy thuộc vào đoạn tủy hay phần tủy nào bị thương tổn mà có những biểu hiện lâm sàng khác nhau.

- Thương tổn tủy hoàn toàn: mất hoàn toàn vận động, cảm giác, các phản xạ và rối loạn hệ thần kinh thực vật.
- Thương tổn tủy không hoàn toàn: Thương tổn tủy không hoàn toàn thể hiện bằng 4 hội chứng: Hội chứng tủy trước, Hội chứng tủy sau, Hội chứng tủy trung tâm, Hội chứng Brow - Sesquard[14].

1.2. QUÁ TRÌNH HẸN GẮN TỔN THƯƠNG THẦN KINH

Ngay sau chấn thương xương cột sống, đĩa đệm và dây chằng chèn ép tủy sống, một loạt quá trình sẽ diễn ra. Lúc đầu là sự thiếu tưới máu do đưng dập và phù nề tổ chức dẫn đến tổn thương tế bào thần kinh, phá hủy sợi trục, thoái hóa myelin gây liệt vận động và cảm giác. Tiếp theo là quá trình của các phân tử và tế bào với sự xâm nhập của các yếu tố viêm gây nên tổn thương thứ phát vùng cận trung tâm hoặc các vùng lân cận. Muộn hơn là vai trò của yếu tố như gen liên quan tái sinh “regenerative-associated genes: RAGs”, phát triển sợi trục, tân tạo mạch máu, xâm nhập của các tế bào Schwann, các bạch cầu đến tiêu hủy tổ chức chết, tân tạo myeline [18].

Liệt sau chấn thương phụ thuộc vào mức độ tổn thương tủy và sự “tái sinh” của sợi trục thần kinh. Thường gãy trật vùng cột sống phía trên của nón tủy gây đưng dập một vùng lớn của tủy sống sẽ liệt hoàn toàn vận động, cảm giác, cơ hội phục hồi vận động và rối loạn cơ tròn rất thấp. Sự tái sinh của sợi trục chịu ảnh hưởng của quá trình viêm và liền sẹo thần kinh.

1.3. TRIỆU CHỨNG LÂM SÀNG VÀ CHẨN ĐOÁN HÌNH ẢNH

1.3.1. Triệu chứng lâm sàng [2]

CTCS ngực - thắt lưng có liệt tủy cần phải xác định liệt tủy hoàn toàn hay không hoàn toàn.

Liệt tủy hoàn toàn: là tình trạng mất hoàn toàn chức năng vận động và cảm giác dưới mức thương tổn nhưng vẫn còn phản xạ hành hang. Nếu phản xạ này mất tức là có choáng tủy và phải đợi hết giai đoạn này (khi có phản xạ hành hang trở lại) thì mới xác định được thương tổn tủy biểu hiện trên lâm sàng. Thường sóc tủy hết sau 24 - 48 giờ và bệnh nhân có phản xạ trở lại. Các biểu hiện rối loạn cơ tròn, rối loạn dinh dưỡng, dương vật cương cứng. Khám vùng hậu môn: da, cơ thắt, phản xạ hành hang. Trong trường hợp mất vận động và cảm

giác hoàn toàn nhưng phản xạ cơ thắt còn thì liệt là không hoàn toàn. Dựa vào khám vận động và thang điểm cơ lực chi theo Frankel để phát hiện mức độ tổn thương.

Ngoài ra còn có hội chứng đuôi ngựa được đặc trưng bởi rối loạn chức năng của bàng quang và ruột, rối loạn cảm giác da quanh hậu môn và một số thay đổi về cảm giác cũng như rối loạn vận động ở chi dưới [21].

1.3.2. Cận lâm sàng [2]

Cần khám lâm sàng kỹ trước khi chỉ định các xét nghiệm cận lâm sàng, giúp xác định chính xác vị trí tổn thương cột sống.

- **Chụp X quang:** Trên phim đánh giá được tình trạng gãy xương, xẹp thân đốt sống, hẹp khe khớp, trượt đốt sống, gấp góc cột sống. đánh giá độ mở rộng của cuống sống, mở rộng khe liên gai và lệch trục các móm gai, hẹp khe liên đốt. đánh giá độ toác rộng khe khớp bên và biến dạng lổ tiếp hợp.
- **Cắt lớp vi tính:** **Đánh giá những tổn thương cung sau, các mảnh xương vỡ cài vào trong ống tủy nhưng khó đánh giá những tổn thương di lệch trước-sau**
- **Chụp cộng hưởng từ:** **Hình ảnh thấy được là các tổn thương về xương, thoát vị đĩa đệm, tổn thương dây chằng, máu tụ ngoài màng tủy, các tổn thương tủy sống như phù tủy, đưng dập tủy hay đứt tủy.**
- **Đo chức năng bàng quang:** Thăm dò niệu động học là phương pháp duy nhất để mô tả khách quan chức năng/rối loạn chức năng đường tiểu dưới, là phương pháp then chốt để mô tả tình trạng đường tiểu dưới ở bệnh nhân rối loạn chức năng bàng quang cơ thắt do nguyên nhân thần kinh.
- **Đo điện chẩn thần kinh cơ:** đánh giá toàn vẹn của hệ thần kinh ngoại biên và đo chỉ số SEP điện thế gọi cảm giác.

1.4. CÁC PHƯƠNG PHÁP ĐIỀU TRỊ CTCS CÓ LIỆT TỦY

1.4.1 Nguyên tắc chung

Xu hướng chung là tiến hành phẫu thuật với những tổn thương mắt vững. Với ưu điểm: có thể tập vận động sớm, giảm đau, thuận lợi chăm sóc, sớm trở lại công việc, tránh được các biến chứng muộn. Tuy nhiên, đối với một số loại gãy do cơ chế nén tương đối ổn định, thì các nghiên cứu chỉ ra rằng kết quả lâu dài và sự hồi phục tùy của việc phẫu thuật hay bảo tồn không có sự khác biệt đáng kể. Đối với những loại gãy xương vỡ vụn luôn tiềm ẩn nguy cơ tổn thương thần kinh, thì việc quyết định mổ giải phóng chèn ép, làm vững cột sống đem lại kết quả tốt hơn có ý nghĩa. Vì vậy việc quyết định phẫu thuật hay bảo tồn dựa trên nhiều yếu tố: tổn thương phối hợp, mức độ tổn thương thần kinh, và mức độ tổn thương phần mềm để đưa ra chỉ định mổ [28].

Giải ép: mức độ tổn thương tùy có liên quan tới lực và thời gian chèn ép. Nhiều thử nghiệm trên động vật cho thấy nếu giải ép sớm sẽ tăng khả năng hồi phục tùy. Tuy nhiên, đây là nghiên cứu trên mô hình động vật gây chấn thương không đồng nhất, không có nhóm chứng ngẫu nhiên [29]. Mặt khác, một số nghiên cứu ghi nhận có sự hồi phục thần kinh sau khi giải ép muộn sau CTCS, như vậy việc giải ép vào thời điểm nào sau chấn thương còn là một chủ đề tranh luận. Nhưng đa số các tác giả đều nhấn mạnh vai trò của việc giải ép thần kinh ở thời điểm sớm sau CTCS để tránh được các tổn thương thứ phát [30],[31] [32]. Phẫu thuật giải ép được chỉ định khi thân đốt sống vỡ mà tổn thương thần kinh, đặc biệt là khi có sự liên quan giữa tổn thương trên lâm sàng và hình ảnh chèn ép tùy trên phim cộng hưởng từ và CT. Có hai phương thức giải ép là giải ép trực tiếp và giải ép gián tiếp.

- *Giải ép gián tiếp* là kỹ thuật sử dụng nắn chỉnh mảnh xương trong ống tùy mà không can thiệp vào mảnh xương đó. Theo Edwards giải ép gián tiếp nhằm các mục đích: [2]

+ Đem lại trục giải phẫu

+ Giảm nẹp phía sau làm căng dây chằng dọc sau, sẽ đẩy miếng xương vỡ ra phía trước.

+ Ưỡn tối đa cột sống để tăng cường đẩy miếng xương ra trước.

* Ưu điểm của giải ép gián tiếp:

+ Không thao tác trực tiếp các thành phần ống tủy (rễ, tủy sống, màng cứng).

+ Không làm tổn thương phức hợp dây chằng phía sau nên không làm mất vững cột sống.

- *Giải ép trực tiếp*: có hai hình thức một là giải ép trực tiếp qua đường mổ phía sau và giải ép trực tiếp qua đường mổ phía trước.

+ Giải ép trực tiếp phía sau: được thực hiện bởi thủ thuật mở cung sau phối hợp với lấy một phần thân đốt sống, đẩy mảnh xương chèn ép ra phía trước.

+ Giải ép trực tiếp phía trước: có nhiều tác giả cho rằng việc lấy mảnh xương chèn ép ở phía trước là an toàn và triệt để hơn. Với những tổn thương vỡ nát thân đốt sống nếu chỉ định cố định và giải ép lồi sau mà không tạo dựng lại được cột trụ giữa và trước thì sẽ gây ra gù cột sống [2].

Thời gian tiến hành phẫu thuật: đã có rất nhiều tác giả nghiên cứu thời gian thích hợp phẫu thuật sau CTCS. Nhưng vẫn là một chủ đề gây tranh cãi, một số tác giả qua thử nghiệm lâm sàng chỉ ra rằng không có khác biệt khi giải ép trước 72 giờ. Các tác giả khác ủng hộ quan điểm giải ép sớm trước 12 giờ có thể an toàn hơn và kết quả hồi phục tủy cao hơn. La Rosa (2004) và cộng sự tiến hành phân tích gộp 1687 bệnh nhân được tiến hành giải ép sớm lấy mốc 24 giờ chia làm hai nhóm. Kết quả thu được nhóm trước 24 giờ có tỷ lệ hồi phục thần kinh cao hơn [33].

1.4.2. Liệu pháp TBG trong điều trị CTCS có liệt tủy

TBG là tế bào nền móng của tất cả các tế bào, mô và cơ quan trong cơ thể. Về cơ bản, mọi tế bào trong cơ thể người đều có nguồn gốc từ trứng đã thụ tinh (còn được gọi là hợp tử) – chính là sự kết hợp giữa tinh trùng và trứng. Hợp tử này là TBG toàn năng có khả năng biệt hóa thành các loại tế bào khác nhau trong giai đoạn phát triển sớm nhất của phôi. Ở giai đoạn này, cũng như giai đoạn phát triển sau đó, các loại TBG đã hình thành nên tế bào chuyên biệt hay biệt hóa để rồi thực hiện các chức năng cụ thể trong cơ thể người; ví dụ như tế bào da, tế bào máu, tế bào cơ và tế bào thần kinh,... Cũng trong giai đoạn phát triển của phôi, tế bào mầm (hay tế bào sinh dục) được hình thành, tồn tại trong cơ thể người và tạo nên một chu kỳ sống.

TBG là những tế bào không (hoặc chưa) chuyên hóa trong mô sống, chúng có khả năng trở thành các tế bào chuyên hóa với các chức phận sinh lí. Trong điều kiện *in vivo* hay *in vitro*, mỗi TBG có thể tự làm mới với các tính năng riêng biệt mới. Với một định nghĩa nghiêm khắc nhất, một TBG đòi hỏi ít nhất phải có hai đặc tính sau:

- Tính tự làm mới (*self-renewal*): tế bào đó khả năng tiến hành một số lượng lớn chu kỳ phân bào nguyên nhiễm, mà vẫn duy trì trạng thái không biệt hóa.
- Tính tiềm năng không giới hạn (*unlimited potency*): tế bào đó có khả năng biệt hóa thành bất kì kiểu tế bào trưởng thành nào. Trên thực tế, đặc tính này chỉ đúng với các TBG toàn năng hoặc vạn năng, tuy nhiên một TBG đa năng (hay tế bào tiền thân) cũng nhiều khi được gọi là TBG [34].

Bên cạnh đó, một số nhà khoa học còn bổ sung thêm một đặc điểm của TBG đó là: TBG phải là tế bào chưa chuyên biệt và chưa trưởng thành về mặt hình dạng, cấu trúc và chức năng [35].

Điều trị tổn thương não và tủy sống là một thách thức lớn cho ngành y học. Các phương pháp điều trị hiện nay không mang lại nhiều hiệu quả, một phần là do những hạn chế trong việc tiếp xúc với vùng tổn thương của các tác nhân trị liệu khi đưa vào hệ thần kinh trung ương (central nervous system - CNS). Sử dụng TBG trong điều trị các tổn thương này là một chiến lược điều trị mới, nhiều tiềm năng hứa

hện (Hình 1.9). Một loạt các thử nghiệm sử dụng TBG như một liệu pháp thay thế tế bào (cell-replacement strategy) nhằm điều trị các tổn thương của hệ thần kinh trung ương trên các mô hình động vật đã được tiến hành. Một số các chiến lược điều trị tiềm năng khác là sử dụng TBG như một cơ chế phân phối các phân tử trị liệu.

Chương 2

ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. ĐỐI TƯỢNG

Tiêu chuẩn tham gia:

Đối tượng hiểu và kí giấy chấp nhận tham gia vào nghiên cứu này

Tuổi: 18-60.

Không phân biệt giới.

Có chẩn đoán lâm sàng tổn thương tủy sống (hiệp hội tổn thương tủy sống của Mỹ (ASIA_A) ở cấp độ A).

Khoảng thời gian tổn thương <14 ngày.

Tiêu chuẩn loại trừ:

Đối tượng phải thở bằng máy

Đối tượng có khối u ác tính trong vòng 5 năm.

Đối tượng bị bệnh truyền nhiễm bao gồm HIV và viêm gan C.

Các đối tượng bị tổn thương ở não hoặc chấn thương phối hợp khác.

Các đối tượng có nhiệt độ cơ thể cao hơn 38 °C hoặc rối loạn cấp tính.

Đối tượng bị thiếu máu hoặc giảm tiểu cầu.

Đối tượng với chứng đau thắt ngực, nhồi máu cơ tim, bệnh tim, bệnh tắc mạch, suy thận mạn tính, bệnh cầu thận và bệnh tắc nghẽn phổi mạn tính.

Đối tượng rối loạn suy giảm miễn dịch bẩm sinh hoặc mắc phải.

Đối tượng với chứng loạn dưỡng cơ hoặc cứng khớp.

Bệnh nhân không có ý thức hoặc rối loạn giọng nói điều trị với các thuốc gây độc tế bào (thuốc ức chế miễn dịch, corticosteroid và thuốc gây độc tế bào) trong suốt các thử nghiệm lâm sàng.

Tham gia một thử nghiệm lâm sàng khác trong vòng 3 tháng.

Bị bệnh nghiêm trọng khác hoặc bị rối loạn có thể ảnh hưởng nghiêm trọng đến khả năng tham gia nghiên cứu.

Phụ nữ có thai hay đang cho con bú.

Dị ứng kháng sinh, thuốc mê.

Không đồng ý tham gia nghiên cứu.

2.2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.2.1. Công cụ đánh giá

2.2.1.1. Cận lâm sàng

a. X-Quang và chụp cắt lớp vi tính

* *Vai trò của phim X – Quang quy ước:* Dựa vào thăm khám lâm sàng (khu trú điểm đau và ranh giới rối loạn cảm giác) để khu trú được vùng tổn thương để đề nghị chụp vùng nghi ngờ. Chụp hai tư thế thẳng, nghiêng quy ước.

* *Vai trò của chụp cắt lớp vi tính:* Đánh giá tốt nhất được sự toàn vẹn của xương, di lệch của diện khớp và đặc biệt có thể dự đoán được tổn thương thần kinh. CT có cả hai tư thế chụp thẳng và nghiêng và xác định chính xác vị trí tổn thương hay sự mất vững. Mặc dù, có rất nhiều quan điểm khác nhau về đánh giá mất vững, nghiên cứu nhận biết các dấu hiệu về mất vững theo Daffner và cộng sự.

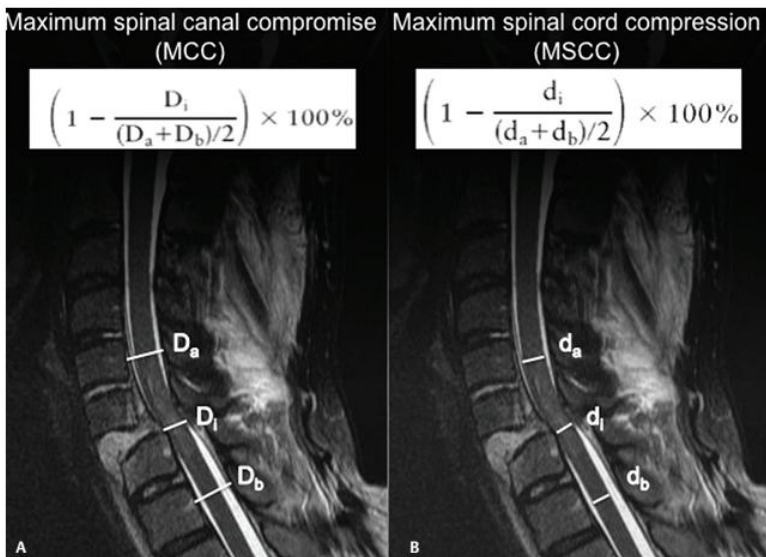
b. Đánh giá tủy sống và phần mềm qua cộng hưởng từ (CHT).

Những năm gần đây sự phát triển của cộng hưởng từ hạt nhân đã giúp đánh giá cải thiện chức năng tủy sống. CHT đã trở thành phương tiện hữu ích để đánh giá tổn thương tủy, khả năng hồi phục tủy và mức độ cải thiện sau điều trị. Fehling và cộng sự đã đưa ra hai chỉ số MCC (maximal canal compromise – mức độ tổn thương ống sống tối đa) và MSCC (maximal spinal cord compression – mức độ chèn ép tủy sống tối đa) để đánh giá tổn thương cột sống, chèn ép tủy trước và sau điều trị [80]. Chỉ số MCC và MSCC được đo lường theo công thức dưới đây:

$(MCC=[1-Di/((Da+Db)/2)] \times 100\%)$ Với Di: Độ rộng ống sống tại vị trí chính giữa tổn thương, Da: Độ rộng ống sống tại vị trí tổn thương trên, Db: Độ rộng ống sống tại vị trí tổn thương dưới

$(MSCC=[1-di/((da+db)/2)] \times 100\%)$ Với di: Độ rộng tủy sống tại vị trí chính giữa tổn thương, da: Độ rộng tủy sống tại vị trí tổn thương trên, db: Độ rộng tủy sống tại vị trí tổn thương dưới [80].

Phương pháp đo lường được mô tả tổng quát ở hình bên dưới:



Hình 2.1. Phương thức đo lường trên kết quả CHT

c. Đánh giá chức năng bàng quang [22]

Đánh giá rối loạn chức năng cơ thắt do thần kinh dựa vào việc thăm dò niệu động học. Kết quả quá trình thăm dò niệu động học ghi nhận sự thay đổi của 4 chỉ số: số cơn co bóp không tự chủ, sức chứa bàng quang tối đa (Vmax), độ giãn nở bàng quang (D) và áp lực bàng quang tối đa.

Quá trình thăm dò niệu động học được tiến hành tại Trung tâm Phục hồi chức năng Bệnh viện Bạch Mai.

d. Điện cơ và điện thế gọi (EMG và SSEP)

Vai trò: đánh giá sự toàn vẹn của thần kinh ngoại biên và sự phục hồi của tủy sống dựa trên tín hiệu đáp ứng thu được tại hiệu điện thế kích thích.

2.2.1.2. Lâm sàng

- + Đánh giá dấu hiệu toàn thân: M, HA, nhiệt độ
- + Đánh giá mức độ liệt dựa trên thang điểm AIS trước và sau ghép TBG ở thời điểm 3 tháng, 6 tháng, 12 tháng.
- + Đánh giá chất lượng cuộc sống qua thang điểm SF36.
- + Đánh giá chức năng đại tiểu tiện qua thang điểm Bathrex.
- + Đánh giá mức độ mất khả năng vận động lưng dưới qua thang điểm OSWESTRY

2.2.2. Mô tả nghiên cứu

2.2.2.1. Loại hình nghiên cứu

Đây là nghiên cứu lâm sàng có can thiệp và theo dõi dọc.

2.2.2.2. Sơ đồ tiến độ của nghiên cứu

Ngày -14 - Ngày -3: Lựa chọn bệnh nhân, tiến hành kiểm nghiệm các xét nghiệm (MRI (baseline), X-Ray, máu, v.v.).

Ngày -2: Bệnh nhân hoàn thành hợp đồng và các cam kết tham gia nghiên cứu.

Ngày 0: Mổ, lấy 80cc mỡ, phân lập TBG, tiêm lần 1 trực tiếp ở vùng tổn thương 1.5×10^6 - 4×10^6 TBG (ADSC), 4×10^6 TBG (ADSC) được tiến hành nuôi cấy.

Ngày 7: Tiến hành tập vật lý trị liệu tại Bệnh viện Bạch Mai, mỗi ngày một lần đến ngày 14.

Ngày 14: Bệnh nhân xuất viện và vẫn làm vật lý trị liệu ở cơ sở chỉ định theo lịch trình cụ thể của Bác Sĩ đến thời gian chỉ định.

Ngày 30: Tiêm lần 2 số lượng $20-30 \times 10^6$ TBG (ADSC)/8cc vào khoang dưới nhện vùng L2.

Ngày 45: Tiêm lần 3 số lượng $20-30 \times 10^6$ TBG (ADSC)/8cc vào khoang dưới nhện vùng L2.

Ngày 52: Chụp MRI lần 1.

Ngày 60: Tiêm lần 4 qua đường tĩnh mạch, số lượng 1×10^8 TBG (ADSC)/100cc. Chụp MRI kiểm tra lần 2 ở chu kỳ 1.

Ngày 90 (3 tháng): Theo dõi bệnh nhân chu kỳ 1. Đánh giá chức năng bàng quang và điện cơ – SSEP.

Ngày 120 (4 tháng): Theo dõi bệnh nhân chu kỳ 2. Chụp MRI kiểm tra lần 3 ở chu kỳ 2.

Ngày 180 (6 tháng): Theo dõi bệnh nhân chu kỳ 3.

Ngày 365 (12 tháng): Theo dõi bệnh nhân chu kỳ 4.

Ngày 548 (18 tháng): Theo dõi bệnh nhân chu kỳ 5.

Ngày 730 (24 tháng): Theo dõi bệnh nhân chu kỳ 6.

2.2.2.3. Phương pháp phân tích số liệu

Số liệu sẽ được nhập vào máy tính theo bệnh án được số hoá và được xử lý theo chương trình phần mềm thống kê y học Stata.10.

2.2.3. Chỉ định ghép TBG

Chỉ định ghép TBG mô mỡ tự thân cho những trường hợp CTCS có liệt tủy hoàn toàn đã được chẩn đoán dựa trên lâm sàng và hình ảnh theo những tiêu chuẩn lựa chọn và loại trừ như trên.

Chương 3

KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ HÌNH ẢNH CẬN LÂM SÀNG

3.1.1. Triệu chứng lâm sàng

Bảng 3.1. Triệu chứng lâm sàng

	n	(%)
AISA_ A	54	100
Mất phản xạ cơ thắt	54	100
Phản xạ hành hang dương tính	54	100
Tổng		100

3.1.2. Đặc điểm chẩn đoán hình ảnh

3.1.2.1. Hình ảnh trên X- quang và CT

Bảng 3.2. Phân loại bệnh nhân theo vị trí chấn thương

Vị trí tổn thương	n	Tỉ lệ	Tỉ lệ cộng dồn
T1-T4	2	3.7%	3.7%
T5-T8	8	14.8%	18.5%
T9-T11	15	27.8%	46.3%
T12-L1	29	53.7%	100%

Tổng cộng	54	100%	100%
-----------	----	------	------

3.1.2.2. Hình ảnh trên cộng hưởng từ (CHT)

Bảng 3.3. Tỷ lệ các loại thương tổn

Loại thương tổn	N	Tỷ lệ %
Thoát vị đĩa đệm	10	18,5%
Máu tụ ngoài màng tủy	7	12,96%
Tổn thương tủy sống	54	100%
Tổn thương phần mềm	54	100%

3.2. ĐẶC ĐIỂM VÀ ĐẶC TÍNH TBG MÔ MỠ

3.2.1. Số lượng, chất lượng, đặc điểm TBG mô mỡ trên bệnh nhân CTCS ngực-thắt lưng liệt tủy hoàn toàn

Bảng 3.4. Số lượng, chất lượng và đặc điểm TBG

Lần tiêm		Mũi 1 (n = 27)	Mũi 2 (n = 27)	Mũi 3 (n = 27)	Mũi 4 (n = 27)
Số lượng (Mean±SD)	Mật độ tế bào (106/ml)	0.45 ± 0.24	3.62 ± 0.42	3.60 ± 0.38	10.07 ± 13.65
	Thể tích (ml)	8	8	8	10
	Tổng số tế bào (x106)	3.59 ± 1.89	28.97 ± 3.36	28.83 ± 3.04	100.7 ± 13.65

Chất lượng	Tỷ lệ % tế bào sống bằng hoặc trên 95%	27/27	27/27	27/27	27/27
	% Đạt chuẩn vô trùng (vi khuẩn, nấm, endotoxin, mycoplasma)	27/27	27/27	27/27	27/27
Đặc điểm bề mặt (Mean±SD)	% CD90+	52.31 ± 9.76	98.71 ± 15.56	99.00 ± 0.20	98.98 ± 0.13
	% CD105+	46.07 ± 9.19	86.60 ± 5.45	86.52 ± 4.79	87.15 ± 3.65
	% CD73+	45.41 ± 7.49	94.71 ± 5.22	95.61 ± 3.08	95.56 ± 3.30
	% CD166+	47.53 ± 7.58	95.14 ± 3.15	96.74 ± 2.70	95.43 ± 3.56
	% CD14-	9.99 ± 5.27	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00

3.2.2 Mối tương quan giữa kết quả TBG với kết quả điều trị

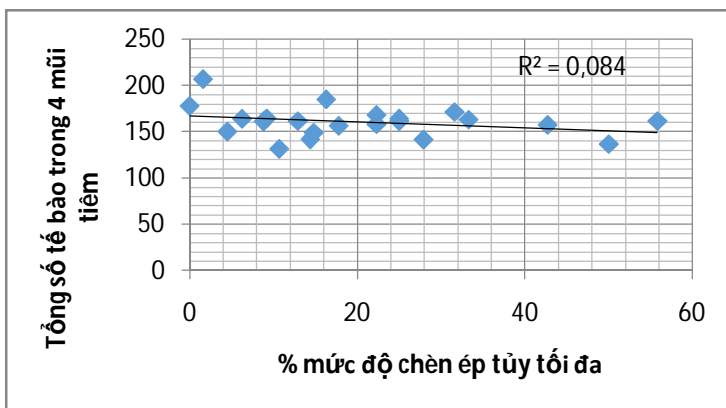
3.2.2.1. Hiệu quả mũi tiêm 2 và 3 (mũi tiêm chọc tủy sống thất lưng)

Bảng 3.5. Lượng TBG mũi tiêm 2 còn lại trong dịch não tủy sau 15 ngày tiêm

Mẫu	Số lượng tế bào khi tiêm mũi 2 (triệu tế)	Số lượng tế bào sau 15 ngày (triệu tế)	Tỷ lệ sống của tế bào (%)	Số lượng tế bào sau khi trừ TB lympho (triệu)	% tế bào sau 15 ngày/ lượng tế bào tiêm ban đầu
-----	--	--	---------------------------	---	---

	bào/ml)	bào/ml)		tế bào/ml)	
TPA045	3.75	1,0	90	0.995	27%
TPA049	3.375	0.1	95	0.095	3%
TPA050	3.75	0.22	90.9	0.215	6%
TPA054	3.75	0.3	66.6	0.295	8%

3.2.2.2. Mối tương quan giữa kết quả TBG mô mỡ với mức độ chèn ép tủy tối đa (Maximum spinal cord compression-TBG TRUNG MÔC) sau 6 tháng tiêm mũi 1.



Biểu đồ 3.2. Mối tương quan giữa tổng số lượng TBG 4 mũi tiêm và mức độ chèn ép tủy

3.3. NGHIÊN CỨU ĐIỀU TRỊ PHẪU THUẬT VÀ ỨNG DỤNG GHEP TBG

Bảng 3.6. Đánh giá tính an toàn của các phương thức cấy ghép TBG

Phương thức ghép	Thời điểm	Tác dụng phụ							
		Bồn chồn	Sốt	Phát ban	Cơ thắt phế quản	Tăng nhịp tim	Đau đầu	Đau lưng	Buồn nôn
Tiêm trực tiếp vào vùng tổn thương, và khoang nhện	Ngay sau chấn thương, đồng thời với can thiệp cố định cột sống	3.7%	7.4%	0%	0%	0%	3.7%	14.8%	0%
Tiêm vào cột sống thắt lưng L2	30 ngày và 45 ngày sau mũi tiêm thứ nhất	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7.4%	0%
Truyền tĩnh mạch	60 ngày sau tiêm mũi 1	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

3.4. ĐÁNH GIÁ KẾT QUẢ.

3.4.1. Phục hồi thần kinh sau ghép

Bảng 3.7. Phục hồi thần kinh sau ghép 12 tháng

Tình trạng TK		Khi khám lại sau 12 tháng					Tổng
		A	B	C	D	E	
Nhóm chứng	A	25	2	0	0	0	27

Nhóm điều trị	A	11	10	4	2	0	27
Tổng		36	12	4	2	0	54

3.4.2. Đánh giá kết quả trên cộng hưởng từ

Bảng 3.8. So sánh kết quả MRI ở nhóm chứng và nhóm điều trị sau ghép 6 tháng

Nhóm	L (mm)	R (mm)	MCC (%)	MSCC (%)
Nhóm chứng (n=10)	52.10 ± 6.24	5.87 ± 0.58	27.61 ± 4.21	29.17 ± 3.92
Nhóm điều trị (n=10)	36.07 ± 4.26	8.63 ± 0.48	13.16 ± 1.73	11.14 ± 1.71
P	P=0.0442<0.05	P=0.004<0.05	P=0.0051<0.05	P=0.0065<0.05

3.4.3 Đánh giá kết quả dựa trên đo chức năng bàng quang.

Bảng 3.9. Kết quả số cơn co bóp không tự chủ của nhóm điều trị và nhóm chứng tại thời điểm 6 tháng

Nhóm	n	Trung bình ± Độ lệch chuẩn	P
Nhóm điều trị	10	0.4 ± 0.221	P=0.0001 <0.05
Nhóm chứng	10	2.3 ± 0.300	

Bảng 3.10. Thăm dò chức năng niệu động học trong 2 nhóm chứng và nhóm điều trị

Nhóm	Pdetmax	VH2Omax	D
Nhóm điều trị (n=10)	61.7 ± 10.157	338.3 ± 58.643	17.81 ± 6.01
Nhóm chứng	69.7 ± 8.660	406.1 ± 52.309	10.79 ± 1.89

(n=10)			
P	>0.05	>0.05	>0.05

3.4.4. Đánh giá kết quả dựa trên điện chân thần kinh cơ.

Bảng 3.11. Bảng mô tả chi tiết kết quả điện chuẩn thần kinh cơ trong 20 bệnh nhân điều trị

Số bệnh nhân	Sóng H	Sóng F	Hiệu điện thế tự phát	SEP
27	50%	71.4%	92.9%	50%

3.4.5. *Đánh giá kết quả dựa trên thang điểm chất lượng cột sống, thang điểm lâm sàng*

Bảng 12^a. Đánh giá chất lượng cuộc sống trên các thang điểm SF36 của nhóm chứng và nhóm can thiệp tại thời điểm 6 tháng sau điều trị

Chỉ tiêu đánh giá	Nhóm chứng ($X \pm SD$)	Nhóm điều trị ($X \pm SD$)	P
Hoạt động thể lực	8.86 ± 2.72	20.74 ± 4.02	0.0183
Hạn chế do sức khỏe thể lực	12.96 ± 3.62	31.48 ± 7.50	0.0323
Hạn chế do dễ xúc động	18.52 ± 6.50	58.02 ± 8.46	0.0005
Sinh lực	39.63 ± 3.22	54.25 ± 3.16	0.0017
Sức khỏe tinh thần	44 ± 3.42	65.89 ± 3.91	0.0001
Hoạt động xã hội	13.43 ± 4.87	36.11 ± 3.55	0.000
Cảm giác đau	39.54 ± 2.66	66.94 ± 4.95	0.000
Sức khỏe chung	40.71 ± 2.28	61.49 ± 2.67	0.0001
Thay đổi sức khỏe	27.85 ± 4.80	48.15 ± 6.18	0.0104

Bảng 12b. Đánh giá lâm sàng trên các thang điểm Oswestry

Oswestry	N	Trước tiêm	3 tháng	6 tháng	12 tháng
Nhóm can thiệp	27	78.52 ± 7.16	72.30 ± 7.82	64.74 ± 7.51	57.48 ± 7.53
Nhóm chứng	27	79.48 ± 1.44	75.19 ± 1.62	69.52 ± 1.6	63.30 ± 1.58
P	54	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

Bảng 12c. Đánh giá lâm sàng trên thang điểm Barthex ADL

Barthex	N	Trước tiêm	3 tháng	6 tháng	12 tháng
Nhóm can thiệp	27	3.59 ± 1.28	4.70 ± 3.33	5.85 ± 0.38	6.78 ± 0.41
Nhóm chứng	27	3.00 ± 0.21	3.93 ± 0.31	4.56 ± 0.34	5.76 ± 0.29
P	54	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

Chương 4

BÀN LUẬN

4.1. ĐẶC ĐIỂM LÂM SÀNG VÀ HÌNH ẢNH CẬN LÂM SÀNG

4.1.1. Đặc điểm lâm sàng

Trong 27 bệnh nhân chấn thương cột sống ngực-thắt lưng liệt tủy hoàn toàn có 13 bệnh nhân (48.1%) có cải thiện chức năng thần kinh theo thang điểm AIS (A-B) và 2 bệnh nhân (7.4%) có cải thiện về thang điểm AIS từ (B – C) sau 6 tháng, sau 1 năm có 2 bệnh nhân (7.4%) bệnh nhân có cải thiện AIS (C-D). Trong khi đó nhóm chứng chỉ có 2 (7.4%) có cải thiện thang điểm AIS (A-B) và theo dõi sau 1 năm thì không nghi nhận thêm trường hợp bệnh nhân nào có thay đổi thang điểm AIS (Bảng 3.7). Kết quả này tương tự với kết quả của các tác giả trên thế giới như Park và cộng sự, Yoon và cộng sự 2007. Tuy nhiên, đánh giá theo thang điểm AIS là theo lâm sàng thần kinh, do đó, kết quả đánh giá mức độ liệt theo thang điểm AIS không phản ánh

mức độ thương tổn giải phẫu bệnh. Hơn nữa thang điểm AIS có mức độ phổ rộng nên việc đánh giá bệnh nhân liệt tùy hoàn toàn đã làm giảm mức độ thương tổn thực tế trên tổn thương giải phẫu bệnh.

4.1.2. Đặc điểm trên hình ảnh X-quang và CT

Chụp XQ quy ước giúp xác định được vị trí tổn thương đốt sống. Bảng 3.2 cho thấy rõ vị trí tổn thương hay gặp nhất là T12- L1 chiếm tỷ lệ 53.7% điều này có thể lý giải được do đặc điểm giải phẫu của T12 và L1 ở vùng bản lề cột sống ngực thắt lưng, là nơi chuyển hướng cong của cột sống và cũng là chỗ giáp ranh giữa vùng cột sống cố định và cột sống di động. Nghiên cứu của chúng tôi có tỷ lệ tổn thương vùng này tương đồng với kết quả của tác giả Nguyễn Văn Thạch 74,8%.

4.1.3. Đặc điểm trên hình ảnh cộng hưởng từ

Trên hình ảnh MRI, chúng tôi đo lường được 4 chỉ số như chiều dài tủy sống bị tổn thương (L), độ rộng tủy sống tại vị trí tổn thương (R), độ tổn thương ống sống tối đa (MCC), độ chèn ép tủy tối đa (MSCC). đo lường trên hình ảnh MRI của bệnh nhân chấn thương cột sống ngực thắt lưng trong cả hai nhóm trước khi điều trị cho thấy chiều dài tủy sống tổn thương khá dài (>60 mm), và độ rộng tủy sống từ khoảng 5 – 6 mm (Bảng 3.8). Bên cạnh đó, kết quả so sánh L và R của 2 nhóm chứng và nhóm can thiệp cho thấy có sự chênh lệch nhỏ giữa mức độ và tổn thương của hai nhóm. Tuy nhiên, sự khác biệt này không có ý nghĩa ($P>0.05$). Điều này có thể cho thấy nghiên cứu đã lựa chọn hai nhóm bệnh nhân có sự tương đồng nhất định về mức độ chấn thương trước khi điều trị. Việc đưa ra các so sánh với nhóm chứng tương đồng đã loại bỏ được các yếu tố nhiễu như: trình độ phẫu thuật, phục hồi tự nhiên.

Tuy nhiên, khi so sánh kết quả MRI của 2 nhóm chứng và can thiệp tại cùng thời điểm quan sát, 12 tháng sau tiêm MT1, kết quả cho thấy chiều dài tổn thương nhóm can thiệp (36.07 ± 4.26) thấp hơn nhiều so với nhóm chứng (52.10 ± 6.24), chiều rộng tủy sống rộng hơn nhiều ở nhóm can thiệp (8.63 ± 0.48) so với nhóm chứng (5.87 ± 0.58) (Bảng

3.8). Thêm vào đó, MCC, MSCC nhóm can thiệp cũng đồng thời thấp hơn so với nhóm chứng, phù hợp với tương quan thuận với chiều rộng ống sống. Sự khác biệt của các biến tương ứng ở hai nhóm có ý nghĩa thống kê. Điều này có thể khẳng định sự phục hồi về cấu trúc cột sống, tùy sống liên quan đến yếu tố TBG cây ghép. Bởi đã có sự tương đồng về mức độ tổn thương và sự tiếp nhận cùng kỹ thuật phẫu thuật.

4.1.4. Đặc điểm chức năng bàng quang

Yếu tố cơ bóp không tự chủ liên quan đến thần kinh bàng quang, sự mất kiểm soát não bộ trong cơ thắt cơ vòng. Cải thiện số cơn cơ bóp không tự chủ giúp kiểm soát rỉ tiểu và tự chủ tiểu tiện. Theo kết quả trong Bảng 3.9, số cơn cơ bóp không tự chủ của nhóm điều trị là 0.4 ± 0.221 thấp hơn nhiều so với đối chứng là 2.3 ± 0.300 tại thời điểm 6 tháng và sự khác biệt này rất có ý nghĩa thống kê ($P < 0.01$). Điều này có thể khẳng định việc cấy ghép MSC có thể cải thiện chức năng bàng quang nhờ vào phục hồi tùy tổn thương tốt hơn nhiều so với việc phục hồi tự nhiên và phục hồi chức năng. Kết quả này cũng tương tự như kết quả nghiên cứu của 1 số tác giả khác.

Quan sát phân bố bệnh nhân theo mức Pdetmax tại thời điểm 6 tháng trong hai nhóm điều trị và đối chứng (Bảng 3.10) cho thấy, tỉ lệ Pdetmax < 40 của nhóm điều trị > nhóm chứng và tỉ lệ Pdetmax > 40 của nhóm điều trị < nhóm chứng. Mặc dù, sự khác biệt của 2 nhóm này là không có ý nghĩa, nhưng vẫn có thể khẳng định hiệu quả của phương pháp điều trị. Tuy nhiên, tỉ lệ Pdetmax < 40 của cả 2 nhóm chứng và điều trị đều thấp hơn nhiều so với tỉ lệ Pdetmax < 40. Vì vậy, cần có chế độ chăm sóc tốt bàng quang và thăm khám bàng quang, tập phục hồi chức năng sau điều trị để tăng tỉ lệ Pdetmax an toàn của cả 2 nhóm.

Hai cơ chế hướng đến trong điều trị rối loạn chức năng bàng quang thần kinh sử dụng TBG. Cơ chế thứ nhất liên quan đến việc MSC di chuyển và biệt hóa thành cơ trơn để phục hồi bàng quang bị hư hỏng. Cơ chế thứ hai liên quan đến sự điều khiển cơ thắt cơ vòng niệu đạo bởi vỏ não. CTCS làm gián đoạn sự dẫn truyền các tín hiệu

thần kinh điều khiển co thắt niệu đạo. Việc phục hồi tùy sống tổn thương bởi MSC giúp khôi phục đáp ứng dẫn truyền từ vỏ não đến tùy sống dẫn đến việc khôi phục quản lý sự co thắt của cơ vòng bởi vỏ não. Hệ thống thần kinh trung ương trưởng thành không thể tạo ra tế bào thần kinh và các tế bào thần kinh đệm mới, phục hồi chức năng bằng quang, hạn chế tổn thương sau chấn thương tùy sống. Tuy nhiên, các nghiên cứu gần đây cho thấy tế bào tiền thân thần kinh cây thúc đẩy phục hồi của chức năng bằng quang thông qua tái sinh những tế bào tại vị trí tổn thương [87],[88],[89].

4.1.5. Đặc điểm trên đo điện chấn thần kinh cơ

Trong nghiên cứu này, 4 trong tổng số 8 trường hợp khảo sát có sự phục hồi thần kinh tùy sống, với đáp ứng dẫn truyền thần kinh vỏ não đến tùy sống được ghi nhận khi đo lường SSEP tại điện thế gọi cảm (P37) ở thời điểm 6 tháng sau mũi tiêm 1. Hai trường hợp này vẫn ghi nhận được chỉ số SSEP trong khi không thu được sóng H (P9, P10) có thể do 2 yếu tố nhiều: kỹ thuật đo của kỹ thuật viên và bệnh nhân teo cơ. Việc khảo sát hiệu điện thế tự phát cũng được tiến hành nhằm loại bỏ trường hợp bệnh nhân tổn thương thần kinh ngoại biên với kết quả 92.9% bệnh nhân theo dõi không ghi nhận hiệu điện thế tự phát (Bảng 3.11).

4.2. ĐẶC ĐIỂM VÀ NHỮNG ĐẶC TÍNH TBG MÔ MỠ

Sau khi phân lập TBG trung mô thu nhận từ mô mỡ do trong dung dịch SVF ngoài TBG trung mô thu nhận từ mô mỡ còn một số loại tế bào khác như tế bào nội mô, tế bào máu, tế bào tiền thân nội mô... nên mức độ biểu hiện dương tính ở các marker CD90,CD73, CD105, CD166 của tế bào trung mô ở mức trung bình (45 – 52%). Mặc dù CD 14 và CD45 là đối chứng âm nhưng ở mũi tiêm 1, tế bào vẫn biểu hiện lần lượt là 9.9% và 3.52%. Các mũi tiêm sau thông qua nuôi cấy mức độ dương tính với các marker đối chứng dương là rất cao (84 – 99%). Đối với đối chứng âm CD14 là hoàn toàn 0%. Điều này được giải thích một cách chi tiết trong hai báo cáo của Varma và cộng sự, 2007, Patrick và cs, 2012.

4.2.1. Số lượng, chất lượng, đặc điểm TBG mô mỡ trên bệnh nhân CTCS ngực-thắt lưng liệt tủy hoàn toàn

4.2.2. Môi trường quan giữa kết quả TBG với kết quả điều trị

Kết quả đếm tế bào trong dịch não tủy sau 15 ngày tiêm cho thấy có từ 100.000 – 1.000.000 tế bào/ml còn trong dịch não tủy, loại trừ tế bào lympho, vậy TBG còn di chuyển trong dịch não tủy xấp xỉ 95.000 – 995.000 tế bào/ml so với lượng tế bào tiêm vào ban đầu chiếm tỉ lệ 3 – 27%. Điều này cho thấy MSC đã di chuyển đến vị trí tủy sống tổn thương theo dịch não tủy. Kết quả này cũng được chứng minh trong nghiên cứu của Satake và cs, 2004.

Theo dõi kết quả điều trị sau 6 tháng kể từ mũi tiêm 1 và hoàn thành 4 mũi tiêm, nhận thấy có mối tương quan nghịch giữa lượng tế bào cấy ghép và mức độ chèn ép tủy tối đa.

4.3. BÀN LUẬN VỀ TÍNH CẤP THIẾT, KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG GHÉP TBG MÔ MỠ TỰ THÂN VÀ TÍNH AN TOÀN CỦA PHƯƠNG THỨC GHÉP

Trong nghiên cứu của chúng tôi, 14.8% đau lưng, 3.7% đau đầu, 3.7% bồn chồn, 7.4% sốt được ghi nhận trong thời gian 6 tiếng sau tiêm trực tiếp tế bào vào vùng tổn thương (Bảng 3.6). Không có tác dụng không mong muốn nghiêm trọng như co thắt khí quản, buồn nôn, sốc, tăng nhịp tim được báo cáo. Kết quả tương tự cũng được tìm thấy trong nhiều báo cáo lâm sàng khác trên thế giới. Điều này có thể khẳng định việc cấy ghép TBG bằng con đường tiêm trực tiếp khá an toàn [115],[116],[117].

Phương pháp tiêm thắt lưng vùng L2 được báo cáo là an toàn với việc ghi nhận được kết quả chỉ 7.4% đau lưng, 0% các tác dụng phụ khác trong nghiên cứu (Bảng 3.6). Tính khả thi và an toàn của phương pháp tiêm này cũng được khẳng định với nhiều nghiên cứu lâm sàng và tiền lâm sàng trên thế giới [118],[119],[120]. Mặc dù, nghiên cứu của Johannes P.J.M de Munter (2009) về tính an toàn khi tiêm TBG vào vùng thắt lưng đã báo cáo 11.9% đau đầu [121]. Tuy

nhiên, tác dụng phụ này không được ghi nhận trong nghiên cứu của chúng tôi

Cả hai cách tiếp cận TBG: trực tiếp và gián tiếp cho bệnh nhân SCI đều được chứng minh là an toàn và mang lại những kết quả hồi phục nhất định. Tuy nhiên, hiệu quả tổng thể của việc kết hợp hai cách tiếp cận cho bệnh nhân SCI trong nghiên cứu này thì chưa thể khẳng định một cách chắc chắn.

KẾT LUẬN

Qua nghiên cứu 54 bệnh nhân chấn thương cột sống ngực-thắt lưng liệt tủy hoàn toàn, chia làm hai nhóm theo tỷ lệ 1:1. Nhóm 1 tiến hành phẫu thuật cố định cột sống giải ép và ghép TBG nguồn gốc mô mỡ. Nhóm 2 chỉ được tiến hành phẫu thuật cố định cột sống giải ép tại bệnh viện Việt đức, chúng tôi đưa ra một số điểm kết luận sau:

1. Về đặc điểm lâm sàng và chẩn đoán hình ảnh

- Nguyên nhân chấn thương lao động chủ yếu là do tai nạn lao động chiếm 51,9% tập trung chủ yếu ở nông thôn chiếm 77.8%
 - Độ tuổi trung bình là 34,17, thấp nhất 18 tuổi cao nhất là 60 tuổi, 73.4% có độ tuổi từ (21 – 40).
 - Chiều dài và chiều rộng tổn thương trên MRI của hai nhóm chứng và can thiệp là tương đồng nhau.
 - Vùng tổn thương T12-L1 chiếm tỉ lệ cao nhất 53.7%, vùng T1-T4 chiếm tỉ lệ thấp nhất 3.7%
 - 100% bệnh nhân có rối loạn chức năng bàng quang với áp lực bàng quang tối đa là trên 40cm H₂O và sức chứa tối đa trên 300cm H₂O.
 - Chất lượng cuộc sống trước ghép là rất kém. Tỷ lệ mất chức năng cột sống ở mức độ nhiều (Owestry): 78.52 ± 7.16 . Tỷ lệ mất chức năng bàng quang theo thang điểm (Barthex): 3.59 ± 1.28 .
- ### 2. Đánh giá kết quả bước đầu ứng dụng ghép TBG mô mỡ tự thân.
- Kết quả hồi phục thần kinh khám lại sau 6 tháng ở nhóm điều

trị ghép là 48.15% (13/27 trường hợp chuyển từ ASI_A sang ASI_B) và sau 9 tháng sau ghép là 7.4% (2 trường hợp) chuyển từ ASI_B sang ASI_C), và 12 tháng sau ghép 7.4% (2 trường hợp) chuyển ASI_C sang ASI_D.

- Trung bình thang điểm vận động trước điều trị (50 điểm) thấp hơn so với 12 tháng sau điều trị (69.38 điểm). Thang điểm cảm giác sâu và cảm giác nông cũng tăng lên nhiều tại thời điểm 12 tháng sau điều trị (87.69, 82.46 điểm) so với trước điều trị (70.62, 70.62 điểm).
- Chiều dài tổn thương nhóm can thiệp (36.07 ± 4.26) thấp hơn nhiều so với nhóm chứng (52.10 ± 6.27). Chiều rộng ống sống nhóm can thiệp (8.63 ± 0.48) so với nhóm chứng (5.87 ± 0.58). MCC, MSCC nhóm điều trị đồng thời thấp hơn so với nhóm chứng, phù hợp với tương quan thuận với chiều rộng ống sống có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$.
- Có sự cải thiện về chức năng bàng quang về cả ba phương diện: Áp lực bàng quang tối đa (Pdetmax), sức chứa bàng quang tối đa (VH2O max) và độ giãn nở bàng quang (D) giữa nhóm điều trị và nhóm chứng, trong nhóm điều trị ghép có cải thiện theo thời điểm 3 tháng, 6 tháng.
- 4/8 (50%) có chỉ số SSEP (+), 50% nghi nhận sóng H và 71.4% nghi nhận được sóng F.
- Tỷ lệ đáp ứng dẫn truyền của nhóm can thiệp ghép TBG cao hơn 50% so với nhóm chứng.
- Có sự cải thiện rõ rệt về các thang điểm Oswestry, Barthex thời điểm 3 tháng, 6 tháng, 12 tháng có ý nghĩa thống kê $P < 0,05$. Đặc biệt, nhóm can thiệp ghép TBG có sự khác biệt đáng kể so với nhóm chứng ở tất cả 8 chỉ tiêu đánh giá của chất lượng cuộc sống bao gồm Hoạt động thể lực, hạn chế do sức khỏe thể lực, hạn chế do dễ xúc động, sinh lực, sức khỏe tinh thần hoạt động xã hội, cảm giác đau, sức khỏe chung, thay đổi sức khỏe.
- Các biến chứng do ghép không đáng kể, chỉ có 3.7% đau đầu, không ghi nhận biến chứng viêm màng não.

1. Two case study of adipose derived stem cells transplantation for completely thoracic -lumbar cord injury. Vietnamese Journal of Orthopaedics, 2013.

2. Treatment of thoracic-lumbar cord injury with adipose derived stem cells. Vietnamese Journal of Orthopaedics, 2014.

3. Characteristics & Properties of Adipose Derived Stem Cells in Completely Spinal Cord Injured Patients, Vietnamese Medical Journal 2015, 429, 301-207.

4. Primary Results of Autologous Adipose derived Mesenchymal Stem Cells from Transplantation for Acute Thoracic & Lumbar Cord Injury, Vietnamese Medical Journal 2015, 429, 201-206.5.

5. A case study of autologous bone marrow stem cell transplantation in the treatment for completely thoracic -lumbar cord injury. Journal of Stem cell, 2015.

BACKGROUND

Spinal cord injury (SCI) is the lesions of bone, ligaments, spinal disc causing nerve damage temporarily or permanently. Complete SCI is often occurred if lesions are on the conus medullaris. Therefore patients completely lost movement and sensation below the cord lesion, even perianal sensation. After spine is traumatic, discs and ligaments compress spinal cord, a series of pathophysiological processes follow. If there is not any intervention or ineffective intervention, it leads to damage neuron, destroy axons, degenerate myelin so paralyzed movement and sensation. The degree of paralysis after SCI depends on the level of spinal cord injury and the regeneration of the axons.

Stem cells (SCs) are cells that have not yet differentiated and specialized functions, with strong proliferative ability, multiple potential to differentiate many kinds of cell and capable of self-renewal. Adult stem cells are not immune rejection when autologous transplantation. The *in vitro* study showed that adipose derived stem cells (ADSCs) can differentiate into nerve cells, which express their potential in the treatment of neuropathy.

In complete SCI, with severe neurological damage, although spine is fixed, removed compression, recovery rate is almost very low. Thus, stem cell transplantation may be an integrate option which help to increase paralysis movement recovery, sensation, or fix a portion of the cord injury sequelae such as circular muscle disorders, pressure ulcer etc. Base on the pathology and clinical trials as above, I study the thesis: "**Study Of Autologous Adipose Derived Stem Cells For Treatment Of Completely Thoracic & Lumbar Cord Injury**" with the following objectives:

1. **Description of pre-clinical characteristics and clinical symptoms in completely thoracic & lumbar cord injury patients who is recruit for stem cell transplantation**
2. **Analysis of outcome of autologous adipose derived stem cells for treatment of completely thoracic & lumbar cord injury**

The necessity and safety of the thesis

Kirshblum et al studied 987 SCI patients at 16 centers concluded the natural recovery as follows: 94.4% ASI A no recovery, only about 3.5% ASI A to ASI B and 1.05% ASIA A to ASI C or D. In Vietnam, there are some recent clinical trial in stem cell therapy, but in the trauma orthopedics in general as well as in SCI in particular is very limited. Thus study of autologous adipose derived stem cells for treatment of completely thoracic & lumbar cord injury is necessary.

The injection of autologous ADSCs into different positions for completely thoracic & lumbar cord injury patients is totally safe, no severe undesirable side effects, while increasing movement recovery in paralyzed, sensation, or fix a portion of cord injury sequelae such as circular muscle disorders, pressure ulcers etc.

New contributions of the thesis

- It is the first study in Vietnam refers to the application of ADSC for complete SCI. It is included using stem cell technology in isolation, culture and identification of mesenchymal stem cells in Vietnam.

- It is the first study combining different transplantation paths into subjects to utilize the advantages of interventions.

The layout of the thesis

The thesis consists of 119 pages, including sections: introduction (3 pages), background (42 pages), materials and methods (25 pages), results (23 pages), discussion (23 Pages), conclusion (2 pages), and suggestion (1 page). It is included 39 tables, 20 images, 5 figures, 127 Vietnamese and English references.

Chapter 1

BACKGROUNDS

1.1. COMPLETELY SPINAL CORD INJURY

Evolution pathology after spinal cord injury can be classified according to stage (acute - chronic) or the structural lesion (primary - and secondary). This division is closely related. The primary or secondary damages can be occurred in both acute and chronic stage. Primary lesions due to injury forces acting on the spinal cord, crushed nerve cells, broken blood vessels. In the acute phase (defined

as 8 hours post injury), bleeding and necrosis occurs in the gray matter of the cord, followed by swelling and bleeding in the white matter in the next 8 hours. Later, inflammatory cells invade lesion area with the increased production of glial cells. The formation of scar tissue and cysts organizations occurs from week 1 - 4. The secondary lesions caused by lack of blood perfusion by reducing the flow of circuit system in injured cord segments. The reduced blood perfusion can due to spinal compression, bleeding, edema or hypotension. Usually, all factors are involved marrow damage. In the acute phase, ischemia triggers a series of biological reactions leading to cell membrane rupture and cell death. Numerous responses have been studied and proven as scientific theory for some medications. Later in the chronic phase, the neurons can have regeneration by developing axons and dendrites, but the process can be canceled or inhibited by some intra or extra signal [3], [4], [5].

When cord injury, depending on which the marrow segment is damaged patients show vary clinical manifestations.

- Complete spinal cord injury: complete loss of movement, sensation, reflexes and vegetative nervous system disorders
- Incomplete spinal cord injury: represented by 4 syndrome: anterior cord syndrome, posterior cord syndrome, central cord syndrome, Brown - Sequard syndrome [14].

1.2. HEALING PROCESS OF NERVE INJURY

Immediately after the injury spine, discs and ligaments compress spinal cord that cause a series of processes to take place. Firstly, the lack of blood perfusion due to contusion and edema led to neuronal damage, axons destroy, myelin degeneration finally motor paralysis. Next is the process of molecules and cells with the infiltration of inflammatory factors causing secondary damage reach the center or the surrounding area. Later than the role of genetic factors as "regenerative-associated genes: Rags", developing axons, creating new blood vessels, infiltration of Schwann cells, arriving of white blood cells to clean the died organization, regenerating myeline [18].

Paralysis after injury depends on the level of spinal cord injury and the regeneration of the axons. Often the broken upper of conus medullaris causes large contusion of the spinal cord led to completely paralyzed movement, and sensation. Motor and circular muscle

disorders recovery opportunities are very low. The regeneration of axons is affected by both the inflammation and nerve healing.

1.3. SYMPTOMS AND IMAGES DIAGNOSIS

1.3.1. Clinical symptoms [2]

Thoracic and lumbar cord injury should be analyzed to identify completely or incompletely paralyzed cord.

Completely spinal cord injury is the complete loss of motor function and sensation below the injury site but still reflective practice. If there is not reflection, it means patients in the spinal cord shock stage. Therefore doctors have to wait out this phase (when the reflex acts back), to determine whether the medullary lesions on clinical manifestations or not. Cord shock often lasts 24-48 hours and the patient can be reflected back. Usual clinical manifestations are circular musculoskeletal manifestations, nutritional disorders, penile erection. Doctors should check anus such as: skin, muscles tighten, reflective practice. In case of loss of movement and sensory totally but still the reflex sphincter, it is incompletely paralyzed. Based on the examination body movement and Frankel scale of limb forces, doctors detect vulnerability.

The ponytail syndrome is characterized by dysfunction of the bladder and bowel disorders, perianal skin sensation disorders and some changes in sensation and movement disorders in lower limbs [21] .

1.3.2. Pre-clinical [2]

Clinical examination should be carefully done before nominating preclinical testing to help determine the exact location of spinal injuries.

- **X-rays:** X-ray images show the status of fractures, vertebral body collapse, narrow slit joints, spondylolisthesis, spinal folded corner. assessment of expansion of pedicle, expansion of joints and misalignment barbed spines cliffs, narrow joints, assess the wide slot accelerated and deformed joints party adapter hole.
- **CT scan:** Assessment of posterior damage after injury, broken bone fragments inserted in the canal but difficult to assess anterior-posterior displacement damage.
- **MRI:** Image show the lesions on bones, herniated disc, ligament damage, bone marrow extracellular hematoma, spinal cord injuries as consistent marrow, cord contusion or broken cord.

- **Bladder function measurement:** Probe urodynamic is the only method to objectively describe functional/dysfunctional lower urinary tract, which is a key method to describe the patient's condition of urinary tract disorders due to bladder dysfunction sphincter nerve causes.
- **Measurement of neuromuscular electrical diagnostic:** evaluation of system integrity and peripheral nervous and measuring somatosensory evoked potential (SSEP)

1.4. METHODS OF SCI TREATMENT

1.4.1 General Principles

The general trend is surgery in lesions with spine instability. Its advantages are early mobilization, reduce pain, and facilitate care and early return to work, avoid late complications. However, for some kind of stable compression fractures, the study indicates that long-term results and the recovery of marrow due to surgery or conservation were not different significantly. For these kind of shattered fractures always potential risk of nerve damage, the surgery to decompression and spine stable brings better results. Therefore making the decision of conservation or surgery based on several factors: coordination vulnerability, level of neurological damage, and the tissue vulnerability to give an indication for operation [28].

Decompression: the level of spinal cord injury related to compression force and time. Many pre-clinical trial showed that if decompression soon will increase the likelihood of recovering marrow. But it is a study on animal models of trauma heterogeneous, no randomized control group [29]. On the other hand, some studies showed a recovery after late nerve decompression after SCI, so the decompression time after injury is also a hot topic for debate. But the majority of the authors have emphasized the role of nerve decompression at the earliest after SCI to avoid secondary lesions [30], [31] [32]. Surgical decompression is indicated when the broken of vertebral body damage nerve, especially when there is a correlation between clinical lesions and cord compression image on MRI and CT scan. There are two methods for decompression: direct decompression and indirect decompression.

- *Indirect decompression:* technique that uses correction of bone fragments in the canal without interfering in that bone

fragments. According to Edwards indirect decompression purposes: [2]

- + Correction of anatomic axis
- + Stretch posterior brace rear longitudinal ligament strain to push forward shattered bones.

- + Maximum bending the spine to strengthen bones push forward.

* Advantages of indirect decompression:

- + No direct manipulation components canals (roots, spinal, epidural).

- + Do not hurt the rear ligament complex should not lose spinestable.

- *Direct decompression*: included in decompression of anterior surgery and decompression of posterior surgery.

- + Direct decompression of posterior surgery: open posterior collaboration, taking a part of vertebral body, and push forward contused bone fragments.

- + Direct decompression of anterior surgery: there are some authors suggest that taking contused bone fragments from the front is a safe and more radical. With severe vertebral body broken injuries, the spine fixation and posterior decompression without rebuilding the central and anterior axis would cause hunched spine [2].

Duration of the surgery: there are a lot of study about appropriate surgery moment after SCI. But it is still a controversial topic, some authors through clinical trials indicated that there was no difference when decompression before 72 hours. Other authors support the view ahead 12-hour decompression may be safer and result higher marrow recovery. La Rosa (2004) and colleagues conducted a pooled analysis in 1687 patients with early decompression in 24 hours divided into two groups. Results of the within-24-hour group showed higher neurological recovery rate than pass-24-hour group [33].

1.4.2. Stem cell therapy in the treatment of SCI have paralyzed cord

SC is a fundamental cell of every cell, tissue and organ in the body. Basically, every cell in the human body is derived from fertilized eggs (also called zygotes) - is a combination of sperm and egg. This zygote is totipotent stem cell which is capable of differentiate into different types of cells in the earliest stages of

embryonic development. At this stage, as well as later stages of development, all kinds of stem cells is specialized and then differentiated to specific functions in the human body such as skin cells, blood cells, muscle cells and nerve cells, ... Also in the stage of embryonic development, germ cells (or sexual cells) are formed, exist in the human body and create a life cycle.

SCs do not (or not yet) specialize in living tissue, then they are able to become specialized cells with specific function. In *in vivo* or *in vitro* condition, each stem cell can renew itself with new special features. With strictest definition, a stem cell requires at least two characteristics:

- *Self-renewal*: stem cells can conduct a large number of cell division without differentiation.
- *Unlimited potency*: stem cells have the ability to differentiate into any mature cell type. In fact, this feature is only true with the totipotent or pluripotent stem cells, multipotent stem cells (or progenitor cells) are not but they are also called stem cells [34].

Besides, some scientists also added a feature of SCs is that SC is unspecialized cells and immature in terms of shape, structure and function [35].

Treatment of brain and spinal cord injury is a major challenge for the medical industry. The current treatments do not bring more effectively, partly because of limited exposure of the therapeutic agents into the vulnerability of central nervous system. Use of stem cells in the treatment of SCI lesion is a new treatment strategy, promising potential (Figure 1.9). A series of trials using stem cells as a cell-replacement strategy for the treatment of the central nervous system lesions in animal models have been carried out. Other strategies are using stem cells in a delivery mechanism for therapeutic molecules. Table 1.3 summarizes the recent research and application of stem cell therapy in SCI all over the world.

Chapter 2 PARTICIPANTS AND METHODS

2.1. PARTICIPANTS

Participants were both male and female. It is eligible if they were 18 to 60 years old, had a complete spinal cord injury (American Spinal Injury Association Category A, 'ASIA A') between thoracic and lumbar of traumatic etiology within 2 weeks. Selected participants were expected 54 subjects. Exclusion criteria included: support respiration by machine, melanoma within 5 years, infectious diseases including HIV and Hepatitis B, C, body temperature higher 38°C or acute disorder, anemia or thrombocytopenia, angina, myocardial infarction, heart disease, embolic disease, chronic renal failure, glomerular disease and chronic obstructive pulmonary disease, congenital or acquired immunodeficiency disorder, muscular dystrophy or muscle stiffness, non-conscious or voice disorders, treatment with cytotoxic drugs (immunosuppressive drugs, corticosteroids and cytotoxic drugs) during the clinical trials, participating in another clinical trial within 3 months. Subjects with major and current psychiatric illness, who had significant traumatic brain injury associated with the spinal cord injury or who were otherwise considered unable to provide fully informed consent were also excluded. Selected participants were thoroughly informed of the trial and its attendant risks and asked to sign an informed consent.

2.2. METHODS

2.2.1. Assessment

2.2.1.1. Pre-clinical

a. X - ray: Based on clinical examination (focal pain point boundary and sensory disturbances) to locate the damaged area to suggest location to take X-ray. X-ray is assessed in 2 postures: posterior–anterior and lateral.

b. CT scan: It is the best assessment of bone integrity, joint displacement, and particularly prediction of neurological damage. CT is also assessed in 2 postures: posterior–anterior and lateral to determine the exact location of injury or loss of stability. Although,

there are many different views on instability assessment, the authors use the signs of instability according Daffner and colleagues.

c. *MRI*:

In recent years the development of nuclear magnetic resonance assessment improved spinal function. MRI has become a useful means to evaluate cord injury, marrow recovery and the degree of improvement after treatment. Fehling and his colleagues launched two indexes MCC (maximal compromise canal) and MSCC (maximal spinal cord compression) to evaluate spinal injuries, cord compression before and after treatment [80]. MCC and MSCC index is measured according to the following formula:

$$MCC = \left[1 - \frac{D_i}{(D_a + D_b)/2} \right] \times 100\% \text{ With } D_i: \text{ width of spinal canal in the}$$

center of lesion location, D_a : width of spinal canal at above canal lesion, D_b : width of spinal canal at below canal lesion

$$MSCC = \left[1 - \frac{d_i}{(d_a + d_b)/2} \right] \times 100\% \text{ With } d_i: \text{ width of spinal cord in}$$

the center of lesion location, d_a : width of spinal cord at above spinal lesion, d_b : width of spinal cord at below spinal lesion [80].

Measurement methods are described in the figure below:

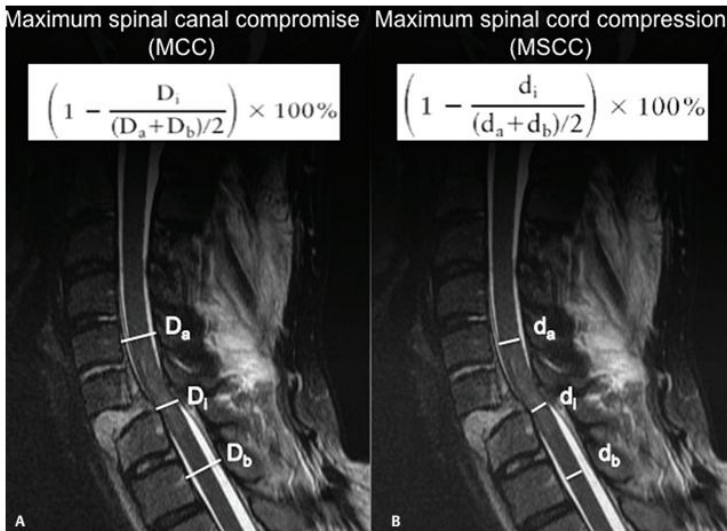


Figure 2.1. Measuring Method on results MRI

d. Assessment of bladder function [22]

Sphincter dysfunction assessment based on urodynamic exploration. Urodynamic results noted the change of four indicators: number of involuntary contractions, the maximum bladder capacity (Vmax), the broadening of bladder (D) and maximum bladder pressure.

The process of urodynamic exploration was conducted at the Center for Rehabilitation, Bach Mai Hospital.

e. Electromyography and somatosensory evoked potential (EMG and SSEP)

EMG and SSEP are the measurement of the integrity of the peripheral nerves and the spinal cord recovery based on response signals obtained at excitation voltage.

2.2.1.2. Clinical

- + Body Signs Assessment: M, HA, body temperature
- + Rating of paralysis level on ASIA scale before and after stem cell transplantation at the time of 6 months, 12 months, 24 months.
- + Review the quality of life through the SF 36.
- + Rating bowel function through Bathrex scale.
- + Rating loss level of lumbar mobility through Oswestry scale

2.2.2. Description of study

2.2.2.1. Type of study

This is a clinical study with intervention and vertical follow-up.

2.2.2.2. Study progress

From -14th day to -3th day: Recruitment, enrollment and assessment with inclusion and exclusion criteria, pre-clinical tests (MRI, X-Ray, blood index, etc.).

-2th day: Patients completed the consent form to participate in research.

Day 0: Liposuction from 80-120cc fat tissue, then mesenchymal stem cell isolation. Fixation and decompression surgery and direct injection in the lesion site with 1.5×10^6 - 4×10^6 ADSCs. The rest of approx. 4×10^6 ADSCs are expanded and store in laboratory.

7th day: Physiotherapy practice in Bach Mai Hospital daily until 14th day.

14th day: The patient is discharged and still practice physical therapy with specific schedules from doctors to the appointed time.

30th day: 2nd injection with 20-30x10⁶ ADSCs/8cc into the subarachnoid space L2 region.

45th day: 3rd injection with 20-30x10⁶ ADSCs/8cc into the subarachnoid space L2 region.

52th day: 1st MRI examination.

60th day: 4th intravenous injection, the number 1x10⁸ ADSC/ 100cc. 2nd MRI examination in 1st assessment.

90th day (3 months): Assessment of bladder function and somatosensory evoked potential in 1st assessment.

120th days (4 months): 3th MRI examination in 2nd assessment.

180th days (6 months): 3rd assessment.

365th days (12 months): 4th assessment.

548th days (18 months): 5th assessment.

730th days (24 months): 6th assessment.

2.2.2.3. Data analysis

The data will be entered into the computer in digitized medical records and are analysis in biostatistics software Stata.10.

2.2.3. Stem cell transplantation indication

Autologous ADSCstransplantation for complete SCI with SCI case totally has been diagnosed based on clinical and image according to the selection criteria and exclusion as above.

Chapter 3

RESULTS

3.1. SYMPTOMS AND PRE-CLINICAL RADIOLOGY

3.1.1. Clinical signs

Table 3.1. Clinical signs

Clinical signs	n	Rate (%)
ASI_A	54	100
Sphincter reflectors lost	54	100
Positive Reflection Practice	54	100
Total		100

3.1.2. Radiology

3.1.2.1. X-ray and CT scan

Table 3.2. Patient classification by injury site

Lesion Positions	n	Rate (%)	Cumulative rate (%)
T1-T4	2	3.7%	3.7%
T5-T8	8	14.8%	18.5%
T9-T11	15	27.8%	46.3%
T12-L1	29	53.7%	100%
Total	54	100%	100%

3.1.2.2. Magnetic resonance images (MRI)

Table 3.3. Value of damage

Kind of Damage	n	Rate (%)
Herniated disc	10	18,5%
Epidural hematomas	7	12,96%
Spinal cord injury	54	100%
Tissue injury	54	100%

3.2. CHARACTERISTICS AND PROPERTIES OF ADSCs

3.2.1. Quantity, quality and characteristics of ADSCs in complete thoracic and lumbar cord injury patients

Table 3.4. Quantity, quality and characteristics of SC

Injection		1st injection (n = 20)	2nd injection (n =20)	3rd injection (n = 20)	4th injection (n = 20)
Quantity (Mean ± SD)	Cell density (10 ⁶ /ml)	0.45 ± 0.24	3.62 ± 0.42	3.60 ± 0.38	10.07 ± 13.65
	Volume (ml)	8	8	8	10
	Cell total (x10 ⁶)	3.59 ± 1.89	28.97 ± 3.36	28.83 ± 3.04	100.7 ± 13.65
Quality	Cell viability (higher 95%)	27/27	27/27	27/27	27/27
	Sterilization (bacteria, fungi,	27/27	27/27	27/27	27/27

	endotoxin, mycoplasma)				
Surface Marker (Mean \pm SD)	%CD90 +	52.31 \pm 9.76	98.71 \pm 15.56	99.00 \pm 0.20	98.98 \pm 0.13
	% CD105 +	46.07 \pm 9.19	86.60 \pm 5.45	86.52 \pm 4.79	87.15 \pm 3.65
	%CD73 +	45.41 \pm 7.49	94.71 \pm 5.22	95.61 \pm 3.08	95.56 \pm 3.30
	% CD166 +	47.53 \pm 7.58	95.14 \pm 3.15	96.74 \pm 2.70	95.43 \pm 3.56
	% CD14-	9.99 \pm 5.27	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00	0.00 \pm 0.00

3.2.2 The correlation between the ADSCs results and therapy results

3.2.2.1. Effecttion of 2 and 3 injections (injections into lumbar puncture)

Table 3.11. Number of remained cells after injection in CSF in 15 days after 2nd injection

Sample	Cell Density (10 ⁶ /ml)	Cell density after 15 days (10 ⁶ /ml)	Cell viability (%)	Cell number after lymphocytes removal (10 ⁶ /ml)	% remained cells after 15 days / transplanted cell
TPA045	3.75	1.0	90	0.995	27%
TPA049	3375	0.1	95	0.095	3%
TPA050	3.75	0:22	90.9	0.215	6%
TPA054	3.75	0.3	66.6	0.295	8%

3.2.2.2. The relationship between ADSCs results with maximum spinal cord compression after 6 months.

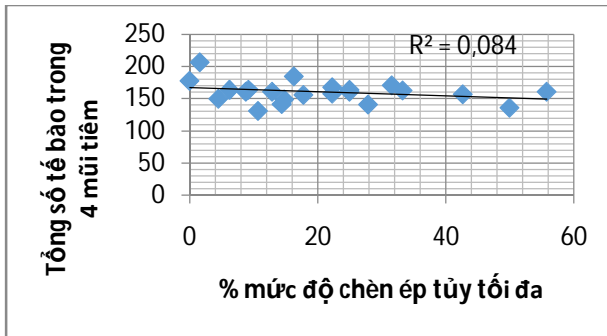


Figure 3.2. The relationship between ADSCs results with maximum spinal cord compression after 6 months

3.3. RESULTS OF SURGERY AND ADSCs TRANSPLANTATION

Table.3.6. Assessment of the safety of stem cell transplantation

Transplantation	Time	Side effects							
		Troubled	Temperature	Rash	Bronchio -spasm	Increased heart rate	Headached	Back pain	Nausea
Injection directly into the damaged site, and subarachnoid space	Immediately after the injury, spine fixed and decompress intervention	3.7%	7.4%	0%	0%	0%	3.7%	14.8%	0%
Injection into the lumbar spine L2	30 days and 45 days after the first injection	0%	0%	0%	0%	0%	0%	7.4%	0%
Intravenous injection	60 days after the first injection	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

3.4. EVALUATION OF RESULTS.

3.4.1. Neurological recovery after transplant

Table 3.7. Neural recovery of 12 month post-transplantation

ASIA Impairment Scale (AIS) Grade		Assessment after 1 st transplantation 12 months					Total
		A	B	C	D	E	
Control	A	25	2	0	0	0	27
Treatment	A	11	10	4	2	0	27
Total		36	12	4	2	0	54

3.4.2. Assessment on MRI results

Table 3.8. Comparison of MRI results in the control group and the treatment group after 1st transplantation 6 months

Group	L (mm)	R (mm)	MCC (%)	MSCC (%)
Control (n = 10)	52.10 ± 6.24	5.87 ± 0.58	27.61 ± 4.21	29.17 ± 3.92
Treatment (n = 10)	36.07 ± 4.26	8.63 ± 0.48	13.16 ± 1.73	11.14 ± 1.71
P	P=0.0442<0.05	P=0.004<0.05	P=0.0051<0.05	P=0.0065<0.05

3.4.3 Assessment on measurements of bladder function.

Table 3.9. The result of involuntary contractions of the treatment group and the control group after 1st transplantation 6 months

Group	n	Mean ± SD	P
Treatment	10	0.4 ± 0.221	P < 0.05
Control	10	2.3 ± 0.300	

Table 3.10. Urodynamic function in control groups and treatment groups

Group	Pdetmax	VH2Omax	D
Treatment (n = 10)	61.7 ± 10.157	338.3 ± 58.643	17.81 ± 6.01
Control (n = 10)	69.7 ± 8.660	406.1 ± 52.309	10.79 ± 1.89
P	> 0.05	> 0.05	> 0.05

3.4.4. Assessment on EMG and SSEP results

Table 3.11. Results of Electromyography

Patients	Wave H	Wave F	Spontaneous voltage	SSEP
27	50%	71.4%	92.9%	50%

3.4.5. Assessment results based on the quality scale spine

Table 3.12a. Assessing the quality of life on the scale of SF36

Items	Control (X ± SD)	Treatment (X ± SD)	P
Physical functioning	8.86 ± 2.72	20.74 ± 4.02	0.0183
Role functioning/physical	12.96 ± 3.62	31.48 ± 7.50	0.0323
Role functioning/emotional	18.52 ± 6.50	58.02 ± 8.46	0.0005
Energy/fatigue	39.63 ± 3.22	54.25 ± 3.16	0.0017
Emotional well-being	44 ± 3.42	65.89 ± 3.91	0.0001
Social functioning	13.43 ± 4.87	36.11 ± 3.55	0.000
Pain	39.54 ± 2.66	66.94 ± 4.95	0.000
General health	40.71 ± 2.28	61.49 ± 2.67	0.0001

Health change	27.85 ± 4.80	48.15 ± 6.18	0.0104
---------------	--------------	--------------	--------

Table 3.12b. Assessing Oswestry

Oswestry	N	Before tranplantation	after 1st transplantation 3 months	after 1st transplantation 6 months	after 1st transplantation 12 months
Treatment	27	78.52 ± 7.16	72.30 ± 7.82	64.74 ± 7.51	57.48 ± 7.53
Control	27	79.48 ± 1.44	75.19 ± 1.62	69.52 ± 1.6	63.30 ± 1.58
P	54	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

Table 3.12c. Assessing Barthex ADL

Barthex	N	Before tranplantation	after 1st transplantation 3 months	after 1st transplantation 6 months	after 1st transplantation 12 months
Treatment	27	3.59 ± 1.28	4.70 ± 3.33	5.85 ± 0.38	6.78 ± 0.41
Control	27	3.00 ± 0.21	3.93 ± 0.31	4.56 ± 0.34	5.76 ± 0.29
P	54	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

Chapter 4

DISCUSSION

4.1. CLINICAL FEATURES AND RADIOLOGY

4.1.1. Clinical Features

In 27 patients with completely thoracic and lumbar cord injury, there were 13 patients (48.1%) improved neurological function from AIS_A to ASI_B and 2 patients (7.4%) improved AIS_B to ASI_C after 6 months; after 1 year with 2 patients (7.4%) improved AIS_C to ASI_D. Meanwhile, the control group only 2 patient (7.4%) improved scale AIS_A to ASI_B and 1-year follow-up, there was no more improved cases AIS grade (Table 3.7). This result was similar to the results of studies from Park et al, Yoon et al 2007. However, AIS grade was measured on nerveclinical features, so the results of the assessment did not reflect the lesion level in pathology. Moreover AIS scale is broad spectrum level so when it was used to evaluate completely SCI patients, it reduced actual level of injury in pathological by accident.

4.1.2. Features on X-ray and CT images

Conventional X-ray scan helps us to determine the location of vertebral lesions through Table 3.2 shows the position which is the most common injury T12- L1 accounted for 53.7%. It can be explained by the anatomical features of the T12 and L1 in the thoracic spine hinge waist is where redirection of spinal curvature and also the border between fixed spine and mobilized spine. Our injury rates were consistent with the results of Nguyen Van Thach 74.8% [2].

4.1.3. Features on magnetic resonance imaging

On MRI images, we measured four indicators such as length of the injured spinal cord (L), the width of the injured spinal cord (R), maximal compromise canal (MCC) and maximal spinal cord compression (MSCC). MRI measurement of thoracic and lumbar cord injury patients in both groups before treatment showed spinal cord lesion length quite was long more than 60 mm, and spinal cord lesion widths was from 5-6 mm. Comparisons of L and R between control group and treatment group before intervention showed little difference between the vulnerability level of both groups, but this difference was not significant ($P > 0.05$). This indicated that two groups in study with a certain resemblance to the degree of injury before treatment. Making comparisons with similar control group eliminated confounding factors such as the level of surgeon, natural recovery rate.

When comparing the MRI results of treatment and control group at 6 months after 1st injection, the results showed lesion length in intervention group (36.07 ± 4.26 mm) was lower than the control group (52.10 ± 6.24 mm), a width of the spinal cord was much broader in the treatment group (8.63 ± 0.48 mm) compared with controls (5.87 ± 0.58 mm) (Table 3.8). In addition, MCC and MSCC in treatment group were also lower than the control group, matching correlation with spinal canal width. The differences were statistically significant. This confirmed that the recovery of the structure of the spine, spinal cord related stem cells transplantation because of the similarity in the level of vulnerability and surgical techniques.

4.1.4. Features on bladder function

Bladder involuntary contractions related to the bladder nerves, the brain control lost of sphincter contraction. Improving of

involuntary contractions control urine leakage and self urination. According to Table 3.9, the involuntary contractions of 0.4 ± 0.221 in treatment group was much lower compared to controls was 2.3 ± 0.300 at 6 months and this difference was statistically significant ($P < 0.01$). This can confirm that MSC transplantation may improve bladder function due to cord injury recovery better than natural recovery and rehabilitation. This result is similar to the results of other authors.

Pdetmax at 6 months either treatment group and the control (Figure 3.10) showed Pdetmax < 40 of treatment group are greater than control group, in contrast of Pdetmax > 40 of treatment group was less than control group. Although the differences were not significant, it can confirm the effectiveness of therapy. However, the percentage Pdetmax < 40 of these groups were lower than the standard rate Pdetmax < 40 so patients should be taken care bladder carefully, get bladder examination regularly, training and rehabilitation after treatment to increase the standard Pdetmax in both groups.

There were two mechanisms directed to the treatment of bladder dysfunction using stem cells. The first mechanism involved the MSC migrate and differentiate into smooth muscle to restore damaged bladder. A second mechanism involved the control spasms urethral sphincter by the cortex. SCI interrupt the transmission of nerve signals to control urethral spasms. The recovery of injured spinal cord by MSC can restore response to transmission from the cerebral cortex to the spinal cord led to the control of management of sphincter spasm by the cortex. Mature central nervous system can not generate new neurons and glial cells to rehabilitate bladder function and limit damage after spinal cord injury. However, recent studies showed that transplanted neural progenitor cells promote restoration of bladder function through cell regeneration at the site of injury [87], [88], [89].

4.1.5. Features on Electromyography

In this study, 4 out of 8 cases recovered spinal nerve. the nerve response from cortex to the spinal cord was recognized when the somatosensory evoked potential was measure at voltage P37 at 6 months after 1st injection. Two cases are still recorded SSEP index while not obtained wave H may be due to 2 confounding factors: technician and muscle atrophy. The measurement of spontaneous voltage was also conducted to eliminate cases of damaged peripheral

nerve.92.9% of patients were not recorded spontaneous voltages (Table 3.11).

4.2. CHARACTERISTICS AND PROPERTIES OF ADSCs

4.2.1. Quantity, quality and characteristics of ADSCs in complete thoracic and lumbar cord injury patients

Adipose derived stem cell cultures contained predominantly mesenchymal stem cells, identified by their immunostaining for CD73, CD90, CD105, and CD166. The percentages of CD73, CD90, CD105, and CD166-positive were ranged from 84 - 99%. None of the cells was immuno-positive for CD14, a marker for Hematopoietic Stem cells. For Fresh Stromal Vascular fraction solution after isolation, the percentages of CD73, CD90, CD105, and CD166-positive were ranged from 45 - 52% while the percentages of CD14-positive cells were 9.9% because beside ADSCs, the other cell types that may be present in SVF are endothelial cells, smooth muscle cells, pericytes, fibroblasts, and circulating cell types such as leucocytes, hematopoietic stem cells or endothelial progenitor cells. This results were similar to 2 studies of Varma et al, 2007, Patrick et al, 2012.

4.2.2. The correlation between the ADSCs results and the therapy results

After counting the number of cells in the cerebrospinal fluid after 15 days from 2nd injection into lumbar L2, it showed that 100.000 –1.000.000 cells/ml CSF. In CSF, exclude 5% lymphocytes, the number of ADSCs remained cerebrospinal fluid was approximately 95,000 - 995,000 cells/ml. It accounted for 3-27% compared the initial number of cells transplanted. This showed that MSC has moved out CSF to other places in body, it maybe come to the spinal cord lesion. This result was also demonstrated in the study by Satake et al, 2004.

Follow-up patients 6 months after completing 4 transplantations, it showed a negative correlation between the total amount of transplanted cells and maximal spinal cord compression. This indicated that the contribution of ADSCs into the improvement of patients in treatment group.

4.3. DISCUSSION ABOUT URGENCY, RELEVANCE AND SAFETY OF AUTOLOGOUS ADSCs TRANSPLANTATION

In our study, 14.8% of backache, 3.7% of headache, 3.7% of restlessness, 7.4% of fever were recorded within 6 hours after cell injection directly into the lesion in this study (Table 3.6). No undesirable effects such as severe airway constriction, nausea, shock, increased heart rate have been reported. Similar results were also found in many other clinical reports in the world. This can be confirmed that the transplantation of stem cells directly was completely safe [115], [116], [117].

Injection into L2 lumbar region are also reported to be safe method with the results recorded only 7.4% of backache, 0% other adverse events in the study (Table 3.6). The feasibility and safety of this intervention is confirmed with number of preclinical and clinical studies in the world [118], [119], [120]. Although the study of Johannes PJM de Munter (2009) about safety of stem cell injection into the lumbar region reported 11.9% headache, side effect in our study was not observed. [121]

Both stem cell approaches: directly and indirectly for SCI patients have been proven to be safe and bring the results of certain recovery. However, the overall effect of combining the two approaches to SCI patients in this study, it can not be confirmed clearly.

CONCLUSION

The thesis: "**Study Of Autologous Adipose Derived Stem Cells For Treatment Of Completely Thoracic & Lumbar Cord Injury**" was investigated on 40 patients with completely thoracic & lumbar cord injury divided into two groups according to the ratio of 1: 1. Treatment group was conducted spine decompression and fixation through surgery and ADSCs transplantation. Control group was only undergone spine decompression and fixation. The research was operated in Vietnamese- German hospital. I indicated some conclusions:

1. Symptoms and pre-clinical characteristics

- Labor injury was the main cause with 51.9%. 77.8% patients came from rural area.
- Patients' average age was 34.17. The youngest was 18 years old and the oldest was 60 years old. 73.4% patients were 21-40 years old.
- 100% participants were SCI injured in ASI_A and muscle disorders and positive reflexion practise.
- The length and width of lesions on MRI in control and treatment group was similar.
- T12-L1 lesion accounted for the highest proportion of 53.7%. T1-T4 lesion was lowest proportion of 3.7%.
- 100% of patients with bladder dysfunction with the maximum bladder pressure is over 40cm H₂O and maximum capacity over 300cm H₂O.
- 92.9% of patients were recruited with the integrity of the peripheral nerves.
- Patients' quality of life before transplantation was very poor. The rate of loss of spine function was 78.52 ± 7.16 (Owestry scale). Percentage of bladder dysfunction was 3.59 ± 1.28 (Barthex scale).

2. Assessment of primary results of ADSCs transplantation.

- Results of nerve recovery after 6 months in treatment group was 48.15% (13/27) cases transferred from ASI_A to ASI_B and after 9 months was 7.4% (2 cases) from ASI_B ASI_C), and 12 months 7.4% (2 cases) moved from ASI_C to ASI_D.
- Results measurement of sensation and movement under ASI showed average motor scale before treatment (50 points), lower than than 12 months after treatment (69.38 points). Deep sensory and surface sensory has also increased much at 12 months after treatment (87.69, 82.46 points) than before treatment (70.62, 70.62 points), respectively.
- Length of lesion in treatment group ($36.07 \pm 4.26\text{mm}$) is lower than the control group ($52.10 \pm 6.27\text{mm}$). Width of spinal canal in treatment group (8.63 ± 0.48) compared with the control group (5.87 ± 0.58). MCC, MSCC in treatment group were concurrently lower than control group, matching correlation with width of spinal canal in statistically significant $P < 0.05$.
- There was an improvement in bladder function on three aspects: the maximum bladder pressure (Pdetmax), maximum bladder capacity (VH₂O max) and the expansion of the bladder (D) between the treatment group and the control group. The treatment group had improved after transplantation 3 months, 6 months.
- 4/8 (50%) with positive SSEP index. 50% observed wave H, and 71.4% observed wave F.
- The conduction response rate of the treatment group was 50% higher than the control group.
- There was a significant improvement on quality of life through SF36 scale, Oswestry scale, Barthex scale in 6 months, 12 months ($P < 0.05$). All of items in SF36 included, Physical functioning, Role functioning/physical, Role functioning/emotional, Energy/fatigue, Emotional well-being, Social functioning, Pain, General health change significantly when comparing the control group.
- Transplant complications was observed 3.7% headached, do not recognized any complications of meningitis.