BỘ GIÁO DỤC VÀ ĐÀO TẠO

ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG

LÊ MINH TRÍ

NGHIÊN CỨU ỨNG DỤNG KỸ THUẬT CRYO TRONG LĨNH VỰC Y TẾ Ở ĐIỀU KIỆN VIỆT NAM

Chuyên ngành: Kỹ thuật nhiệt

Mã số: 62.52.01.15

TÓM TẮT LUẬN ÁN TIẾN SĨ KỸ THUẬT

Đà Nẵng- năm 2017

Công trình được hoàn thành tại

ĐẠI HỌC ĐÀ NẴNG

Người hướng dẫn khoa học:

1. PGS.TS. Hoàng Ngọc Đồng

2. TS. Nguyễn Thành Văn

Phản biện 1: PGS.TS. Hà Mạnh Thư

Phản biện 2: PGS.TS. Võ Chí Chính

Phản biện 3: PGS.TS. Nguyễn Bốn

Luận án sẽ được bảo vệ tại Hội đồng chấm Luận án Tiến sĩ kỹ thuật cấp Đại học Đà Nẵng họp vào ngày 16 tháng 6 năm 2017 tại Đại học Đà Nẵng.

Có thể tìm hiểu luận án tại:

- Trung tâm Học liệu - Đại học Đà Nẵng.
- Thư viện Quốc gia, Hà Nội.

MỞ ĐẦU

1. Lý do chọn đề tài

Những năm gần đây kỹ thuật lạnh Cryo phát triển nhanh chóng và mạnh mẽ nhờ vào các đặc tính và tiềm năng ứng dụng của chúng trong lĩnh vực y tế. Hai ứng dụng chính của kỹ thuật này: sản xuất môi trường lạnh để bảo quản các sản phẩm lạnh y tế và ứng dụng trong phẫu thuật lạnh (Cryosurgery).

Trong công nghệ bảo quản lạnh, các sản phẩm y tế như hóa chất sinh phẩm, chế phẩm máu, phôi, tế bào gốc, tinh trùng...được bảo quản trong các thiết bị chuyên dụng ở nhiệt độ Cryo. Bảo quản đông lạnh là kỹ thuật trữ tế bào và mô sống ở điều kiện nhiệt độ thấp trong thời gian rất dài. Ở nhiệt độ này, hầu hết mọi phản ứng hoá học đều không xảy ra, tất cả hoạt động bên trong các tế bào đều ngưng lại. Các phân tử nước lúc này tồn tại dưới dạng kết hợp, tinh thể hoặc dạng kính. Lưu trữ theo dạng này không mang đến bất cứ sự tổn hại nào cho tế bào. Theo cách này, tế bào và mô có thể khôi phục bất cứ khi nào cần sử dụng.

Trong công nghệ phẫu thuật lạnh, phương pháp này đã được sử dụng để điều trị một số bệnh trong rối loạn da lành tính và ác tính, điều trị mụn cóc, nốt ruồi, thẻ da, keratoses năng lượng mặt trời, u dây thần kinh Morton và ung thư da nhỏ. Phẫu thuật lạnh cũng được dùng cho ung thư gan, ung thư tuyến tiền liệt, ung thư phổi, ung thư miệng, rối loạn cổ tử cung, bệnh trĩ, mô mềm như plantar fasciitis và u xơ (u lành mô liên kết). Phương pháp điều trị này cũng thích hợp và hiệu quả cho khối u rắn lớn hơn 1 cm.

Với mục đích nghiên cứu kim tạo cầu băng để phá hủy có kiểm soát các tổ chức bệnh lý và các tế bào ung thư, chúng tôi sử dụng kim tạo cầu băng có khả năng gây sốc nhiệt cho vùng tế bào tiếp xúc ở

đầu kim. Quy trình sốc nhiệt gồm 2 quá trình: cấp lạnh và làm nóng. Trong quá trình cấp lạnh, kim tạo cầu băng được làm lạnh bằng lỏng nitơ - 196^0C. Trong quá trình làm nóng, kim nhanh chóng được tăng nhiệt độ bằng nước nóng 42^0C. Sốc nhiệt lạnh – nóng, khiến tế bào rơi vào trạng thái thiếu máu, thiếu oxy và gây hoại tử nhằm bất hoạt tế bào ung thư. Việc nghiên cứu thời gian gây sốc nhiệt, kích thước lớp băng tạo ra để khống chế một cách chính xác phạm vi vùng tế bào bị ảnh hưởng. Chúng tôi tiến hành tính toán lý thuyết quá trình truyền nhiệt khi cấp đông, rã đông cục bộ tế bào và áp dụng thực nghiệm ở mô động vật.

Kim tạo cầu băng đã được ứng dụng rộng rãi ở một số nước trên thế giới như ở Trung Quốc, Mỹ ..., tuy nhiên ở Việt Nam còn tương đối chưa phát triển, cho đến hiện nay chưa có công trình nào được công bố.

Chính vì những lý do trên chúng tôi chọn đề tài "**Nghiên cứu ứng dụng kỹ thuật Cryo trong lĩnh vực y tế ở điều kiện Việt Nam"** làm luận án NCS.

2. Mục tiêu nghiên cứu

Trong khuôn khổ luận án, chúng tôi tập trung nghiên cứu thiết bị kim tạo cầu băng với hai nội dung chính:

- Nghiên cứu lý thuyết: xây dựng mô hình toán học, tính toán quá trình truyền nhiệt khi cấp đông cục bộ tế bào bằng kỹ thuật lạnh Cryo, thiết lập phần mềm tính các thông số trong quá trình đông lạnh nhanh tế bào.

- Nghiên cứu thực nghiệm: thăm dò khả năng làm chết tế bào mô gan trên động vật khỏe mạnh cũng như khả năng tiêu diệt tế bào ung thư gan người trên mô tách rời khỏi cơ thể.

3. Nội dung nghiên cứu

- Xây dựng cơ sở lý thuyết tính toán quá trình đông lạnh nhanh tế bào.

- Xây dựng mô hình toán học phù hợp với các loại thiết bị phẫu thuật lạnh khác nhau (thiết bị áp lạnh, kim tạo trụ băng và kim tạo cầu băng).

- Thiết lập công thức tính các thông số truyền nhiệt khi cấp đông cục bộ tế bào bằng kỹ thuật lạnh Cryo.

- Xây dựng phần mềm tính các thông số trong quá trình đông lạnh nhanh.

- Chế tạo mô hình thực nghiệm kim tạo cầu băng.

- Thăm dò khả năng tiêu diệt tế bào gan bằng thiết bị kim tạo cầu băng trên mô gan lành ở chuột và ở thỏ.

- Thăm dò khả năng tiêu diệt tế bào ung thư bằng thiết bị kim tạo cầu băng ở mô gan tách rời khỏi cơ thể của những bệnh nhân bị bệnh ung thư gan.

4. Đối tượng và phạm vi nghiên cứu

4.1. Đối tượng nghiên cứu

- Các thông số của quá trình truyền nhiệt khi cấp đông cục bộ tế bào bằng kỹ thuật Cryo.

- Gan của chuột từ 6 đến 8 tuần tuổi.

- Gan thỏ từ 3 đến 5 tháng tuổi.

- Mẫu u gan của bệnh nhân ung thư gan được thu nhận từ các ca mổ tại Bệnh viện Trung ương Huế có kích thước lớn hơn 15 x 15 x 7 (mm).

4.2. Phạm vi nghiên cứu

- Thực nghiệm tiến hành tại cơ sở Trường Cao đẳng Công nghiệp Huế, Bệnh viện Trung ương Huế, Khoa Vi sinh Trường Đại học Khoa học Huế trong thời gian từ 09/2010 đến 05/2016.

- Với mục đích nghiên cứu phương pháp tiêu diệt tế bào ung thư gan bằng kim tạo cầu băng, chúng tôi tập trung nghiên cứu tìm ngưỡng gây chết tế bào trên gan chuột và thỏ khỏe mạnh, từ đó thăm dò khả năng gây chết tế bào ung thư gan người trên mô tách rời khỏi cơ thể lấy từ bệnh nhân có chỉ định cắt gan tại Bệnh viện Trung Ương Huế.

5. Bố cục luận án

Nội dung chính của luận án gồm: 133 trang chính với 5 chương, 66 hình, 28 bảng, 112 tài liệu tham khảo, 8 phụ lục. Các chương của luận án là:

Chương 1. Tổng quan tài liệu.

Chương 2. Phương pháp nghiên cứu.

Chương 3. Tính truyền nhiệt khi cấp đông cục bộ tế bào bằng kỹ thuật lạnh Cryo.

Chương 4. Nghiên cứu khả năng tiêu diệt tế bào ung thư gan bằng thiết bị kim tạo cầu băng.

Chương 5. Kết luận và kiến nghị.

CHƯƠNG 1. TỔNG QUAN TÀI LIỆU

1.1. Tổng quan về kỹ thuật lạnh Cryo

1.2. Tình hình nghiên cứu, ứng dụng kỹ thuật lạnh Cryo trong công nghệ phẫu thuật lạnh

1.3. Gan và tình hình nghiên cứu các bệnh ở gan

1.4. Các phương pháp điều trị bệnh gan

Một kỹ thuật điều trị ung thư gan, mới được áp dụng tại một số nước như Trung Quốc, Mỹ,... là làm lạnh xuống nhiệt độ rất thấp để tiêu diệt tế bào ung thư gan (Cryosurgery) bằng việc sử dụng thiết bị kim tạo cầu băng (Cryoprobe), đây là một kỹ thuật mới chưa được áp dụng tại Việt Nam.

Thiết bị kim tạo cầu băng có hình dạng một cây kim, được sử dụng để tiêu diệt tế bào ung thư nằm sâu bên trong mô gan. Bằng kỹ thuật đông lạnh nhanh ở nhiệt độ Cryo, sau đó khối u ung thư sẽ bị làm tăng nhiệt nhanh chóng đến một mức độ nhất định. Quá trình điều trị đảo chiều nóng lạnh như vậy khiến tổ chức ổ bệnh bị tiêu hủy hoàn toàn, trực tiếp khiến cho tế bào ung thư thoát nước và phá vỡ, hoặc phá hủy mạch máu nhỏ của khối u khiến nó thiếu oxy, tiêu diệt tế bào ung thư. Đồng thời sau khi tiêu hủy tổ chức khối u chết tại chỗ đó có thể điều tiết kháng nguyên, kích hoạt phản ứng miễn dịch kháng ung thư, tế bào ung thư sau khi đông lạnh sẽ càng mẫn cảm hơn với thuốc hóa trị và xạ trị, nâng cao tác dụng của hóa xạ trị. Mặc dù đây là một dạng phẫu thuật nhưng không phải mổ hở và không tạo ra những tác dụng phụ như hóa trị hay xạ trị.

CHƯƠNG 2. PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Nghiên cứu lý thuyết truyền nhiệt khi cấp đông nhanh cục bộ tế bào

- Phương pháp giải tích: phương pháp này được sử dụng rộng rãi và phổ biến khi thiết lập các công thức, phương trình. Ưu điểm của phương pháp này là mối quan hệ giữa các đại lượng được biểu thị rõ ràng, minh bạch. Việc tính toán đơn giản, dễ dàng hơn nhiều so với phương pháp số. Quá trình tính toán không phụ thuộc vào phần mềm do người lập trình thiết lập.

- Phương pháp vi phân và tích phân: đây là phương pháp cơ sở của ngành toán học. Phương pháp này dựa trên nguyên tắc chia nhỏ vùng khảo sát, sau đó tích hợp lại để có kết quả quá trình. Phương pháp này được sử dụng để xây dựng phương trình truyền nhiệt trong ngành kỹ thuật nhiệt.

- Ứng dụng định luật bảo toàn năng lượng và định luật Fourier về dẫn nhiệt để khảo sát bài toán biên di động đặc biệt là bài toán biên hóa rắn và tìm nghiệm của bài toán này là hàm phân bố nhiệt độ trong vật khảo sát, tốc độ và gia tốc di chuyển của biên chuyển pha, thiết lập phương trình cân bằng nhiệt cho quá trình truyền nhiệt trong kỹ thuật Cryo để xác định thời gian cấp đông vật ẩm ở ba hình dạng phổ biến: phẳng, hình trụ và hình cầu.

2.2. Phân lô trong thực nghiệm thăm dò hiệu quả xử lý kim lạnh

2.3. Phương pháp thực nghiệm mô bệnh học và nuôi cấy in vitro tế bào

2.4. Nuôi cấy in vitro tế bào gan

CHƯƠNG 3. TÍNH TRUYỀN NHIỆT KHI CẤP ĐÔNG CỤC BỘ TẾ BÀO BẰNG KỸ THUẬT LẠNH CRYO

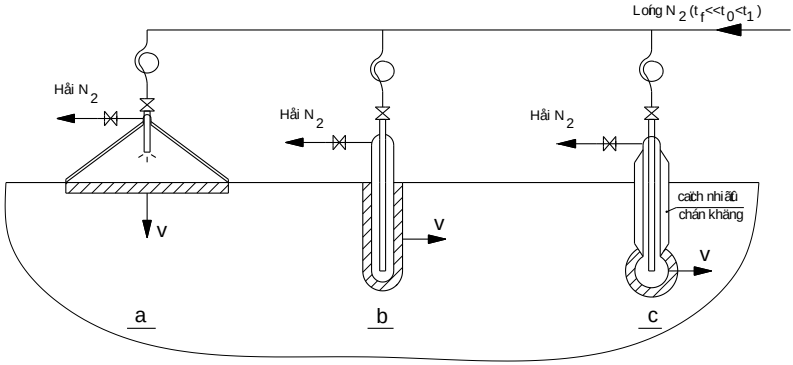
Trong chương này, tác giả đề xuất giải bài toán truyền nhiệt theo một cách giải mới, bằng phương pháp giải tích. Đây là một việc làm cần thiết, phù hợp với quy trình thao tác cấp đông cục bộ tế bào bằng kỹ thuật Cryo.

3.1. Xây dựng cơ sở lý thuyết tính toán các thông số trong quá trình cấp đông cục bộ tế bào bằng kỹ thuật lạnh Cryo

3.1.1. Lý thuyết tổng quan về các quá trình chuyển pha

3.1.2. Tính chất nhiệt vật lý của thực phẩm

3.1.3. Phát biểu bài toán truyền nhiệt khi cấp đông nhanh tế bào



Hình 3.3. Bố trí thiết bị khi cấp đông nhanh tế bào

Cho vật ẩm có độ ẩm ω, khối lượng riêng ρ, nhiệt dung riêng c, nhiệt độ ban đầu t_1, tiếp xúc với vách lạnh bằng kim loại mỏng dạng phẳng hoặc trụ hoặc cầu có bán kính r_0. Mặt vách được làm lạnh bởi môi chất lỏng lạnh sôi, bay hơi ở nhiệt độ $t_f << t_0 = 0^0C$, lớp băng bao quanh vách có nhiệt độ đóng băng t_0 và nhiệt hóa rắn r_c như của nước. Cần tìm các thông số đóng băng.

3.1.4. Tham khảo phương trình khi giải bài toán do F.sun thực hiện

3.1.5. Xây dựng các giả thiết khi cấp đông nhanh cục bộ tế bào

1. Coi mặt trong lớp băng là biên loại 1, có nhiệt độ không đổi bằng t_f của chất lỏng lạnh đang sôi.

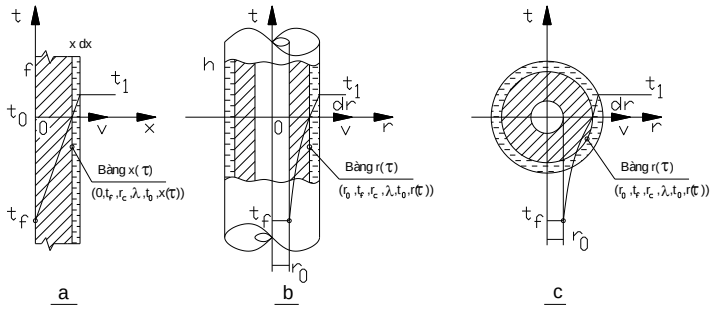
2. Coi quá trình hạ nhiệt độ từ t_1 đến t_0 và quá trình tỏa nhiệt r_c khi đóng băng là xảy ra rất nhanh và đồng thời.

3. Xem dòng nhiệt q tức thời tại lúc τ ($q(\tau)$) do dẫn nhiệt từ lớp băng chuyển pha ra môi chất lạnh trong thời gian vô cùng bé $d\tau$ là ổn định.

4. Coi tế bào là vật ẩm có các thông số vật lý (độ ẩm ω; khối lượng riêng ρ, nhiệt dung riêng C; hệ số dẫn nhiệt λ; nhiệt độ đóng băng t_0 và nhiệt chuyển pha r_c) là phân bố đều và không thay đổi trong không gian và thời gian khảo sát.

3.1.6. Phân tích ảnh hưởng của các giả thuyết đến kết quả tính toán

3.1.7. Quá trình tạo băng trên bề mặt phẳng vật ẩm bán vô hạn



Hình 3.9. Phát biểu hình học của 3 bài toán biên hóa rắn trong tế bào

Gọi x là độ dày lớp băng đã tạo ra trước lúc τ, dx là độ dày lớp băng mới tạo ra sau thời gian vô cùng bé $d\tau$ (hình 3.9a). Theo định

luật bảo toàn năng lượng, phương trình cân bằng nhiệt tức thời lúc τ cho khối băng dV= f.dx mới tạo ra sau thời gian dτ sẽ có thể phát biểu: Nhiệt tỏa ra do dV hạ nhiệt đến t_0 và đóng băng = Nhiệt truyền qua vách băng dày x ra môi trường lạnh. Phương trình toán học là:

$$f.dx.\{(\rho_i.C_i + \xi.\beta.C_b.\rho_b).(t_1 - t_0) + \rho_i.\eta.\omega.r_c\} = \frac{\lambda_i}{x}(t_0 - t_f).f.d\tau, [J] \quad (3.44)$$

Trong đó:

i - loại tế bào đang khảo sát;

C_i, ρ_i, λ_i - thông số vật lý của tế bào;

C_b, ρ_b - thông số vật lý của máu;

ξ,η - hệ số phụ thuộc loại tế bào đang khảo sát;

β = 7% - tỷ lệ thể tích máu trong cơ thể người.

$$\int_0^{\tau} d\tau = \int_0^{x} \frac{(\rho_i.C_i + \xi.\beta.C_b.\rho_b).(t_1 - t_0) + \rho_i.\eta.\omega.r_c}{\lambda_i.(t_0 - t_f)}.x.dx \rightarrow \tau(x) = \frac{A}{2}x^2; \quad (3.45)$$

$$\text{với } A \triangleq \frac{(\rho_i.C_i + \xi.\beta.C_b.\rho_b).(t_1 - t_0) + \rho_i.\eta.\omega.r_c}{\lambda_i.(t_0 - t_f)}, [s/m^2] \quad (3.46)$$

Hàm ngược của τ(x) có dạng $x(\tau) = \sqrt{\frac{2\tau}{A}}$, [m]. (3.47)

+ Vận tốc: $v \triangleq \frac{dx}{d\tau} = \frac{1}{A.x(\tau)} = \frac{1}{\sqrt{2.A.\tau}}$, [m/s] (3.48)

+ Gia tốc $a \triangleq \frac{dv}{d\tau} = \frac{-1}{2\sqrt{2A\tau^3}} < 0$, [m/s²] (3.49)

+ Trường nhiệt độ không ổn định trong lớp băng:

$$t(x,\tau) = t_f - (t_f - t_0)\frac{x}{x(\tau)}, [^0C] \quad (3.50)$$

3.1.8. Quá trình tạo trụ băng trong vật ẩm

Gọi r là bán kính lớp băng đã tạo ra trước lúc τ, dr là độ dày lớp băng mới tạo ra sau thời gian dτ (hình 3.9b). Cân bằng nhiệt tức thời lúc τ cho khối băng hình trụ dV = 2.π.r.h.dr mới tạo ra sau thời gian vô cùng bé dτ có thể phát biểu: Nhiệt lượng do dV tỏa ra để hạ nhiệt đến t_0 và đóng băng = Nhiệt lượng truyền qua vách trụ băng cũ ra môi trường lạnh. Mô tả toán học của phát biểu trên là phương trình cân bằng nhiệt tức thời có dạng:

$$2\pi.r.h.dr\{(\rho_i.C_i+\xi.\beta.C_b.\rho_b)(t_1-t_0)+\rho_i.\eta.\omega.r_c\}=2.\pi.\lambda_i.(t_0-t_f).h.d\tau/\ln(r/r_0),[J]. \quad (3.51)$$

$$\tau(r) = \frac{A}{4}(2r^2\ln\frac{r}{r_0}-r^2+r_0^2),[s]\ ; \quad (3.52)$$

Hàm ngược của τ(r) là r(τ) = τ^{-1}(r) có thể mô tả ở dạng một bảng số.

+ Vận tốc $v=\frac{dr}{d\tau}=\left(A.r.\ln\frac{r}{r_0}\right)^{-1}$, [m/s] (3.53)

+ Gia tốc $a=\frac{dv}{d\tau}=\frac{-\ln(e.r/r_0)}{A^2(r.\ln(r/r_0))^3}<0$, [m/s^2] (3.54)

+ Trường nhiệt độ không ổn định trong vách băng đang di động, tại r ∈(r_0,r(τ)) có dạng:

$$t(r,\tau) = t_f-\frac{(t_f-t_0)}{\ln(r(\tau)/r_0)}\ln\frac{r}{r_0}; \quad (3.55)$$

3.1.9. Quá trình tạo cầu băng trong vật ẩm

Gọi r là bán kính cầu băng đã tạo ra trước lúc τ, dr là độ dày băng mới tạo ra sau thời gian vô cùng bé dτ (hình 3.9c). Theo định luật bảo toàn năng lượng, phương trình cân bằng nhiệt tức thời lúc τ

cho khối cầu băng dV=4.π.r^2.dr mới tạo ra sau dτ sẽ có thể phát biểu: Nhiệt do dV tỏa ra khi hạ nhiệt đến t_0 và hóa rắn = Nhiệt truyền qua vách cầu vào tâm lạnh. Mô tả toán học của phát biểu trên là phương trình cân bằng nhiệt tức thời có dạng:

$$4\pi.r^2.dr\{(\rho_{.i}C_i+\xi.\beta.C_b.\rho_b)(t_1-t_0)+\rho_i.\eta.\omega.r_c\}=4.\pi.\lambda_i.(t_0-t_f)d\tau/(1/r_0-1/r),\text{(J)} \quad (3.57)$$

$$\tau(r)=\frac{A}{6.r_0}(2r^3-3r_0.r^2+r_0^3),\text{[s]}; \quad (3.58)$$

Hàm ngược của τ(r) là là phương trình bậc 3 có dạng:

$r^3-\frac{3r_0}{2}r^2+\left(\frac{r_0^3}{2}-\frac{3r_0\tau}{A}\right)=0$, đặt $r\overset{\Delta}{=}x+\frac{r_0}{2}$, phương trình có dạng

$x^3+px+q=x^3-3\left(\frac{r_0}{2}\right)^2x+\left(r_0^3-\frac{3r_0\tau}{A}\right)=0$, trong đó

$$p=-3r_0^2/4\ ,[m^2] \text{ và } q=r_0^3-3r_0\tau/A\overset{\Delta}{=}q(\tau),\ [m^3]. \quad (3.59)$$

Dùng công thức Cardano, có thể mô tả nghiệm r(τ) ở dạng:

$$r(\tau)=\sqrt[3]{\frac{-q(\tau)}{2}+\sqrt{\left(\frac{q(\tau)}{2}\right)^2+\left(\frac{p}{3}\right)^3}}+\sqrt[3]{\frac{-q(\tau)}{2}-\sqrt{\left(\frac{q(\tau)}{2}\right)^2+\left(\frac{p}{3}\right)^3}}+\frac{r_0}{2},\ [m]; \quad (3.60)$$

+ Vận tốc $v=\frac{dr}{d\tau}=\frac{r_0}{A.r.(r-r_0)}$,[m/s] (3.61)

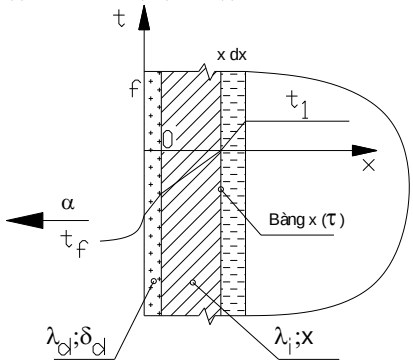
+ Gia tốc $a=\frac{dv}{d\tau}=-\frac{r_0^2.(2.r-r_0)}{A^2.r^3.(r-r_0)^3}$,[m/s^2] (3.62)

+ Trường nhiệt độ với $r\in(r_0,r(\tau))$

$$t(r,\tau)=t_f-\frac{(t_f-t_0)}{(1/r_0-1/r(\tau))}\left(\frac{1}{r_0}-\frac{1}{r}\right), \quad (3.63)$$

3.1.10. Quá trình tạo băng khi phun môi chất lỏng lên bề mặt da

Xét lớp da có độ dày δ_d, hệ số dẫn nhiệt λ_d; tế bào dưới da có hệ số dẫn nhiệt λ_i (hình 3.11). Bề mặt ngoài của lớp da được làm lạnh bởi môi chất lạnh có nhiệt độ t_f và hệ số tỏa nhiệt α. Hãy xác định chiều dày lớp chuyển pha $x(\tau)$; chiều dày lớp băng đạt được tại nhiệt độ -10^0C ($x(-10^0C)$) và -5^0C ($x(-5^0C)$).



Hình 3.11. Phát biểu hình học bài toán phun môi chất lỏng lên bề mặt da

Do lớp da không có nhiệt ẩn hóa rắn, nên ta chỉ xem như một lớp cách nhiệt có chiều dày δ_d, hệ số dẫn nhiệt λ_d.

Ta có thể phát biểu: Nhiệt tỏa ra của lớp băng chuyển pha dV = Nhiệt truyền qua vách băng dày x, truyền nhiệt qua lớp da dày δ_d, tỏa ra môi trường lạnh có hệ số tỏa nhiệt α. Phương trình toán học được viết là:

$$f.dx.\{(\rho_i.C_i + \xi.\beta.C_b.\rho_b)(t_1 - t_0) + \rho_i.\eta.\omega.r_c\} = \frac{(t_0 - t_f)}{\left(\frac{1}{\alpha} + \frac{\delta_d}{\lambda_d} + \frac{x}{\lambda_i}\right)}.f.d\tau \text{ ,[J]}$$

(3.64)

Phương trình sẽ có nghiệm là:

$$x(\tau) = \frac{\sqrt{\left(\frac{1}{\alpha} + \frac{\delta_d}{\lambda_d}\right)^2 .A^2.\lambda_i^{\,2} + 2.A.\tau} - \left(\frac{1}{\alpha} + \frac{\delta_d}{\lambda_d}\right).A.\lambda_i}{A}; \qquad (3.65)$$

Từ đây có thể suy ra các công thức:

$$x(-5^0C) = x(\tau).\left(1 - \left|\frac{5}{t_f}\right|\right) \qquad (3.66)$$

$$x(-10^0C) = x(\tau).\left(1 - \left|\frac{10}{t_f}\right|\right) \qquad (3.67)$$

3.1.11. Khảo sát và so sánh các quá trình tạo băng trong vật ẩm

3.1.12. Xác định thời gian cấp lỏng cho thiết bị phẫu thuật lạnh

Giả sử có một khối tế bào ung thư, có kích thước đã xác định. Hãy xác định thời gian cấp lỏng cần thiết cho thiết bị phẫu thuật lạnh, sao cho lớp biên của khối u đạt đến nhiệt độ t_c (t_c- nhiệt độ chết của vi khuẩn; $t_c \leq 0^0C$).

3.1.13. Xác định thời gian tan giá và làm ấm

Để đảm bảo khối u rã đông hoàn toàn và tăng nhiệt độ về nhiệt độ ban đầu, chúng tôi dùng dòng nước ấm có nhiệt độ $t_{f1} \leq 42^0C$ (nhiệt độ cơ thể có thể chịu đựng) cung cấp vào thiết bị phẫu thuật lạnh. Thời gian rã đông và làm ấm là thời gian cần thiết để dòng nước nóng rã đông và làm ấm khối u.

Sau đây ta sẽ giải bài toán xác định thời gian để rã đông và làm ấm tế bào. Mô hình toán được mô tả trên hình 3.14.

3.1.14. So sánh kết quả tính giữa phương pháp giải tích và phương pháp số do F.sun thực hiện

3.1.14.1. Kết quả giải bài toán bằng phương pháp số do F.sun thực hiện

3.1.14.2. Kết quả giải bài toán bằng phương pháp giải tích

3.1.14.3. So sánh kết quả giải bài toán giữa hai phương pháp

Sai số giữa phương pháp tính bằng giải tích và phương pháp số do F.sun thực hiện là 12,9%.

3.1.15. Sử dụng phương pháp sai phân hữu hạn để giải bài toán cấp đông nhanh tế bào trong trường hợp thiết bị áp lạnh

3.3.15.1. Giải bài toán

3.3.15.2. So sánh kết quả tính giữa phương pháp sai phân hữu hạn và phương pháp giải tích

Sai số kết quả tính toán giữa phương pháp giải tích do tác giả đề xuất và phương pháp phần tử hữu hạn là 13,4%.

3.2. Xây dựng phần mềm tính các thông số trong quá trình cấp đông nhanh tế bào

Ta đã lập được các công thức tính các thông số trong quá trình đóng băng hóa rắn tế bào. Các công thức này khá phức tạp, trong đó có các phương trình chỉ giải được bằng phương pháp gần đúng. Trong phần này, tác giả sẽ thiết kế một phần mềm để tính toán các thông số trong quá trình cấp đông nhanh tế bào bằng kỹ thuật lạnh Cryo.

3.2.1. Sơ đồ khối

3.2.2. Nhập số liệu

3.2.3. Chương trình tính các thông số

3.2.4. Xuất kết quả

3.3. Mở rộng phạm vi áp dụng các công thức tính truyền nhiệt đã thiết lập

3.3.1. Tính truyền nhiệt khi cấp đông nhanh theo chiều từ vỏ vào tâm vật ẩm

3.3.2. Các trường hợp áp dụng trong thực tiễn

CHƯƠNG 4. NGHIÊN CỨU KHẢ NĂNG TIÊU DIỆT TẾ BÀO UNG THƯ GAN BẰNG THIẾT BỊ KIM TẠO CẦU BĂNG

Trong chương này, chúng tôi chế tạo thiết bị kim tạo cầu băng nhằm kiểm chứng độ chính xác của các công thức đã được thiết lập trong bài toán truyền nhiệt khi cấp đông cục bộ tế bào. Sau đó dùng thiết bị này, chúng tôi tiến hành thực nghiệm khả năng gây chết tế bào gan khỏe mạnh trong cơ thể sống của động vật. Trên cơ sở đó, chúng tôi thực nghiệm khả năng tiêu diệt tế bào ung thư gan trên mô gan tách rời cơ thể lấy từ bệnh nhân có chỉ định cắt gan tại Bệnh viện Trung Ương Huế.

Để đánh giá khả năng gây chết tế bào chúng tôi dựa trên phương pháp thực nghiệm mô bệnh học và nuôi cấy *in vitro* tế bào.

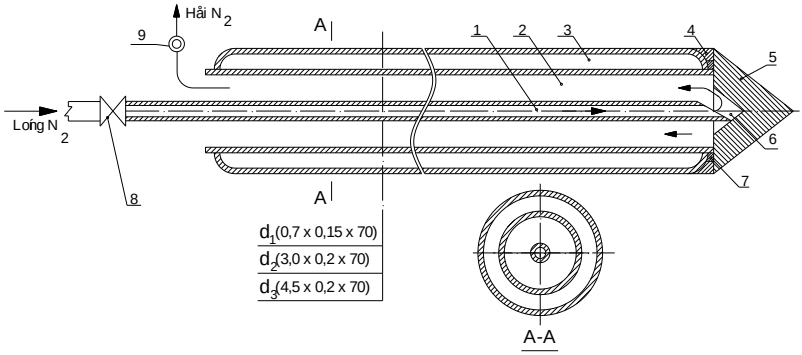
4.1. Thiết kế kim tạo cầu băng

4.1.1. Kết cấu của kim tạo cầu băng

Kim tạo cầu băng chúng tôi đưa ra có khả năng làm lạnh phần đầu kim bằng phương pháp dẫn lỏng qua ống mao thẳng kết hợp thân kim được cách nhiệt bằng chân không. Nó được cấu tạo gồm 3 ống kim loại bằng inox được lồng vào nhau (hình 4.3).

Ống 1 được vát nhọn đầu, một đầu được nối với van điều chỉnh cấp lỏng vào 8, một đầu được đặt tự do trong ống 2, tiếp giáp với đầu kim lạnh 5. Lỏng nitơ được cấp vào thiết bị qua ống 1 vào khoang làm lạnh 6. Hơi nitơ sinh ra cùng với lỏng còn lại sẽ được thoát tự do theo khe dẫn môi chất ra 2. Đầu kim lạnh 6 là một khối hình nón bằng bạc, có bán kính r = 2,25 mm được hàn kín vào các ống 2 và 3.

Do đầu kim 5 được chế tạo bằng bạc có khả năng dẫn nhiệt rất tốt nên ta có thể xem nhiệt độ đầu kim 5 bằng nhiệt độ của lỏng nitơ trong ống 1 và có thể đo được tại vi trí 9.



Hình 4.3. Sơ đồ kết cấu kim tạo cầu băng

4.1.2. Nguyên lý hoạt động của kim tạo cầu băng

Chúng tôi đưa ra nguyên lý hoạt động của kim tạo cầu băng bằng cách dẫn lỏng nitơ có nhiệt độ thấp tiếp xúc trực tiếp với đầu kim. Nhờ dẫn nhiệt qua lớp kim loại ở đầu kim để làm lạnh cục bộ tế bào tại vùng tiếp xúc. Hơi sinh ra và lỏng nitơ dư thừa sẽ được dẫn ra ngoài qua ống thoát. Cách nhiệt giữa thân kim và ống thoát bằng chân không, đây là loại cách nhiệt tốt nhất nên thân kim không làm ảnh hưởng vùng tế bào khi kim lạnh xuyên qua.

4.1.2.1. Quá trình làm lạnh

Lỏng nitơ từ bình chứa được cấp vào ống kim 1. Tạo áp suất trong bình chứa bằng không khí nén để duy trì ổn định dòng lỏng nitơ phun ra. Lúc này, đầu ống 1 có nhiệt độ bằng nhiệt độ lỏng nitơ. Tiếp đó, ống 1 sẽ được đưa đến vị trí nằm trong ống 2, lỏng nitơ sẽ làm lạnh đầu kim và làm lạnh mẫu gan tiếp xúc. Sau thời gian thực nghiệm, rút ống 1 ra khỏi ống 2. Kết thúc quá trình làm lạnh.

4.1.2.2. Quá trình làm nóng

Quá trình làm nóng thực hiện ngay sau kết thúc quá trình làm lạnh. Nước nóng có nhiệt độ 42^0C được đưa vào trong ống 2 thay thế cho lỏng nitơ. Lúc này nước nóng truyền nhiệt nhanh chóng làm rã đông và làm ấm mẫu gan. Sau thời gian thực nghiệm, rút kim nước nóng ra khỏi ống 2. Kết thúc quá trình làm nóng.

4.2. Đo nhiệt độ đầu kim lạnh tạo cầu băng

4.3. Kiểm tra khả năng cách nhiệt của thân kim lạnh

4.4. Tính mối tương quan giữa kích thước vùng đóng băng hóa rắn với kích thước tính được từ các công thức đã thiết lập

✳ Xác định quy trình xử lý kim lạnh trong thực nghiệm

Kích thước mẫu gan thực nghiệm được lựa chọn có bán kính từ 3,5mm đến 7,5mm để thuận tiện cho việc đánh giá mô bệnh học và nuôi cấy *in vitro*. Qua tính toán cũng như thực nghiệm, chúng tôi quyết định chọn quy trình xử lý kim lạnh theo thứ tự cho các thực nghiệm là:

Quy trình sốc nhiệt 90s.

Quy trình sốc nhiệt 60s.

Quy trình sốc nhiệt 45s.

4.5. Tính mối tương quan giữa kích thước vùng tế bào tổn thương với kích thước tính được từ các công thức đã thiết lập

4.6. Thăm dò hiệu quả xử lý kim lạnh trên gan chuột khỏe mạnh

4.7. Thăm dò hiệu quả xử lý kim lạnh trên gan thỏ khoẻ mạnh

4.8. Thăm dò hiệu quả xử lý kim lạnh trên khối u gan ở người

4.9. Nuôi cấy *in vitro* tế bào

Chương 5. KẾT LUẬN VÀ KIẾN NGHỊ

Kết luận

✳ Nghiên cứu lý thuyết

1. Thành lập cơ sở, xây dựng các giả thiết, thiết lập phương trình truyền nhiệt, tính các thông số trong quá trình cấp đông cục bộ tế bào theo phương pháp giải tích.

2. So sánh kết quả tính giữa phương pháp giải tích và phương pháp số do F.Sun thực hiện: sai số kết quả tính giữa 2 phương pháp là 12,9%.

3. Sử dụng phương pháp sai phân hữu hạn để giải bài toán cấp đông nhanh tế bào với thiết bị áp lạnh: sai số kết quả tính giữa 2 phương pháp là 13,4%.

4. Xây dựng phần mềm tính các thông số trong quá trình cấp đông nhanh tế bào: phần mềm được lập trình trên Matlab 7.0, có thể tính các thông số cũng như vẽ đồ thị trường nhiệt độ khi cấp đông nhanh cục bộ tế bào.

5. Mở rộng phạm vi áp dụng các công thức tính truyền nhiệt đã thiết lập: các công thức có thể sử dụng trong trường hợp cấp đông nhanh từ vỏ ngoài vào tâm.

✳ Nghiên cứu thực nghiệm

6. Thiết kế kim tạo cầu băng:

- Áp suất tại bình chứa thích hợp cho kim hoạt động là 3,5 kg/cm^2.

- Sau 15,4 giây cấp lạnh, nhiệt độ đạt được tại đầu kim lạnh là -195,9^oC.

7. Kiểm tra khả năng cách nhiệt của thân kim lạnh trên vật liệu thạch agar:

- Thạch agar chỉ đóng băng ở phần đầu kim lạnh.

- Phần thân kim hoàn toàn không có hiện tượng đóng băng hay phủ hơi nước.

8. Tính mối tương quan giữa kích thước vùng đóng băng hóa rắn với kích thước tính được từ các công thức đã thiết lập:

- Đo kích thước cầu băng trên thạch agar: sai số trung bình giữa lý thuyết và thực nghiệm là 24,21%.

- Đo kích thước cầu băng trên gan thỏ tách rời: sai số trung bình giữa lý thuyết và thực nghiệm là 30,65%.

9. Tính mối tương quan giữa kích thước vùng tế bào tổn thương với kích thước tính được từ các công thức đã thiết lập:

- Đo kích thước vùng gan tổn thương trên gan thỏ tách rời: sai số trung bình giữa thực nghiệm và lý thuyết là 33,58%.

- Đo kích thước vùng gan tổn thương trên gan thỏ trong cơ thể sống: sai số trung bình giữa thực nghiệm và lý thuyết là 34,88%.

10. Kết quả đánh giá mức độ sống chết tế bào bằng phương pháp mô bệnh học và nuôi cấy *in vitro* tế bào:

- Trên gan chuột : gây chết hoàn toàn ở quy trình sốc nhiệt 90s, 60s và 45s.

- Trên gan thỏ : gây chết hoàn toàn ở quy trình 90s, gây chết một phần ở quy trình 60s, không gây chết mà chỉ bị tổn thương ở quy trình 45s.

- Trên khối u gan người : gây chết tế bào ung thư gan người với quy trình sốc nhiệt 90s- 540s.

Kiến nghị

1. Kim tạo cầu băng có hiệu quả trong việc gây chết tế bào gan trên chuột và thỏ khỏe mạnh nhưng chưa gây chết tế bào ung thư gan ở người. Cần tiếp tục nghiên cứu quy trình sốc nhiệt bằng cách tăng

thời gian cấp lạnh hoặc lặp lại quá trình cấp lạnh, làm nóng thêm nhiều lần nữa.

2. Kim tạo cầu băng có cấu tạo đơn giản, có thể chế tạo với nguyên vật liệu có sẵn trên thị trường, phù hợp với điều kiện công nghệ và máy móc của Việt Nam. Cần nghiên cứu hoàn thiện mẫu kim này. Với yêu cầu kim sử dụng một lần, nhu cầu của kim tạo cầu băng là rất lớn.

3. Bảng thông số vật lý cơ bản của các vật liệu thông dụng chưa tra cứu được ở phạm vi nhiệt độ thấp. Nếu được phát triển bổ sung sẽ tạo ra được một nguồn dữ liệu không những cung cấp cho kỹ thuật Cryo mà còn cho nhiều ngành nghiên cứu khác.

DANH MỤC BÀI BÁO ĐÃ CÔNG BỐ

1. Hoàng Ngọc Đồng, Nguyễn Bốn, Lê Minh Trí (2014), "*Quá trình truyền nhiệt, truyền chất không ổn định với biên di động khi hóa rắn vật ẩm bằng kỹ thuật Cryo*", Tạp chí Năng Lượng Nhiệt, năm thứ 21, số 117- 2014, tr 15÷ 20.

2. Hoàng Ngọc Đồng, Nguyễn Thành Văn, Lê Minh Trí (2014), "*Nghiên cứu sử dụng lỏng nitơ cho dao mổ lạnh ở Việt Nam*", Tạp chí Khoa học và Công nghệ- ĐHĐN, số 5[78]- 2014, tr 26÷ 31.

3. Hoàng Ngọc Đồng, Nguyễn Thành Văn, Lê Minh Trí (2015), "*Nghiên cứu ứng dụng máy lạnh ghép tầng trong kỹ thuật bảo quản máu và các chế phẩm từ máu*", Tạp chí Khoa học và Công nghệ- ĐHĐN, số 2(87). 2015.

4. Hoàng Ngọc Đồng, Nguyễn Thành Văn, Lê Minh Trí (2015), "*Nghiên cứu thực nghiệm truyền nhiệt khi cấp đông cục bộ tế bào bằng thiết bị kim tạo cầu băng*", Tạp chí Khoa học và Công nghệ- ĐHĐN, số 9(94). 2015.

5. Lê Minh Trí, Nguyễn Thị Tươi Xanh, Lê Viết Trường, Chế Thị Cẩm Hà (2017), "*Nghiên cứu thực nghiệm truyền nhiệt trên gan thỏ bằng thiết bị kim tạo cầu băng*", Kỷ yếu hội thảo khoa học, công nghệ sinh học và sinh học ứng dụng khu vực Đông Nam Bộ, Bình Dương tháng 6/2017.