# Trang thông tin luận án tiếng Việt

Tên đề tài luận án: Nghiên cứu chế tạo màng tim bò vô bào gia cường bằng glutaraldehyde và gắn heparin đạt tiêu chí làm mảnh vá tim mạch

Ngành: Sinh lý học người và động vật

Mã số ngành: 9420104

Họ tên nghiên cứu sinh: Nguyễn Thị Ngọc Mỹ

Khóa đào tạo: 2018

Người hướng dẫn khoa học: PGS.TS. Trần Lê Bảo Hà

Cơ sở đào tạo: Trường Đại học Khoa học Tự nhiên, ĐHQG-HCM

**1. TÓM TẮT NỘI DUNG LUẬN ÁN**:

Màng tim bò đã và đang được sử dụng trong chế tạo các mảnh vá tim mạch. Màng tim bò được xử lý loại tế bào và khâu mạch bằng glutaraldehyde nhằm hạn chế đáp ứng miễn dịch, tăng cường độ bền và thời gian tồn tại trong cơ thể. Khung nền ngoại bào (ECM) từ mô màng tim cũng được chứng minh khả năng hỗ trợ sự quá trình tái tạo và sát nhập mô chủ. Tuy nhiên, hai vấn đề tồn động của các mảnh vá tim mạch hiện nay là khoáng hoá do nguy cơ gây độc của Glutaraldehyde và bám dính huyết khối do thành phần ECM cho phép các yếu tố đông máu và protein huyết tương thẩm thấu và bám dính. Do đó, lĩnh vực chế tạo mảnh vá tim mạch từ màng tim bò vẫn đang được nghiên cứu. Các tác nhân khử tế bào như Sodium dodecyl sulfate (SDS) và gia cường bằng glutaraldehyde cần được khảo sát và tối ưu. Để cải thiện đặc tính tương hợp máu, hướng tiếp cận gắn heparin được xem là tiêm năng, nhờ vào hoạt tính chống đông máu của heparin. Tuy nhiên, các kết quả hệ thống về hiệu quả gắn heparin lên bề mặt màng tim bò vô bào gia cường vẫn chưa được công bố. Luận án tiến hành nghiên cứu chế tạo màng tim bò vô bào gia cường và gắn heparin nhằm đạt được tiêu chí làm mảnh vá tim mạch.

Quy trình khử tế bào và gia cường màng tim bò được nghiên cứu. Các đặc tính cần có ở mảnh vá tim mạch như cơ tính, khả năng tồn tại, an toàn và tương hợp máu cũng được khảo sát. Từ quy trình chế tạo tối ưu, màng tim bò vô bào gia cường đã đạt được phần lớn các tiêu chí đề ra. Đặc tính tương hợp máu kém do khối máu đông và tiểu cầu bám dính trên màng. Trong giai đoạn tiếp theo, quy trình gắn heparin lên màng bằng phương pháp lắp ráp từng lớp có kết hợp Dihydroxy-iron (viết tắt DHI) được nghiên cứu. Kết quả cho thấy sau bảy chu kỳ lắp ráp, heparin được cố định thành công và với hàm lượng cao hơn đáng kể so với phương pháp ủ đơn giản. Heparin cũng có thể được thải ra và duy trì bề mặt kháng đông máu. Màng có cố định heparin cũng hạn chế sự bám dính tiểu cầu và không gây tán huyết, do đó, chứng minh cho đặc tính tương hợp máu của màng. Sau 24 giờ thải heparin, màng thể hiện tính an toàn và hỗ trợ sự bám dính của tế bào nội mô trên cả hai bề mặt màng. So với bề mặt sợi, bề mặt thanh mạc của màng cho phép duy trì sự tăng trưởng và bám dính của tế bào lên đến bảy ngày đánh giá. Các kết quả in vitro này giúp dự đoán màng tim bò vô bào có cố định heparin có khả năng chống đông máu tại thời điểm cấy ghép, màng có khả năng hỗ trợ nội mô hoá do đó giúp duy trì đặc tính tương hợp máu của màng sau thời gian thải heparin. Ở giai đoạn thử nghiệm trên động vật, màng được chứng minh về tính tương hợp in vivo khi ghép trên chuột thí nghiệm. Về thử nghiệm chức năng, màng được ghép vào động mạch cảnh của thỏ thí nghiệm. Tại thời điểm phẫu thuật cho phép tạo hình thành công, không có hiện tương chảy máu vết khâu và duy trì hoạt động của mạch máu. Sau bảy tuần cấy ghép, so với tình trạng tắc mạch ở nhóm màng thương mại, một trường hợp được ghép màng tim bò vô bào cố định heparin đã duy trì trạng thái thông mạch, không xuất hiện đông máu trong lòng mạch. Đối với nhóm thí nghiệm này, tuy hiện tượng bao sợi hoá mảnh ghép vẫn diễn ra, mô mạch máu mới được hình thành và thống nhất với mạch máu chủ, do đó, chỉ ra màng có khả năng được sử dụng làm mảnh vá mạch máu.

**2. NHỮNG KẾT QUẢ MỚI CỦA LUẬN ÁN**:

* Màng tim bò vô bào gia cường thoả được phần lớn các tiêu chí của mảnh vá tim mạch, nhưng gây đông máu và bám dính tiểu cầu trên bề mặt màng
* Heparin được cố định thành công lên màng tim bò vô bào gia cường theo nguyên tắt lắp ráp từng lớp, với hàm lượng cao hơn đáng kể so với phương pháp ủ thông thường
* Màng tim bò vô bào gia cường có cố định heparin thể hiện đặc tính tương hợp máu tốt, đồng thời cho phép nội mô hoá sau thời gian thải heparin
* Màng tim bò vô bào gia cường có cố định heparin thể hiện đặc tính tương hợp sinh học in vivo
* Ở đánh giá chức năng, trường hợp không xuất hiện huyết khối lòng mạch, mô mạch máu mới hình thành và thông nhất với mô mạch máu chủ được ghi nhận

**3.** **CÁC ỨNG DỤNG/ KHẢ NĂNG ỨNG DỤNG TRONG THỰC TIỄN HAY NHỮNG VẤN ĐỀ CÒN BỎ NGỎ CẦN TIẾP TỤC NGHIÊN CỨU**

* Các cơ chế phân tử trong tương tác giữa màng, heparin và tế bào nội mô cần được nghiên cứu sâu hơn nhằm làm rõ cho tác động hỗ trợ nội mô hoá
* Thử nghiệm chức năng của màng cần được thực hiện với số lượng động vật lớn hơn với thời gian dài nhằm khẳng định hiệu quả cấy ghép
* Các quy trình nghiên cứu khả năng được áp dụng trong thực tế chế tạo màng ghép cho lĩnh vực tim mạch nói riêng và cho lĩnh vực y sinh nói chung (như trong nghiên cứu kỹ nghệ mô, làm màng điều trị ngăn trong nha khoa, thẩm mỹ)

|  |  |
| --- | --- |
| **TẬP THỂ CÁN BỘ HƯỚNG DẪN**  (Ký tên, họ tên)  Trần Lê Bảo Hà | **NGHIÊN CỨU SINH**  (Ký tên, họ tên)  Nguyễn Thị Ngọc Mỹ |

**XÁC NHẬN CỦA CƠ SỞ ĐÀO TẠO**

**HIỆU TRƯỞNG**

# Trang thông tin luận án tiếng Anh

**Thesis information**

Thesis title: Study on the fabrication of crosslinked acellular bovine pericardium and heparin immobilization to meet the criteria for cardiovascular patch.

Speciality: Human and animal physiology

Code: 9420104

Name of PhD Student: Nguyễn Thị Ngọc Mỹ

Academic year: 2018

Supervisor: Assoc. Prof. Trần Lê Bảo Hà

At: VNUHCM - University of Science

**1. SUMMARY**:

Bovine pericardium has been widely used for the fabrication of cardiovascular patches. Bovine pericardium is decellularized and crosslinked with glutaraldehyde to minimize the immune response, improve mechanical strength and durability in vivo. The extracellular matrix (ECM) from pericardial tissue has also been shown to support host tissue remodeling and integration. However, calcification due to glutaraldehyde toxicity still remains. ECM components of pericardium have also been shown to allow coagulation factors and plasma proteins to adsorption, facilitating thrombus formation on the graft surface. Therefore, the field of cardiovascular patch fabricated from bovine pericardium is still being studied. Decellularization using Sodium dodecyl sulfate (SDS) and glutaraldehyde crosslinking require detailed invastigation and optimization. To improve hemocompatibility, heparin immobilization has been considered as potential approach due to anticoagulant effect of heparin. There is lack of publications on the heparin immobilization of bovine pericardium after decellularization and glutaraldehyde crosslinking. The present PhD thesis focuses on the fabrication of crosslinked acellular bovine pericardium and heparin immobilization to achieve the criteria for cardiovascular patch.

Decellularization and crosslinking of bovine pericardium was studied to acquire the cardiovascular patch criteria. From the optimized fabrication process, the crosslinked acellular bovine pericardium (so-called GluABP) has achieved most of proposed criteria. However, the hemocompatibility is poor due to thrombus and platelet adhesion on the membrane. In the next stage, heparin immobilization of GluABP was studied according to the principle of layer-by-layer assembly. The results showed that after seven assembly cycles, heparin was successfully immobilized and in significantly higher concentration than in simple incubation. Heparin can also be released and maintain an anticoagulant surface during experimental duration. The Heparinized GluABP was found to exhibit platelet and thrombus adhesion, thus demonstrating its hemocompatibility properties. After 24 h of heparin releasing, heparinized GluABP as demonstrated its safety and support endothelial cell adhesion on both sides of membrane surface. Compared with the fibrous surface, the serosa surface of heparinized GluABP allowed the cell proliferation and adhesion for up to seven days of evaluation. These in vitro results predict that GluABP would present the anticoagulation at the time of transplantation, after heparin releasing, support endothelialization and thus maintain the hemocompatibility. The membrane was shown in vivo biocompatibility when grafted in laboratory mice. In functional testing, GluABP was implanted into rabbit carotid artery. At the time of post-surgery, GluABP allowed successful reconstruction with no suture bleeding and vascularity maintenance. After seven weeks of implantation, compared with the vascular occlusion in the commercial membrane group, vascular patency without thrombus was found in one case implanted with GluABP. For this GluABP group, although graft encapsulation still occurred, new vascular tissue was formed and integrated with the host blood vessel, thus indicating the membrane's potential for use as a vascular patch.

**2. NOVELTY OF THESIS**:

* Crosslinked and acellular bovine pericardium meets most of the criteria for a cardiovascular patch, however, causes coagulation and platelet adhesion
* Heparin was successfully immobilized onto the membrane using layer-by-layer assembly technique, with significantly higher concentration of heparin in comparation with simple incubation.
* Heparinized bovine pericardium exhibits good hemocompatibility and allows endothelialization when heparin releasing
* Heparinized bovine pericardium exhibits in vivo biocompatibility
* In functional assessment, vascular patency with no thrombus formation, new vascular tissue formation and integration with host vascular tissue was noted.

**3**. **APPLICATIONS/ APPLICABILITY/ PERSPECTIVE**

* The molecular mechanisms in the interaction between membrane, heparin and endothelial cells need to be further studied to elucidate the endothelial supportive effect.
* Vacular patch function assessment should be performed in larger numbers of animals in longer period of time to confirm implantation efficacy.
* The establised procedures in this thesis can be applied in practice to fabricate graft membranes for the cardiovascular field in particular and for the biomedical field in general (such as in tissue engineering research, as barrier membrane in dentistry surgery, and plastic surgery, etc.)

|  |  |
| --- | --- |
| **SUPERVISOR**  Trần Lê Bảo Hà | **PhD STUDENT**  Nguyễn Thị Ngọc Mỹ |

**CERTIFICATION**

**UNIVERSITY OF SCIENCE**

**PRESIDENT**