

BỘ GIÁO DỤC ĐÀO TẠO

BỘ Y TẾ

ĐẠI HỌC Y DƯỢC THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH

NGUYỄN MẠO

TÁC ĐỘNG CỦA FIBRIN GIÀU TIỂU CẦU KẾT HỢP XƯƠNG DỊ LOẠI

LÊN TẾ BÀO DÂY CHẰNG NHA CHU NGƯỜI

ỨNG DỤNG TRONG ĐIỀU TRỊ VIÊM NHA CHU

NGÀNH: RĂNG HÀM MẶT

MÃ SỐ: 9720501

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ Y HỌC

THÀNH PHỐ HỒ CHÍ MINH, NĂM 2022

Công trình được hoàn thành tại:

Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. NGÔ THỊ QUỲNH LAN

2. PGS.TS. NGUYỄN THU THỦY

Phản biện 1:

Phản biện 2:

Phản biện 3:

Luận án sẽ được bảo vệ trước Hội đồng đánh giá luận án cấp trường

họp tại: Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

vào hồi giờ ngày tháng năm

Có thể tìm hiểu Luận án tại thư viện:

- Thư viện Quốc gia Việt Nam
- Thư viện Khoa học Tổng hợp Thành phố Hồ Chí Minh
- Thư viện Đại học Y Dược Thành phố Hồ Chí Minh

GIỚI THIỆU LUẬN ÁN

1. Đặt vấn đề

Viêm nha chu (VNC) là một bệnh nhiễm trùng mạn tính đa yếu tố do phức hợp các loài vi khuẩn tương tác với mô và tế bào của vật chủ gây giải phóng các chất trung gian gây viêm, dẫn đến sự phá hủy cấu trúc mô nha chu. VNC là nguyên nhân hàng đầu gây mất răng, ảnh hưởng đến chất lượng cuộc sống ở người trưởng thành. Hơn nữa, VNC cũng đã được xác định có liên quan đến một số bệnh toàn thân; do đó việc kiểm soát hay điều trị viêm nha chu không chỉ giúp giữ răng mà còn dự phòng bệnh toàn thân và những biến chứng của chúng.

Fibrin giàu tiểu cầu (PRF) là vật liệu sinh học thuộc thể hệ thứ hai của tiểu cầu cô đặc chứa những yếu tố tăng trưởng tự thân như PDGF, VEGF, TGF- β có tiềm năng thúc đẩy sự tăng sinh, biệt hóa và di cư của tế bào thuộc mô nha chu. Tuy nhiên tác động của PRF khi kết hợp với vật liệu thay thế xương dị loại (XBSM) lên tế bào gốc dây chằng nha chu người (hPDLSCs) cho đến nay vẫn chưa được sáng tỏ; đây là nguồn tế bào quan trọng trong tái tạo mô nha chu.

Nghiên cứu lâm sàng sử dụng PRF riêng lẻ hay kết hợp với vật liệu sinh học khác như xương tự thân, đồng loại, dị loại và vật liệu tổng hợp cho kết quả khả quan trong điều trị VNC. Sự kết hợp giữa tái tạo mô có hướng dẫn với XBSM và PRF có khả năng thúc đẩy quá trình lành thương và tái tạo mô nha chu còn chưa được nghiên cứu trên lâm sàng. Vì vậy nghiên cứu này được thực hiện với những mục tiêu sau:

1. Đánh giá hiệu quả phóng thích yếu tố tăng trưởng PDGF và VEGF trong dịch chiết A-PRF kết hợp với vật liệu thay thế xương dị loại *in vitro*.

2. Xác định mức độ an toàn và tác động của A-PRF kết hợp vật liệu thay thế xương dị loại qua đánh giá độc tính, mức độ tăng sinh và di cư của tế bào gốc dây chằng nha chu người *in vitro*.

3. Đánh giá hiệu quả lâm sàng và X quang của A-PRF kết hợp vật liệu thay thế xương dị loại sau 3 và 6 tháng điều trị viêm nha chu có tiêu xương theo chiều dọc.

4. Đánh giá mức độ hiện diện những yếu tố tăng trưởng PDGF, VEGF và TGF- β 1 trong dịch khe nướu của người bệnh sau phẫu thuật tái tạo mô nha chu khi có và không có sử dụng A-PRF kết hợp vật liệu thay thế xương dị loại.

2. Tính cần thiết của đề tài

VNC không những là một bệnh gây mất răng, ảnh hưởng lớn đến chất lượng cuộc sống, còn ảnh hưởng đến nhiều bệnh toàn thân khác như đái tháo đường, tim mạch, bệnh phổi... Mục tiêu điều trị tiên tiến nhất hiện nay là tái tạo toàn bộ thành phần mô nha chu đã bị phá hủy, đặc biệt là dây chằng nha chu, fibrin giàu tiểu cầu, một vật liệu sinh học tự thân có thể đáp ứng được mục tiêu này.

Nghiên cứu hiệu quả của PRF thế hệ mới là A-PRF kết hợp XBSM trong điều trị VNC có tiêu xương theo chiều dọc còn hạn chế, chưa có nhiều nghiên cứu cơ bản và ứng dụng trong chuyên ngành nha chu. Vì vậy nghiên cứu này là cần thiết và có tính thực tiễn, giúp các nhà nghiên cứu cũng như các nhà lâm sàng có thể ứng dụng trong công việc giảng dạy và điều trị bệnh lý VNC.

3. Ý nghĩa thực tiễn và đóng góp mới

Nghiên cứu *in vitro* cơ sở để khẳng định sự hiện diện các yếu tố tăng trưởng (GFs) khi sử dụng A-PRF kết hợp XBSM làm cơ sở đánh giá và giải thích cơ chế tác nhân điều trị lên quá trình lành thương. Kết quả nghiên cứu cung cấp thêm bằng chứng về sự kết hợp của vật

liệu sinh học tự thân với vật liệu ghép xương trong điều trị tái tạo mô nha chu; góp phần thiết lập thêm bộ ba tái tạo trong kỹ nghệ mô gồm tế bào, các GFs và khung trong tái tạo mô.

Kết quả nghiên cứu lâm sàng đã cung cấp thêm những thông tin hữu ích về hiệu quả sử dụng A-PRF kết hợp XBSM trong điều trị VNC, giúp các nhà lâm sàng đề ra quyết định điều trị và có thể dự đoán kết quả điều trị một cách hiệu quả.

4. Cấu trúc luận án

Luận án gồm 129 trang, bao gồm: Đặt vấn đề (3 trang), Chương 1: Tổng quan tài liệu (23 trang), Chương 2: đối tượng và phương pháp nghiên cứu (31 trang), Chương 3: kết quả (30 trang), Chương 4: bàn luận (39 trang), Kết luận (2 trang) và Kiến nghị (1 trang). Có 30 bảng, 9 biểu đồ, 23 hình, 2 sơ đồ. Có 154 tài liệu tham khảo (6 tài liệu tiếng Việt, 148 tài liệu tiếng Anh).

CHƯƠNG 1: TỔNG QUAN TÀI LIỆU

PRF là vật liệu sinh học tự thân với ưu điểm thúc đẩy sự tăng sinh, di cư và biệt hóa tế bào; qua đó thúc đẩy quá trình lành thương. GFs phóng thích từ PRF như VEGF, PDGF, và TGF- β 1 có vai trò trong quá trình hình thành mạch máu. Chính vì vậy, khi kết hợp PRF với vật liệu ghép thay thế xương, PRF tạo kết nối sinh học giữa những hạt vật liệu ghép với nhau và có vai trò kích tạo xương thuận lợi cho quá trình tái tạo xương.

Nghiên cứu thành phần tế bào, cấu trúc hỗn hợp PRF-XBSM-Fibrinogen và động học về sự phóng thích các GFs của Castro và cs (2019) cho thấy các GFs PDGF, VEGF và TGF- β được phóng thích chậm và liên tục đến ngày 14 trên *in vitro*; lượng GFs phóng thích từ PRF-XBSM-Fibrinogen cao hơn so với nhóm chỉ sử dụng XBSM có

ý nghĩa, nhưng thấp hơn nhóm PRF riêng lẻ có ý nghĩa; sự khác biệt này có thể do GFs chèn bên trong những hạt XBSM và sự phóng thích thụ động GFs xảy ra khi có sự phân huỷ mạng lưới fibrin.

Nghiên cứu tổng quan hệ thống và phân tích gộp của Miron và cs (2021) ghi nhận sử dụng PRF kết hợp xương ghép cải thiện thông số CAL và DF trên lâm sàng và X quang so nhóm chỉ sử dụng xương ghép trong điều trị VNC có tiêu xương theo chiều dọc (IBD); sự khác biệt này có thể do tăng sự phóng thích GFs từ PRF.

Gamal và cs (2016) cho thấy lượng PDGF, VEGF trong dịch khe nước trên nhóm PRF-XBSM cao hơn so với chỉ sử dụng XBSM trong điều trị VNC; tuy nhiên sự khác biệt không có ý nghĩa. Về lâm sàng, sử dụng PRF-XBSM không tăng hiệu quả lâm sàng so với chỉ sử dụng XBSM trong điều trị VNC.

Cho đến nay chưa có nghiên cứu nào đánh giá hiệu quả phóng thích các GFs khi sử dụng A-PRF kết hợp XBSM ở những nồng độ khác nhau và tác động của chúng lên hPDLSCs, đây là nguồn tế bào có vai trò chính đối với tái tạo mô nha chu; làm cơ sở cho nghiên cứu lâm sàng.

CHƯƠNG 2: ĐỐI TƯỢNG VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Thiết kế nghiên cứu

Có hai công trình nghiên cứu độc lập tương đối với nhau nhưng cùng phục vụ cho các mục tiêu nghiên cứu:

Nghiên cứu *in vitro* để đánh giá các biểu hiện hình thái và hóa sinh quá trình lành thương của hỗn hợp A-PRF-XBSM.

Nghiên cứu lâm sàng có nhóm không sử dụng A-PRF để đánh giá hiệu quả hỗ trợ lành thương của hỗn hợp A-PRF-XBSM trong điều trị VNC có tiêu xương theo chiều dọc.

2.2. Đối tượng nghiên cứu

Tế bào gốc dây chằng nha chu người thể hệ P3 được cung cấp bởi phòng thí nghiệm Bộ môn sinh lý học động vật trường Đại học Khoa học Tự nhiên, Đại Học Quốc gia Thành phố Hồ Chí Minh.

Bệnh nhân viêm nha chu ở giai đoạn III mức độ B thỏa mãn tiêu chí chọn mẫu, đến khám và điều trị tại Khoa Răng Hàm Mặt, Đại học Y Dược Tp. HCM.

2.3. Phương pháp tiến hành

2.3.1. Nghiên cứu *in vitro* về hình thái và hóa sinh của A-PRF kết hợp vật liệu thay thế xương dị loại

- Chuẩn bị hPDLSCs:
 - hPDLSCs thể hệ P3 đã đông, chuẩn bị dòng tế bào
 - Cấy chuyển thể hệ P4 đạt đồng nhất hình dạng
 - Để đánh giá sự tăng sinh tế bào
 - Tính mật độ tế bào
- Chuẩn bị dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM
 - Chế tạo A-PRF từ máu ngoại vi của những tình nguyện viên
 - Trộn A-PRF với XBSM
 - Tạo dịch chiết A-PRF-XBSM nồng độ 100%, 20%, 4%
- Đánh giá sự tiết yếu tố tăng trưởng PDGF-AB và VEGF từ dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM
 - Kit ELISA
 - Khảo sát 1 giờ, 6 giờ, ngày 1, 3, 5 và 7
- Đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM lên khả năng sống của hPDLSCs
 - Các nhóm thử nghiệm:
 - Môi trường nuôi cấy (Blank)
 - Dịch chiết Latex

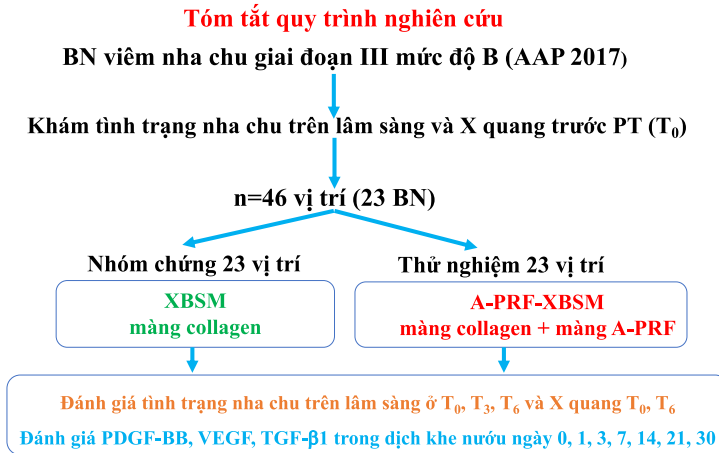
- Dịch chiết A-PRF-XBSM 100%
- Dịch chiết A-PRF-XBSM 20%
- Dịch chiết A-PRF-XBSM 4%
- Đánh giá hình thái tế bào: hình chụp dưới kính hiển vi
- Phân tích tỷ lệ tăng trưởng tương đối
- Đánh giá ảnh hưởng của dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM lên sự tăng sinh của hPDLSCs
- Các nhóm thử nghiệm:
 - Môi trường nuôi cấy (chúng dương)
 - Môi trường cơ bản (chúng âm)
 - Dịch chiết A-PRF-XBSM 100%
 - Dịch chiết A-PRF-XBSM 20%
 - Dịch chiết A-PRF-XBSM 4%
- Đánh giá sự tăng sinh tế bào tại các thời điểm ngày 1, 3, 5, 7.
- Đánh giá ảnh hưởng lên sự di cư của hPDLSCs của dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM
- Các nhóm thử nghiệm:
 - Môi trường nuôi cấy (chúng dương)
 - Môi trường cơ bản (chúng âm)
 - Dịch chiết A-PRF-XBSM 100%
 - Dịch chiết A-PRF-XBSM 20%
 - Dịch chiết A-PRF-XBSM 4%
- Đánh giá sự di cư ở 0 giờ và 24 giờ

2.3.2. Nghiên cứu ứng dụng lâm sàng có nhóm chứng

Với thiết kế nửa miệng, đây là nghiên cứu lâm sàng ngẫu nhiên mù đôi có nhóm chứng, trên một bệnh nhân vừa là nhóm không sử dụng A-PRF, vừa là nhóm thử nghiệm. Hai nhóm nghiên cứu đó là:

- Nhóm có sử dụng A-PRF: sử dụng A-PRF-XBSM + màng collagen + màng PRF.

- Nhóm không sử dụng A-PRF: sử dụng XBSM + màng collagen.



Sơ đồ 2.2 Tóm tắt tiến trình nghiên cứu ứng dụng lâm sàng

2.4. Thu thập và xử lý số liệu

Tất cả những dữ liệu được nhập bởi phần mềm Microsoft Excel 365 và phân tích trên phần mềm Stata phiên bản 14.

2.4.1. Thống kê mô tả

Phép kiểm Skewness and Kurtosis: kiểm tra phân phối bình thường (chuẩn) của các biến số.

Các biến số được trình bày bằng giá trị trung bình và độ lệch chuẩn (nếu biến số phân phối chuẩn), hoặc trung vị và khoảng tứ phân vị (nếu biến số không phân phối chuẩn).

2.4.2. Thống kê suy lý

- Yếu tố tăng trưởng PDGF, VEGF và TGF-β1 được phân tích dựa trên nồng độ tại mỗi thời điểm khảo sát. Sử dụng kiểm định

ANOVA để so sánh sự thay đổi trong nội bộ nhóm qua những mốc thời gian thí nghiệm và giữa các nhóm tại cùng thời điểm.

- Sự tăng sinh của tế bào được phân tích dựa trên số lượng tế bào tại thời điểm khảo sát trên mỗi giếng theo thời gian. Sự di cư của tế bào được phân tích dựa trên diện tích vùng vô bào ở thời điểm 24 giờ. Sử dụng kiểm định ANOVA để so sánh diện tích vùng vô bào giữa các nhóm tại thời điểm 24 giờ.

- Đối với các biến số nha chu PD, CAL, DF trên lâm sàng và X quang. Sử dụng kiểm định Wilcoxon matched-pairs signed-rank.

- Các kiểm định thống kê đạt ý nghĩa khi $p < 0,05$.

2.5. Đạo đức trong nghiên cứu

- Nghiên cứu đã được Hội đồng đánh giá đạo đức trong nghiên cứu Y sinh học của Trường thông qua.

- Người tình nguyện tham gia nghiên cứu được giải thích rõ ràng về lợi ích, nguy cơ và những bất tiện có thể gặp trong khi tham gia, đồng thời được cung cấp đầy đủ thông tin về mục tiêu, yêu cầu nghiên cứu trước khi chấp thuận tham gia nghiên cứu, ký đồng thuận tham gia nghiên cứu.

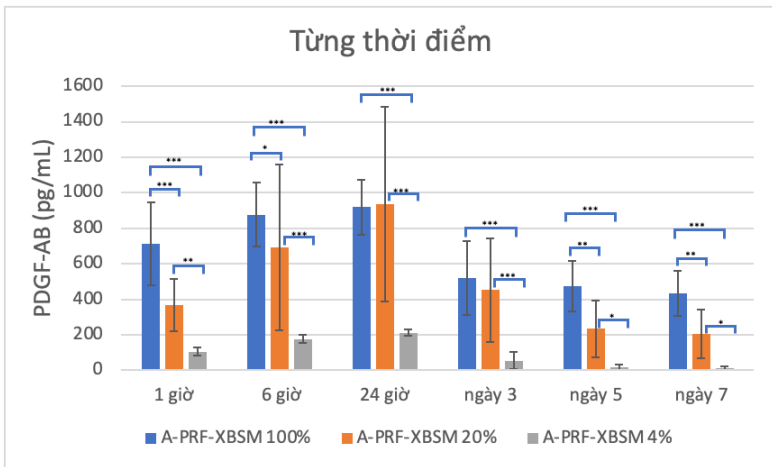
CHƯƠNG 3: KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU

3.1. Định lượng các yếu tố tăng trưởng PDGF-AB và VEGF phóng thích từ hỗn hợp dịch chiết A-PRF-XBSM

3.1.1. Sự phóng thích yếu tố tăng trưởng PDGF-AB ở từng thời điểm thực nghiệm và tích lũy theo thời gian

PDGF-AB có khuynh hướng phóng thích tăng ở 6 giờ đầu và đạt mức cao nhất sau 24 giờ, sau đó phóng thích chậm và giảm dần đến ngày 7; giống nhau cho các nồng độ A-PRF-XBSM 100%, A-PRF-XBSM 20% và A-PRF-XBSM 4% (biểu đồ 3.1).

So sánh sự phóng thích PDGF-AB giữa các nhóm nồng độ dịch chiết tại cùng thời điểm thể hiện trong biểu đồ 3.1. Kết quả nghiên cứu cho thấy PDGF-AB được phóng thích nhiều hơn ở nhóm A-PRF-XBSM 100% so với A-PRF-XBSM 20% và 4% ở tất cả các thời điểm khảo sát có ý nghĩa ($p < 0,001$). So sánh giữa nhóm A-PRF-XBSM 20% và A-PRF-XBSM 4% cho thấy lượng PDGF-AB phóng thích từ PDGF-AB 20% cao hơn A-PRF-XBSM 4% có ý nghĩa ở tất cả các thời điểm ($p < 0,01$) (biểu đồ 3.1).

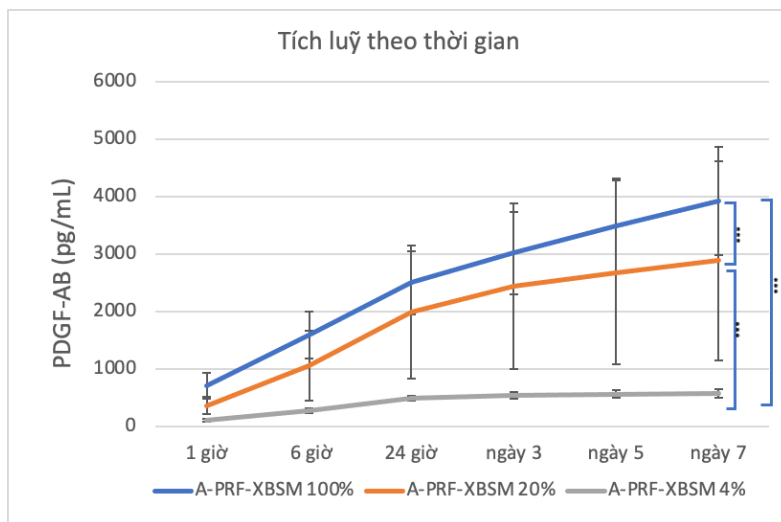


Kiểm định ANOVA đo lường lặp lại so sánh nồng độ giữa các nhóm ở mỗi thời điểm

(* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$)

Biểu đồ 3.1 Nồng độ PDGF-AB tại mỗi thời điểm

Phân tích tổng lượng PDGF-AB tích lũy, kết quả nghiên cứu cho thấy dịch chiết A-PRF-XBSM 100% phóng thích PDGF-AB tích lũy cao hơn có ý nghĩa so với các nhóm PDGF-AB 20% và PDGF-AB 4% ($p < 0,001$) (biểu đồ 3.2).



Kiểm định ANOVA đo lường lặp lại so sánh nồng độ tích lũy giữa các nhóm ở ngày 7

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

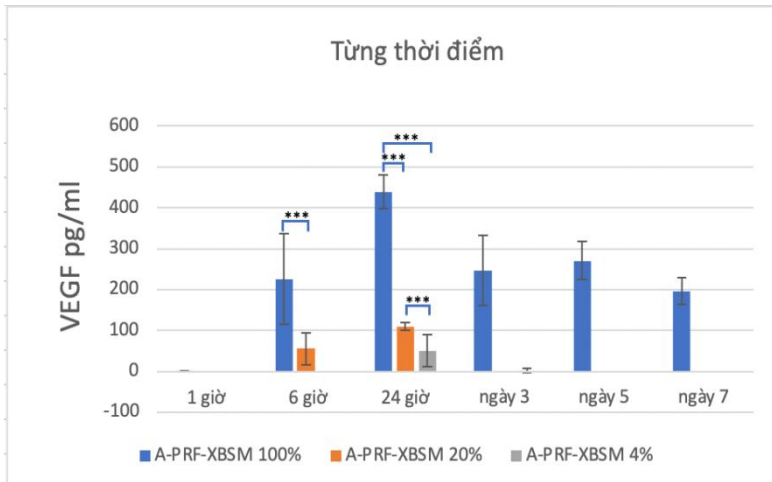
Biểu đồ 3.2 Nồng độ PDGF-AB tích lũy qua các mốc thời gian

3.1.2. Sự phóng thích yếu tố tăng trưởng VEGF ở từng thời điểm thực nghiệm và tích lũy theo thời gian

Tương tự PDGF-AB, nghiên cứu cho thấy VEGF cũng có khuynh hướng phóng thích tăng ở những giờ đầu và đạt mức cao nhất sau 24 giờ, sau đó phóng thích chậm và giảm dần đến ngày 7 cho nồng độ A-PRF-XBSM 100%. Tuy nhiên, nhóm A-PRF-XBSM 20% và 4% thì GFs VEGF chỉ phát hiện ở thời điểm 24 giờ, không thể phát hiện ở ngày 3 đến ngày 7 (biểu đồ 3.3).

So sánh sự phóng thích VEGF giữa các nhóm nồng độ dịch chiết tại cùng thời điểm thể hiện trong biểu đồ 3.3. Kết quả cho thấy lượng VEGF phóng thích từ nhóm A-PRF-XBSM 100% cao hơn các nhóm

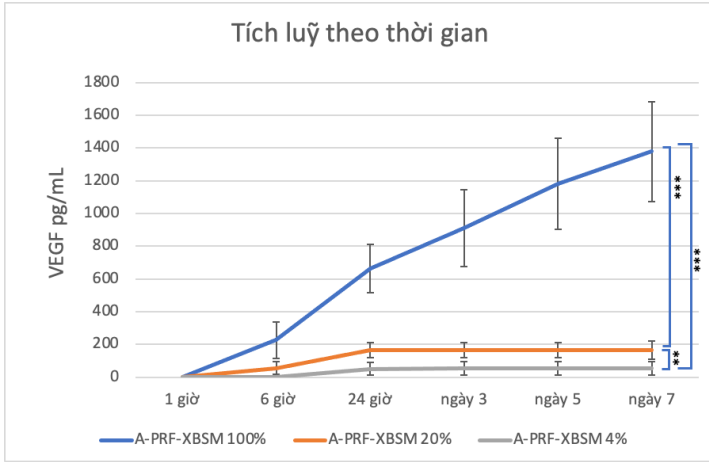
còn lại có ý nghĩa thống kê ở tất cả thời điểm ($p < 0,001$). Ở thời điểm 24 giờ lượng VEGF ở nhóm A-PRF-XBSM 20% cao hơn A-PRF-XBSM 4% có ý nghĩa ($p < 0,001$), ở những thời điểm còn lại lượng VEGF của nhóm A-PRF-XBSM 20% và 4% khác biệt không có ý nghĩa (biểu đồ 3.3).



*Kiểm định ANOVA đo lường lặp lại so sánh nồng độ giữa các nhóm ở mỗi thời điểm * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$*

Biểu đồ 3.3 So sánh nồng độ VEGF qua các mốc thời gian

Xét tổng lượng GFs tích lũy theo thời gian cho thấy lượng VEGF trên nhóm A-PRF-XBSM 100% cao hơn so với nhóm A-PRF-XBSM 20% và 4%, sự khác biệt có ý nghĩa ($p < 0,001$) (biểu đồ 3.4).



Kiểm định ANOVA đo lường lặp lại so sánh nồng độ tích lũy giữa các nhóm ở ngày 7

* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$

Biểu đồ 3.4 So sánh nồng độ VEGF-AB tích lũy qua các mốc thời gian

3.2. Tính an toàn và tác động của hỗn hợp A-PRF-XBSM đối với hPDLSCs

3.2.1. Ảnh hưởng của A-PRF kết hợp XBSM lên khả năng sống của hPDLSCs

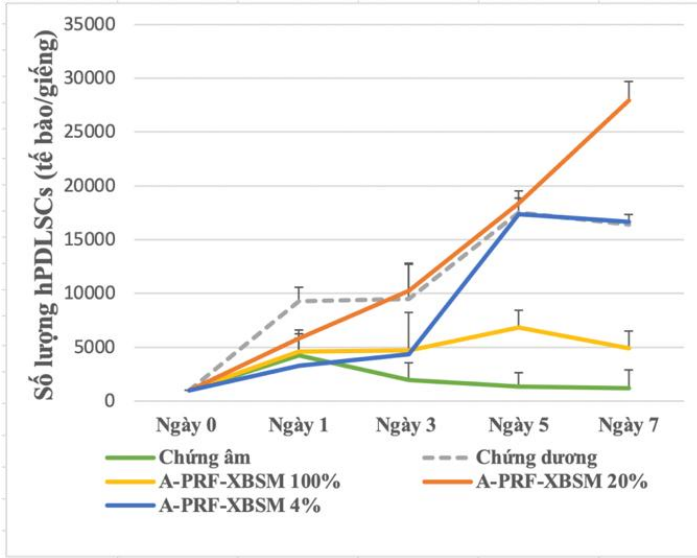
Kết quả so sánh phần trăm tỷ lệ tăng trưởng tương đối của dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM 100%, 20% và 4% với 70% và xác định mức độ độc tính cho tế bào theo tiêu chuẩn ISO10993-5:2009.

Dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM ở những nồng độ khác nhau không gây độc lên hPDLSCs; do đó A-PRF-XBSM có tính tương hợp sinh học hoàn toàn trong điều kiện *in vitro*.

3.2.2. Tác động của A-PRF-XBSM lên sự tăng sinh của hPDLSCs

Ảnh hưởng của nhóm chứng âm (môi trường cơ bản), chứng dương (môi trường nuôi cấy) và các dịch chiết hỗn hợp A-PRF-

XBSM 100%, 20% và 4% lên sự tăng sinh của hPDLSCs theo các mốc thời gian thực nghiệm ngày 1, 3, 5 và 7 được thể hiện trong biểu đồ 3.5.

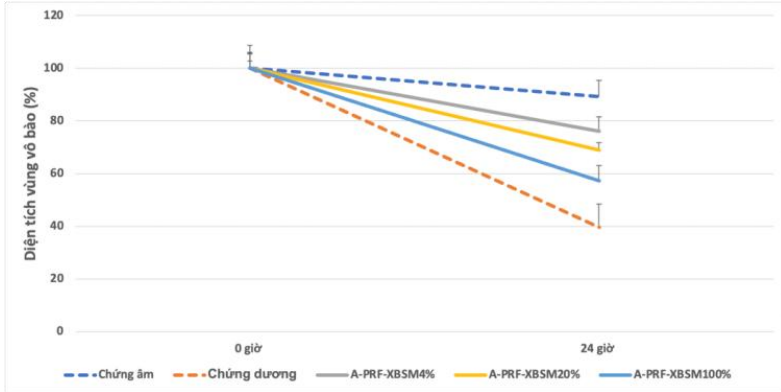


Biểu đồ 3.5 Xu hướng tăng sinh tế bào tại các thời điểm

So sánh giữa các nhóm A-PRF-XBSM 100%, 20% và 4% với nhóm chứng âm trong cùng một thời điểm cho thấy mức độ tăng sinh tế bào cao hơn có ý nghĩa ($p < 0,001$). Đáng chú ý, ở ngày 7 nhóm tế bào được nuôi cấy với A-PRF-XBSM 20% tỷ lệ tăng sinh tế bào cao nhất khi số lượng tế bào của nhóm này gấp 1,5 đến 5 lần so với các nhóm còn lại (biểu đồ 3.5).

3.2.3. Tác động của A-PRF-XBSM lên sự di cư của hPDLSCs

Để đánh giá mức độ di cư tế bào: bằng phần mềm phân tích hình ảnh Image-Analysis J dựa vào phần trăm diện tích vùng vô bào; kết quả cho thấy có sự thu hẹp diện tích vùng vô bào ở các nhóm thí nghiệm sau 24 giờ so với 0 giờ (biểu đồ 3.6).



Biểu đồ 3.6 Sự thay đổi diện tích vùng vô bào sau 24 giờ

Ở thời điểm 24 giờ: diện tích vùng vô bào của nhóm A-PRF-XBSM 100% nhỏ hơn so với PRF-XBSM 20% và 4%; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$); tương tự diện tích vùng vô bào nhóm A-PRF-XBSM 20% nhỏ hơn A-PRF-XBSM 4%; sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$). Điều này cho thấy mức độ di cư của hPDLSCs tùy thuộc vào nồng độ dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM.

3.3. Hiệu quả lâm sàng và X quang của A-PRF kết hợp vật liệu thay thế xương dị loại

3.3.1. Tình trạng nha chu lúc ban đầu (T₀) trên lâm sàng và phim X quang

Tại thời điểm T₀ mặc dù có sự khác biệt các biến số lâm sàng về nha chu và khiếm khuyết trong xương trên phim X quang giữa nhóm không sử dụng A-PRF và nhóm có sử dụng A-PRF, nhưng tất cả khác biệt đều không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.2. So sánh thay đổi chỉ số mảng bám (PII) và chỉ số nướu (GI) sau 3 và 6 tháng

So sánh theo thời gian trong từng nhóm, so với T₀ thì vào tháng thứ 3 (T₃), chỉ số PII và GI của cả hai nhóm giảm có ý nghĩa thống kê

($p < 0,05$); Ở tháng thứ 6 (T_6), chỉ số PII và GI trên cả hai nhóm giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Tuy nhiên sự khác biệt về PII và GI giữa T_3 và T_6 không có ý nghĩa thống kê trong cả hai nhóm.

So sánh giữa hai nhóm trong cùng thời điểm, tại ngày khám đầu tiên (T_0) cũng như thời điểm tháng thứ 3 (T_3) và tháng thứ 6 (T_6), chỉ số PII và GI không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.3. So sánh thay đổi vị trí bờ nướu (sự tụt nướu - GR) sau 3 và 6 tháng

So sánh trong cùng nhóm theo thời gian, tháng thứ 3 (T_3) và tháng thứ 6 (T_6) so với T_0 , chỉ số GR của nhóm có sử dụng A-PRF khác biệt không ý nghĩa ($p > 0,05$), nhóm không sử dụng A-PRF tụt nướu nhiều hơn có ý nghĩa thống kê ở thời điểm T_6 ($p < 0,05$).

So sánh giữa hai nhóm, ở thời điểm T_3 và T_6 , nhóm không sử dụng A-PRF có tụt nướu nhiều hơn so với nhóm có sử dụng A-PRF nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

3.3.4. So sánh thay đổi độ sâu túi nha chu (PD) sau 3 và 6 tháng

Bảng 3.15 trình bày sự thay đổi độ sâu túi nha chu (PD) tại các thời điểm đánh giá và so sánh sự thay đổi này trong từng nhóm theo thời gian và giữa hai nhóm tại cùng thời điểm đánh giá.

Bảng 3.15 So sánh thay đổi PD sau 3 và 6 tháng

PD (mm)	Thử nghiệm (n=23)		Chứng (n=23)		Khác biệt Chứng - Thử nghiệm	p2
	PD	p1	PD	p1		
T0	7 (6 – 9)		7 (6 – 8)		0 (-1 – 1)	0,600
T3	3,5 (3 – 4,5)		4,5 (3,5 – 5,5)		1 (0 – 1,5)	0,002
T6	1,5 (1 – 2)		2,5 (1,5 – 3,5)		1 (0,5 – 1,5)	0,001

Khác**biệt**

T0-T3	3,5 (2,5 – 4)	<0,001	2,5 (2 – 3,5)	<0,001
T0-T6	5,5 (5 – 6,5)	<0,001	4,5 (4 – 5,5)	<0,001
T3-T6	2 (2 – 2,5)	0,001	2 (1,5 – 3)	0,001

Số liệu trình bày: Trung vị (khoảng tứ phân vị)

p1: So sánh sự khác biệt nội bộ nhóm bằng kiểm định Dunn's post-hoc test hiệu chỉnh Bonferroni cho so sánh nhiều cặp

p2: So sánh sự khác biệt giữa các nhóm bằng kiểm định Wilcoxon matched-pairs signed-rank

So sánh trong cùng nhóm, sau 3 tháng (T₃) rồi sau 6 tháng (T₆), độ sâu túi (PD) của cả hai nhóm có sử dụng A-PRF và nhóm không sử dụng A-PRF đều giảm có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).

So sánh giữa hai nhóm, tại thời điểm T₃, PD của nhóm có sử dụng A-PRF giảm nhiều hơn so với nhóm không sử dụng A-PRF có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$); tiếp tục giảm sau 6 tháng (T₆) có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

3.3.5. So sánh thay đổi về mất bám dính lâm sàng (CAL) sau 3 và 6 tháng

Bảng 3.16 trình bày sự thay đổi mất bám dính lâm sàng (CAL).

Bảng 3.16 So sánh thay đổi CAL sau 3 và 6 tháng

CAL (mm)	Thử nghiệm (n=23)		Chứng (n=23)		Khác biệt Chứng – Thử nghiệm	p2
	CAL	p1	CAL	p1		
T0	7 (7 – 9)		7,5 (6 – 9)		0 (-2,5 – 1)	0,355
T3	4 (3 – 5,5)		6 (4,5 – 7,5)		1,5 (-0,5 – 2,5)	0,005
T6	2 (1 – 3,5)		3,5 (2,5 – 5,5)		2 (-0,5 – 3)	0,002

Khác biệt				
T0-T3	3 (2 – 4)	<0,0 01	1,5 (1 – 2)	0,069
T0-T6	5 (4 – 7)	<0,0 01	3 (2,5 – 4)	<0,00 1
T3-T6	2 (1,5 – 3)	0,006	2 (1,5 – 2,5)	0,008

Số liệu trình bày: Trung vị (khoảng tứ phân vị)

p1: So sánh sự khác biệt nội bộ nhóm bằng kiểm định Dunn's post-hoc test hiệu chỉnh Bonferroni cho so sánh nhiều cặp

p2: So sánh sự khác biệt giữa các nhóm bằng kiểm định Wilcoxon matched-pairs signed-rank

So sánh trong cùng nhóm và đối chiếu với T₀, ở nhóm có sử dụng A-PRF có sự cải thiện CAL vào tháng thứ 3 (T₃) và tháng thứ 6 (T₆) có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$); Ở nhóm không sử dụng A-PRF, CAL chỉ cải thiện vào tháng thứ 6 (T₆). Đối chiếu với T₃, cả hai nhóm đều có cải thiện về CAL vào tháng thứ 6 (T₆) có ý nghĩa thống kê ($p < 0,05$).

So sánh giữa hai nhóm, ở thời điểm T₃ và thời điểm T₆, CAL ở nhóm có sử dụng A-PRF cải thiện hơn so với nhóm không sử dụng A-PRF có ý nghĩa thống kê ($p < 0,01$).

3.3.6. So sánh lấp khiếm khuyết (DF) trên X quang sau 6 tháng

Bảng 3.19 trình bày lấp khiếm khuyết trên phim X quang. Ở tháng thứ 6 (T₆), lấp khiếm khuyết trên nhóm có sử dụng A-PRF và nhóm không sử dụng A-PRF lần lượt là 63,69% và 53,23%, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm T₀ ($p < 0,001$).

So sánh giữa hai nhóm cùng thời điểm, mức độ lấp khiếm khuyết ở nhóm có sử dụng A-PRF nhiều hơn so với nhóm không sử dụng A-PRF, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Bảng 3.19 So sánh tỷ lệ phần trăm lớp khiếm khuyết (DF) sau 6 tháng

	Thử nghiệm (n=23)	Chứng (n=23)	Khác biệt Chứng – Thử nghiệm	p
DF	3,21 (2,07 – 4,84)	2,37 (1,46 – 4,11)	-0,12 (-2,49 – 1,14)	0,294
%DF	63,69 (47,73 – 81,56)	53,23 (35,46 – 73,84)	-5,42 (-32,76 – 22,79)	0,236

p: So sánh sự khác biệt giữa các nhóm bằng kiểm định Wilcoxon matched-pairs signed-rank

3.4. Mức độ hiện diện những yếu tố tăng trưởng PDGF-BB, VEGF và TGF- β 1 trong dịch khe nước (GCF)

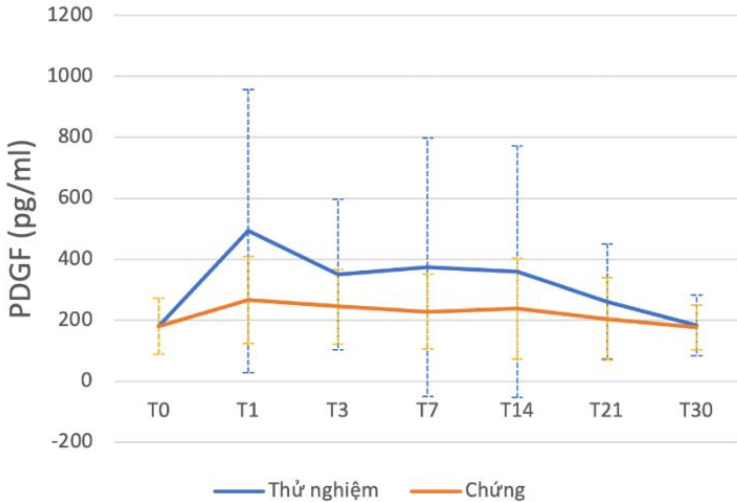
3.4.1. Biểu hiện PDGF-BB trong dịch khe nước

So sánh trong từng nhóm, đối chiếu ngày 0 (T0):

- Nồng độ PDGF-BB nhóm có sử dụng A-PRF tại thời điểm ngày 1, 3, 7 và ngày 14 cao hơn có ý nghĩa so với ngày 0, là thời điểm trước phẫu thuật ($p < 0,05$); Ngày 14, 21 và 30 vẫn có cao hơn nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Nồng độ PDGF-BB nhóm không sử dụng A-PRF tại thời điểm ngày 1, ngày 3 cao hơn thời điểm ngày 0 có ý nghĩa ($p < 0,05$); Ngày 7, 14, 21 và 30 có cao hơn nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Xu hướng phóng thích PDGF-BB tương tự trên cả hai nhóm: nồng độ PDGF-BB tăng cao nhất ở ngày 1 sau đó giảm dần ở ngày 3 và tiếp tục giảm đến ngày 30 trên cả nhóm có sử dụng A-PRF và nhóm không sử dụng A-PRF (biểu đồ 3.7).



Biểu đồ 3.7 Xu hướng phóng thích GFs PDGF-BB trong dịch khe nướu tại các mốc thời gian

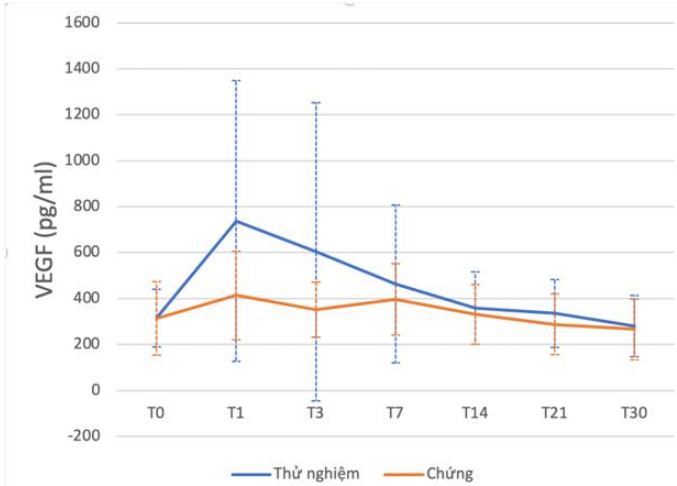
3.4.2. Biểu hiện VEGF trong dịch khe nướu

So sánh trong cùng nhóm, đối chiếu ngày 0 (T0):

- Nồng độ VEGF nhóm có sử dụng A-PRF tại thời điểm ngày 1, 3, 7 cao hơn có ý nghĩa so với T0 ($p < 0,05$); Ngày 14, 21 và 30, sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

- Nồng độ VEGF nhóm không sử dụng A-PRF tại thời điểm ngày 1, 7 cao hơn có ý nghĩa so với T0 ($p < 0,05$); ngày 3, 14, 21 và 30 sự khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Xu hướng phóng thích VEGF đối với nhóm không sử dụng A-PRF cao nhất ở ngày 1, sau đó giảm đến ngày 30. Tương tự, nhóm có sử dụng A-PRF cho thấy nồng độ VEGF cao nhất ở ngày 1 sau đó giảm đến ngày 30.



Biểu đồ 3.8 Xu hướng phóng thích yếu tố tăng trưởng VEGF trong dịch khe nướu tại các mốc thời gian

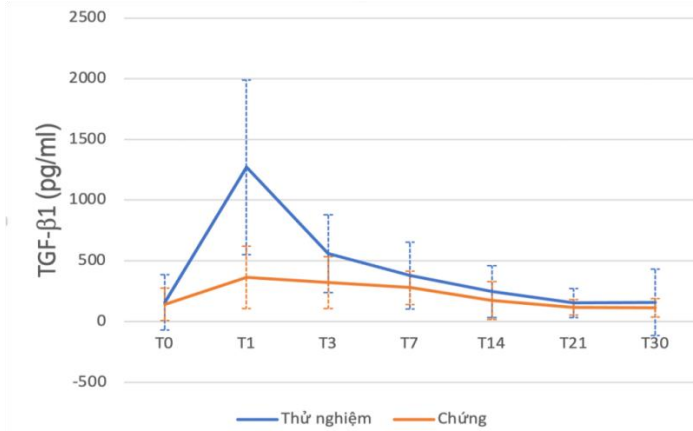
3.4.3. Biểu hiện TGF- β 1 trong dịch khe nướu

So sánh trong từng nhóm, đối chiếu ngày 0 (T0):

- Nồng độ VEGF nhóm có sử dụng A-PRF cao nhất ở ngày 1, tại thời điểm ngày 1, 3, 7 nồng độ TGF- β 1 cao hơn có ý nghĩa so với T0 ($p < 0,001$); ngày 14, 21 và 30 nồng độ TGF- β 1 vẫn cao hơn so với T0 nhưng sự khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

- Nồng độ VEGF nhóm không sử dụng A-PRF cao nhất ở ngày 1, thời điểm ngày 1, 3, 7 nồng độ TGF- β 1 cao hơn có ý nghĩa so với thời điểm ngày 0 ($p < 0,01$); ngày 14, 21 và 30 sự khác biệt không có ý nghĩa ($p > 0,05$).

Xu hướng biểu hiện TGF- β 1 trong dịch khe nướu trên cả hai nhóm giống nhau: Nồng độ TGF- β 1 tăng nhanh ở ngày 1 có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$); sau đó giảm đến ngày 30 ($p < 0,001$) (biểu đồ 3.9).



Biểu đồ 3.9 Xu hướng phóng thích TGF- β 1 trong dịch khe nướu tại các mốc thời gian

KẾT LUẬN

Đề tài là sự phối hợp của hai nghiên cứu: (1) nghiên cứu *in vitro* về những biểu hiện GFs (PDGF và VEGF) trong dịch chiết A-PRF kết hợp với vật liệu thay thế xương dị loại (XBSM) và tính an toàn của dịch chiết này lên hình thái, sự sống và quá trình lành thương trên tế bào gốc dây chằng nha chu người (hPDLSCs) và (2) nghiên cứu lâm sàng thiết kế nửa miệng gồm 2 nhóm: nhóm không dùng A-PRF và nhóm có sử dụng A-PRF kết hợp XBSM trong điều trị viêm nha chu có tiêu xương theo chiều dọc trên mẫu 23 bệnh nhân. Các kết luận rút ra như sau:

1. Về hiệu quả phóng thích yếu tố tăng trưởng PDGF và VEGF trong dịch chiết hỗn hợp A-PRF kết hợp với vật liệu thay thế xương dị loại

Dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM nồng độ 100%; 20% và 4% phóng thích yếu tố tăng trưởng PDGF-AB và VEGF cao nhất sau 24

giờ và giảm dần đến ngày 7; Mức độ phóng thích cũng như tổng lượng phóng thích tích lũy theo thời gian PDGF-AB và VEGF của nhóm A-PRF-XBSM 100% nhiều hơn so với A-PRF-XBSM 20% và 4% ở tất cả các thời điểm khảo sát có ý nghĩa ($p < 0,001$).

2. Về mức độ an toàn và tác động của A-PRF kết hợp với vật liệu thay thế xương dị loại lên khả năng sống, sự tăng sinh và di cư của tế bào gốc dây chằng nha chu người

Tính gây độc tế bào: Dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM ở cả ba nồng độ 100%; 20% và 4% không gây độc lên hPDLSCs theo tiêu chuẩn ISO10993-5:2009.

Khả năng kích thích tăng sinh tế bào: Dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM ở nồng độ 100%; 20% và 4% có khả năng kích thích tăng sinh tế bào cao hơn có ý nghĩa so với nhóm chứng âm ($p < 0,001$). Vào ngày 7 nhóm hPDLSCs được nuôi cấy với A-PRF-XBSM 20% tỷ lệ tăng sinh tế bào cao nhất. Như vậy A-PRF-XBSM 20% phù hợp cho sự tăng sinh tế bào hơn so với A-PRF-XBSM 4% và 100%.

Khả năng kích thích di cư tế bào: Dịch chiết hỗn hợp A-PRF-XBSM thúc đẩy sự di cư của hPDLSCs ở tất cả các nồng độ. A-PRF-XBSM 100% thúc đẩy sự di cư của hPDLSCs cao hơn có ý nghĩa so với nhóm A-PRF-XBSM 20% và 4%.

3. Kết quả lâm sàng và X quang của A-PRF kết hợp vật liệu thay thế xương dị loại trong điều trị viêm nha chu có tiêu xương theo chiều dọc

Tại thời điểm T_0 tất cả biến số lâm sàng về nha chu và khiếm khuyết trong xương trên phim X quang giữa nhóm không sử dụng A-PRF và nhóm có sử dụng A-PRF khác biệt không có ý nghĩa thống kê ($p > 0,05$).

Sau 6 tháng điều trị, tất cả các biến số lâm sàng nha chu và lấp khiếm khuyết trên X quang của cả hai nhóm đều cải thiện tốt, khác biệt có ý nghĩa thống kê so với thời điểm T_0

So sánh biến số lâm sàng sau 3 và 6 tháng điều trị:

- Những biến số không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) giữa hai nhóm là: chỉ số mảng bám (PII), chỉ số nướu (GI), vị trí bờ nướu (GR).

- Những biến số có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p<0,01$) giữa hai nhóm là: nhóm có sử dụng A-PRF sẽ có độ sâu túi (PD) giảm; mất bám dính lâm sàng (CAL) được cải thiện nhiều hơn so với nhóm không sử dụng A-PRF.

So sánh biến số X quang sau 6 tháng điều trị:

- Những biến số không khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p>0,05$) giữa hai nhóm là: biến số tiêu mào xương ổ (ACR) và lấp khiếm khuyết (DF).

4. Mức độ hiện diện PDGF-BB, VEGF và TGF- β 1 trong dịch khe nướu của người bệnh khi sử dụng A-PRF kết hợp XBSM trong điều trị viêm nha chu có tiêu xương theo chiều dọc

Nồng độ GFs (PDGF-BB, VEGF và TGF- β 1) ở nhóm có sử dụng A-PRF cao hơn nhóm không sử dụng A-PRF có ý nghĩa thống kê ở giai đoạn sớm (ngày 1, ngày 3), ở các mốc thời gian ngày 7, 14, 21 và 30 sự khác biệt không có ý nghĩa ($p>0,05$).

Xu hướng phóng thích PDGF-BB, VEGF và TGF- β 1 theo thời gian giống nhau trên cả hai nhóm: cao nhất ở ngày 1 sau phẫu thuật và giảm dần đến ngày 30.

KIẾN NGHỊ

Từ các kết quả nghiên cứu, phân tích những hạn chế của đề tài, một số kiến nghị xin được đưa ra như sau:

1. Cần thêm các nghiên cứu *in vitro* để đánh giá những tác động lên hPDLSCs khác ngoài sự tăng sinh và di cư tế bào, đặc biệt là tác động của A-PRF-XBSM lên biệt hóa tạo xương *in vitro* của hPDLSCs.
2. Nên có thêm đánh giá xác định mối liên quan giữa sự phóng thích các GFs từ dịch khe nướu với sự lành thương mô nha chu trong điều trị VNC có IBD thông qua kết hợp các biến số nha chu lâm sàng, X quang với các biến số đánh giá GFs.
3. Nghiên cứu ứng dụng lâm sàng cần thời gian theo dõi dài hơn để đánh giá sự trưởng thành của mô xương sau ghép để có bằng chứng thuyết phục hơn khi sử dụng A-PRF kết hợp XBSM để ứng dụng hiệu quả trên lâm sàng.

DANH MỤC CÔNG TRÌNH ĐÃ CÔNG BỐ CÓ LIÊN QUAN

1. Meo Nguyen, Thuy T. Nguyen, Ha L. B. Tran, Dang N. Tran, Lan T. Q. Ngo, Nam C. N. Huynh, (2022), “Effects of advanced platelet-rich fibrin combined with xenogenic bone on human periodontal ligament stem cells”, *Clin Exp Dent Res*. DOI: [10.1002/cre2.563](https://doi.org/10.1002/cre2.563).